

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ
ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ
ՀԱՆԴԵՍ

БИОЛОГИЧЕСКИЙ
ЖУРНАЛ
АРМЕНИИ

Հայաստանի կենսաբանական համադասը հրատարակվում է Հայկական ՍՍՀ Գիտությունների ակադեմիայի կողմից և տպագրում է հայկական բուսաբանության, կենդանաբանության, բժշկական, կենսախիմիայի, մանրէաբանության, գենետիկայի և բնականուր ու կիրառական կենսաբանության այլ բնագավառների վերաբերյալ հայերեն և ռուսերեն լեզուներով:

Տարեկան բյուլ 1, տեսնում հունվարի 12 համար: Բաժանորդագրվեն 1 Տ ա, 10 կ.: Բաժանորդագրությունն ընդունվում է Սոցիալիստի բոլոր բաժանմուններում:

Биологический журнал. Армения. — научный журнал, издаваемый Академией наук Армянской ССР, публикует оригинальные статьи по ботанике, зоологии, физиологии, биохимии, микробиологии, генетике и другим отраслям общей и прикладной биологии на армянском и русском языках. Выходит 12 раз в год, подписная цена за год 8 руб. 10 коп. Подписку на журнал можно производить во всех отделениях Союзпечати.

Խմբագրական կոլեկտիվ՝ Հ. Գ. Աֆրիկյան (գլխավոր խմբագիր), Մ. Մ. Ավագյան, Վ. Ն. Ավետիսյան, Հ. Գ. Բաղդասարյան, Ա. Ե. Գալստյան (գլխավոր խմբագրի տեղակալ), Մ. Ա. Գալթիսյան, Փ. Ի. Հակոբյան, Ն. Ս. Հարությունյան (պատասխանատու քարտուղար), Ռ. Մ. Հարությունյան, Վ. Հ. Դադարյան, Ս. Հ. Մոսխոսյան:

Խմբագրական խորհուրդ՝ Հ. Գ. Աֆրիկյան (նախագահ), Ն. Ն. Աղամաճակի, Վ. Ե. Աղաբաբյան, Հ. Ս. Ավետիսյան, Գ. Ն. Բաբայան, Հ. Ս. Գաբրիելյան, Ա. Ա. Գալստյան, Ա. Լ. Բախտաչյան, Գ. Ա. Խորյունյան, Ս. Կ. Կարապետյան, Մ. Գ. Հովհաննիսյան, Է. Հ. Հովսեփյան, Հ. Ս. Ղամբարյան, Ա. Ա. Մաթևոսյան, Մ. Խ. Չալարյան, Գ. Ս. Չլոպոսյան:

Редакционная коллегия: Э. К. Африкян, (главный редактор), Ц. М. Авакян, В. Е. Аветисян, Ж. И. Акопян, Е. С. Арутюнян (ответственный секретарь), Р. М. Арутюнян, О. Г. Баклаваджян, А. Ш. Гаястан (зам. главного редактора), М. А. Давтян, В. О. Казарян, К. Г. Карагезян, С. О. Мовсисян.

Редакционный совет: Э. К. Африкян (председатель), А. С. Аветян, В. Ш. Агабабян, Н. И. Акрамовский, Д. Н. Бабзян, Э. И. Габриелян, А. А. Галоян, Л. С. Гамбарян, С. К. Карапетян, А. А. Матевосян, М. Г. Оганесян, Л. Л. Оганян, К. С. Погосян, А. Л. Тахталджян, И. А. Хуршудян, М. Х. Чайлахян.

ԲՈՎԱՆԳԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

Հոգվածներ

Ալանյան Ա. Ե. Ա ₂ ֆոսֆորիկազի անջատումը թույններից.	351
Իոնոս Կեռեկ Մեւրուպ. Ստանկա Պետկովա Ստեռա Իհկորթային աղբյուրից նոր հիդրո- լազայի էլեգիմատիկ բնութագրերը.	358
Լեուդավերդյան Գ. Ն., Բակունց Գ. Գ. ԳՈՖԱ-ի և զոֆամիի պարունակությունը մակերի- կամներում էքսպերիմենտայ թերմարմաշանագեղձության դեպքում.	366
Ղուկասյան Ջ. Գ., Ազադանյան Ա. Խ., Դավթյան Մ. Ա. Արգինազայի կինետիկական հա- կությունները լորու ընդակերի բզեզներում. <i>Acetothionites obseclus Say.</i>	373
Լիլիոնյան Մ. Մ., Զակոտով Գ. Գ., Լիլի-Ազան Ի. Ա., Աֆրիկյան Ա. Բ., Միխայելյան Վ. Կ. Բիոթիմիկական տեղաշարժերը ցածր համախալանություն ձայնային տատանում. ների ազդեցության պայմաններում.	377
Լիկանյան Ս. Մ., Ազադյան Մ. Ի., Պետրոսյան Լ. Հ. Ժազարների ածխաջրային փոխա- նակությունը վիրրացիայի և ազմուկի ազդեցության պայմաններում.	382
Սիմոնյան Ա. Ա., Ստեփանյան Ի. Ա., Մեսրոպյան Ն. Բ. էներգետիկ փոխանակությու- նը փոփոխական ջերմաստիճանների պայմաններում հաճի ձվերի ինկուբացման դեպքում.	387
Պողոսյան Ն. Լ., Արսլանյան Ա. Կ., Բմրային հիպոթիլամինի գրգռման ազդեցությունը տնային թռչունների վարքագծի վրա.	390
Իվաշկին Վ. Տ., Միքայելյան Հ. Ա., Ազնեա Ս. Գ., Կոնիշևա Տ. Լ., Զուբովյուսյան Վ. Մ. Ստամոքսի խոտամիկի նկատմամբ զգայուն աղենիյատեղիկազայի պրեպարատ- ների ստացման մեթոդների բարելավումը.	395

Համառոտ նազոգություններ

Ջաշոյան Ա. Ա., Սադրադյան Լ. Ի. R ₁ և R ₂ քրալուծելի ֆոսֆինային կոմպլեքսների հակառուտության ակտիվությունը.	399
Միքայելյան Ա. Ա., Հովհաննիսյան Ա. Ա., Սեդրյան Ժ. Ս., Հովհաննիսյան Տ. Ա., Դո- վոնցյան Գ. Ա. Ալենդոլինոֆոսֆատի ազդեցությունը Լրիկամների կեղանային շեր- տում մալոնդիալդիդի առաջացման վրա.	401
Միլիոնյան Ն. Ն., Կուզմանյան Կ. Վ., Ղիլիսցադյան Հ. Ս. Ներթոգանսեկան միկրոցիրկուլ- յատուր շունի ֆունկցիոնալ վիճակը հիստամինի ազդեցության տակ	406
Լյույան Գ. Ա., Ղազարյան Գ. Մ., Դեմոզյան Կ. Ն., Վանդրադյան Լ. Ս. Առնետների նշա- ղեղծի մեղիայ կորիզի ղերը ակտիվ խոտափման մեջ	407
Զուբովյուսյան Ի. Ա. Կմախային մկանների ջերմաստիճանը և էլեկտրական առանձնա- նակությունները.	409
Բարսյան Հ. Հ., Բարսյան Ա. Հ. Նոր տվյալներ <i>Falsidelectonum luteoboreu-</i> <i>laum (Targ.) (Homonterea Cuccid a)</i> մորֆոլոգիայի հասին	412

Ֆիլոսոփյուն պատմություն

Մանուկյան Ն. Ն. Հին Բարուսխոսը Բարդուղիմեոս Բաղնյացու Փարոզգրքում	417
---	-----

Ինֆուրատներ

Ամբունի Գ. Գ., Տեր-Մարկոսյան Ա. Ա., Կիրակոսյան Ա. Գ. էլենկտրաստատիկ դաշտի ազդեցությունը առնետների արդի միտոքոնդրիանների թաղանթների թափանցի- կության վրա.	423
Կապուսմանյան Մ. Ա., Նոյան Մ. Գ., Նուրադյան Կ. Ս., Ղազարյան Բ. Ա. Գլիկոլիդի կար- գավորիլ ֆերմենտների ակտիվության փոփոխումը մարդու լիմֆոցիտներում՝ էքստ- րադիոլով ներգործելիս.	424
Ղիւրաբյան Տ. Լ. Ներթոտուդ հակախոցային միջոցների ներգործությունը ստամոքսի լորձաթաղանթի տարբեր տեսակի ախտահարումների վրա՝ էքսպերիմենտում.	425
Հովհաննիսյան Լ. Ն., Պալլակովա Ի. Ս. Որոշ համատեղանմանների ժամող մկանների կա- ռուցվածքի առանձնահատկությունները.	425
Գուլյան Ա. Ա., Խաչատրյան Ժ. Գ. Փայուկ ցորենի հիբրիդների ռեկոմբինոգենեզի փոփո- խությունների մասին՝ մալրական բազադրիի վրա մուտագենով ներգործելիս.	426
Սահակյան Գ. Ա. Անանյացան փափուկ ցորենի հասկի արդյունավետություն և նրա բա- ղադրիլ մասերի կոռելյացիան.	427

СОДЕРЖАНИЕ

Статьи

Ананян А. Е. Выделение фосфолипаз A_2 из ядов	351
Богос Кеворк, Мисроп, Станки Петкова Стоева. Эпидемическая характеристика новой гидролазы из микробного источника	366
Худавердян Д. Н., Бакуян Г. Г. Содержание ДОФА и дофамина в надпочечниках при экспериментальном гипотартиреозе	380
Гуксян Дж. Г., Агаджанян А. А., Давтян М. А. Кинетические свойства аргиназы жуков фасоловой зернояды <i>Aspilota glidus oblectus</i> Say	373
Мелконян М. М., Закутов Г. Г., Мениш-Асави Е. А., Африкян А. Б., Мамуриян В. Г. Биохимические изменения под влиянием низкочастотных акустических колебаний	377
Минисян С. М., Адамян Ц. Н., Петросян Л. А. Углеводный обмен у кроликов при воздействии акбразии и шума	382
Сиюнян А. А., Степанян Р. А., Мисропян Е. Б. Энергетический обмен мозга кур при инкубации яиц в условиях переменных температур	387
Погосян Н. Л., Ариакян А. В. Влияние раздражения туберального гипоталамуса на поведение домашних птиц	390
Ивазюк В. Т., Минасян Г. А., Агеева О. Г., Коничева Г. Л., Арутюнян В. М. Оптимизация методов получения препаратов гистаминчувствительной аденيلاتциклазы желудка	395

Краткие сообщения

Чачоян А. А., Саграбян Т. И. Противоопухолевая активность водорастворимых фосфиновых комплексов Rh, Ru, Pd	393
Мидоян А. А., Оганесян А. С., Геворкян Ж. С., Оганесян Т. А., Дованджян Г. А. Влияние АТР на образование малондиальдегида в корковом слое почек	401
Мелконян Н. Н., Казарян К. В., Чилингарян А. М. Функциональное состояние внутриорганного микроциркуляторного русла под воздействием гистамина	404
Локян Д. А., Казарян Г. М., Геворкян К. Н., Гамбарян Л. С. Роль медиального ядра миндалины в активном избегании у крыс	407
Арутюнян Р. А. Топографические особенности температуры скелетных мышц	409
Бабаян А. Г., Бабаян Г. А. Новые данные по морфологии <i>Palaeolecanium bituberculatum</i> (Targ.) (Homoptera, Coreoidea)	412

История науки

Манукян Н. Н. Древний «Физиолог» в «Книге проповедей» Варфоломея Болонского	417
---	-----

Рефераты

Арицун Г. Г., Гер-Маркисян А. С., Киракосян К. Г. Влияние электростатического поля на проницаемость мембран митохондрий крыс	423
Каграмлян М. С., Есаян Л. Г., Наширян К. Б., Казарян Б. А. Изменение активности регуляторных ферментов гликолиза в лимфоцитах человека при воздействии эстрадиолом	424
Вирабян Т. Л. Влияние нейротропных противоязвенных средств на различные виды поражений слизистой оболочки желудка в эксперименте	425
Оганесян Л. Е., Полякова Р. С. Особенности строения жевательной мускулатуры некоторых хомякообразных	425
Гулян А. А., Хачатрян Ж. Г. Об изменениях в рекомбинагенезе у гибридов мягкой пшеницы при мутагенном воздействии на материнский компонент	426
Саакян Г. А. Корреляции между продуктивностью колоса и определяющими ее элементами у озимой мягкой пшеницы	427

CONTENTS

Articles

<i>Ayanian A. E.</i> Isolation of A_2 Phospholipase from Venoms	351
<i>Bohes Kevork Mesrobian, Stanka Petkova Stoeva</i> Enzymatic Characterization of a New Hydrolase from Microbial Origin	358
<i>Khudaverdyan D. N., Bakunts G. G.</i> Content of DOPA and Dopamine in Adrenal Glands during Experimental Hypoparathyreosis	366
<i>Chukasian J. G., Aghajanian A. Kh., Davitjan M. H.</i> Kinetic Properties of Arginase in Haricot Beetle <i>Acanthoscelides obtectus</i> Say.	373
<i>Melkonian M. M., Zakutov G. G., Melik-Agaeva I. A., Afrikian A. B., Mkhitarian V. G.</i> Biochemical Changes under the Low Frequency Acoustic Oscillations	377
<i>Minassian S. M., Adamian Ts. I., Petrossian I. A.</i> Carbo-Hydrate Metabolism of Rabbits under Action of Vibration and Noise	382
<i>Simonian A. A., Stepanian R. A., Mesropian E. B.</i> Energetic Metabolism of Hens Brain in the Course of Incubation of Eggs under Variable Temperatures	387
<i>Pogossian N. L., Arshakian A. V.</i> Influence of Stimulation of the Tuberal Hypothalamus on the Behaviour of Poultry	390
<i>Ivashkin V. T., Minassian H. A., Ageeva O. G., Konitcheva T. L., Harutunian V. M.</i> Improvement of Methods of Receiving of Preparations of Gastric Adenilatcyclase	395

Short Communications

<i>Chachoyan A. A., Sagradian L. I.</i> Antitumour Activity of Watersoluble Phosphine Complexes Rh , Ru , Pd	399
<i>Midoyan A. A., Hachannisian A. S., Gevorgian Zh. S., Hachannisian T. A., Dovanjian G. A.</i> Influence of ATP on the Formation of Malondialdehyde in the Renal Cortex	401
<i>Melkonian N. N., Kazarian K. V., Chilingarian A. M.</i> Functional State of Intraorganic Microcirculatory Flow under the Influence of Histamine.	404
<i>Lokyan D. A., Kazarian G. M., Gevorgian K. N., Gambarian L. S.</i> Role of the Medial Nucleus of the Amygdala in Active Avoidance in Rats	407
<i>Arutunian R. A.</i> Topographic Characteristics of Temperature of Skeletal Muscles	409
<i>Babayan H. H., Babayan A. H.</i> New Data on <i>Palaecolacium bluberculatum</i> (Targ.) (Homoptera, Coccoidea) Morphology.	412

History of Science

<i>Mannikian N. N.</i> Ancient „Physiologie“ in „The Book of Preaches“ of Bartholomew of Bologna	417
--	-----

Abstracts

<i>Artsruni G. G., Ter-Murkosian A. S., Kirakosian K. G.</i> Influence of Electrostatic Field on the Permeability of Membranes of Rats Liver Mitochondria	423
<i>Kagramanian M. S., Yegoyan M. G., Nazarian K. B., Kazarian B. A.</i> Change of Activity of Glycolysis Regulatory Enzymes in Human Lymphocytes under the Influence of Extradial	424
<i>Vitribian T. L.</i> Effect of Neurotropic Antilulcerous Drugs in Various Lesions of Gastric Mucous Membrane in the Experiment	425
<i>Oganesian L. E., Poljakova R. S.</i> Chewing Muscles Structure Peculiarities of Some Hamsterlike Rodents	425
<i>Gulyan A. A., Khachatryan I. G.</i> On Changes of Recombinogenesis by Mutagen Effect on Maternal Component in Hybrids of Soft Wheat	426
<i>Saakian G. A.</i> Correlation between the Winter Soft Wheat Ear Productivity and the Elements Determining It	427

ՀՈՂԱԾՄՆԵՐ • СТАТЬИ

Биолог. ж. Армении, т. 40, № 5, 351—358, 1987

ՈՒՏԳ 577. 112

Ա₂ ՖՈՍՖՈԼԻՊԱԶԻ ԱՆՋԱՏՈՒՄԸ ԹՈՒՅՆԵՐԻՑ

Ա. Ե. ԱՅԱՆՅԱՆ

Հայկական ՍՍՀ ԳԱ կենսաբանության ինստիտուտ, Սրբան

Անոտացիա — Նկարագրված է Ա₂ ֆոսֆոլիպազի անջատումը *Naja naja oxiana*, *Agkistrodon halis blomhoffii* օձերի և *Apis mellifera* մեղրատու մեղվի թույներից: Որպես կենսայուրահատուկ կրի: օգտագործված է իմմոբիլիզացված ֆոսֆոլիպիդով ամինային ապակի: Անջատված ֆոսֆոլիպազների մաքրության աստիճանը առուգված է պոլիակրիլամիդային զել-էլեկտրաֆորմեզի, իզոէլեկտրաֆոկուսացման, N-ծայրի ամինաթթվի դանսիլ-օրոշման, ինչպես նաև ամինաթթվային անալիզի օգնությամբ:

Аннотация — Описано выделение фосфолипаз А₂ из ядов змей *Naja naja oxiana*, *Agkistrodon halis blomhoffii* и яда медоносной пчелы *Apis mellifera*. В качестве биоспецифического носителя использовано аммиостекло с иммобилизованным фосфолипидом. Степень чистоты выделенных фосфолипаз проверяли с помощью электрофореза в полиакриламидном геле, изоэлектрофокусирования, дансильного определения N-концевой аминокислоты и аминокислотным анализом.

Abstract — The procedure of isolation of phospholipase A₂ from *Naja naja oxiana*, *Agkistrodon halis blomhoffii* snakes venoms and *Apis mellifera* bee venom is described. Aminoglass with immobilized phospholipid is applied as biospecific support. The purity of isolated phospholipases is controlled by polyacrylamide gel-electrophoresis, isoelectrofocusing, determination of the N-terminal amino acid and amino acid analysis.

Բանալի բառեր. Ա₂ ֆոսֆոլիպազ, ֆոսֆոլիպիդ, մեղվի և օձի թույներ, կենսայուրահատուկ հիմնատրոֆիլ:

Ա₂ ֆոսֆոլիպազը (ԿՖ 3.1.1.4) իրրև կատալիզատոր ապահովում է բարձր կարգի թթուների բարդ ԼՔերային կապերի յուրահատուկ հիդրոլիզը 1.2 դիացիլ-3-ՏՈ-ֆոսֆոգլիցերիդների Լրկրորդ դիրքում: Այն լայնորեն տարածված է բնության մեջ և բավարար բանակով պարունակվում է օձերի ու միջատների թույներում: Ա₂ ֆոսֆոլիպազն այսօր հիմնավորապես օգտագործվում է իրրև գործիք՝ ներվային զրգիոների փոխանցման պրոցեսների,

թաղանթային սիստեմների կառուցվածքային-ֆունկցիոնալ կազմակերպության, շերտերի բաժանման սահմանազոծում կենսակատալիզի յուրահատկությունների հետազոտության մեջ: Թվարկված խնդիրների բարենաչող լուծումը պահանջում է սպիտակուցի բարձր մաքրության աստիճանով և՛ ֆոսֆոլիպազի անհրաժեշտ քանակների կիրառություն:

Ներկայումս բարդ խառնուրդներից սպիտակուցների անջատման և մաքրման համար ավելի ու ավելի մեծ տեղ է տրվում աֆինային բրոմատոգրաֆիային, քանի որ վերջինս ննարավորություն է տալիս նյութերը արագ և արդյունավետ կերպով իրարից բաժանել բրոմատոգրաֆիայի մեկ աստիճանում, մինչդեռ բազմաստիճան և ոչ յուրահատուկ մեթոդների օդազործումը մեծ աշխատանք և ժամանակ է պահանջում:

Խինչ այժմ հայտնի են տարբեր ազդյուններից անջատված ավելի քան 30 և՛ ֆոսֆոլիպազի ամինաթթվային հաջորդականություններ, որոնցից բլերի համար է, սակայն, կիրառվել մաքրման կենսալուրահատուկ բրոմատոգրաֆիայի մեթոդը:

Այսպես, հայտնի է դիալիլ-ֆոսֆատիդիլ սեֆարոզի վրա զեաներգենտի առկայությամբ էրիտրոցիտների թաղանթներից Աձ ֆոսֆոլիպազի անջատումը [11]: *Crotalus adamantensis* օձի թույնից Աձ ֆոսֆոլիպազ հաջողվել է անջատել սեֆարոզի վրա, որը կարգաբաշխային խմբով կովալենտորեն կապակցված է Ca^{2+} -(9-կարբոքսի) նոնիլ-2-հեքսադեցիլդիցերո-3-ֆոսֆոլիտինի հետ [15]: Հակամարմինների հիման վրա ստացված իմունոլուրահատուկ սորբենտի օգնությամբ Աձ ֆոսֆոլիպազի իզոֆերմենտների խառնուրդը հաջողությամբ անջատվել է *Naja naja oxiana* կորբայի հում թույնից [1]: Կոնկանտակտին-Ա սեֆարոզը հաջող կրիչ է հանդիսացել աֆինային բրոմատոգրաֆիայի միջոցով *Apis mellifera* մեղվի թույնից Աձ ֆոսֆոլիպազ անջատելու համար [2]: Մեղ հաջողվել է նաև իմունիզացված ֆոսֆոլիպիդով օրգանա-սինթետիզացիոն տիպի կենսալուրահատուկ կրիչների հիման վրա Աձ ֆոսֆոլիպազ անջատել խողի ենթաստամոքսային գեղձից [3]:

Վերջին ժամանակներս նոտակապես ուշադրություն է դարձվում ներբրջային Աձ ֆոսֆոլիպազների ուսումնասիրությանը [7, 16, 17]: Այս խմբատույն տարբեր ազդյուններից Աձ ֆոսֆոլիպազի անջատման համար անխվերապ կենսալուրահատուկ սորբենտների մշակումը խիստ արդիական խնդիր է:

Նյութ և մեթոդ: Աշխատանքում օգտագործված են Մոսկվայի Լոմոնոսովի անվան նուրբ քիմիական սինթետիզիայի ինստիտուտում վաղորտը ստացված կենսալուրահատուկ սորբենտներ: Որպես Աձ ֆոսֆոլիպազի ստացման աղբյուր օգտագործված են հեռավոր արևելյան *Agkistrodon halis bloniensis* վահանամուկ օձի, միջինասիական *Naja naja oxiana* կորբայի և մեղրատու *Apis mellifera* մեղվի թույները [4,5]: Սպիտակուցի բրոմատոգրաֆիայի համար օգտագործված են սեֆադեքսներ G-15 և G-25 (Pharmacia, Շվեդիա), ցելյուլոզներ CM-32 և DE-52 (Whatman, Անգլիա): Սպիտակուցների հոմոգենությունը ստուգված է 15% պոլիակրիլամիդային գել պարունակող ստանդարտ դիսկ էլեկտրաֆորեզի օգնությամբ pI 4,5 և 7,3 միջավայրերում [12]: **DS-Na**-ի առկայությամբ էլեկտրաֆորեզը ես իրականացվել է ըստ հայտնի մեթոդիկայի [18], pI 7,0 զեպրում, **Reanal** (Հունգարիա) ֆերմայի սարքի կիրառությամբ: Այս զեպրում օգտագործված զելը պարունակում է 10% ակրիլամիդ:

Իզոէլեկտրաֆոկուսացումը իրականացվել է ամֆոլին պարունակող ստանդարտ պոլիակրիլամիդային շերտիկի վրա pI 3,5-9,5 դիսպոզիցիոն, 2 ժամ-

վա տեղությամբ, 10 վտ չարվածության կայունացված ռեժիմում (LKB, Շվեդիա), սեման աղբյուրը՝ «Multiphor 2103» (LKB, Շվեդիա):

N-ծալրի ամինաթթուները որոշված են դանսիլային ածանցյալների ձևով, սխիկացելի հիման վրա, նրբախափային քրոմատոգրաֆիայից հետո [8]:

Ա₂ ֆոսֆոլիպազի ֆերմենտային ակտիվությունը որոշված է նախկինում առաջարկված աջիդուևարիկ մեթոդով [14], համաձայն որի սեակցիոն միջավայրը պարունակում է 0,5 % դետերգենտ «Triton X-100», 1 mM Tris, 0,03 M NaCl, 0,02 M CaCl₂ և 0,7 mM EDTA (pH 7,8—8,0): Միջավայրի 2 մլ քանակին ավելացնում ենք 3 մգ լիպիդ՝ լուծված 75 մկլ էթանոլի մեջ, հետո ներմուծում ենք 0,1—1,0 մկգ ֆերմենտ 5—10 մկլ ջրային լուծույթի ձևով: Ակտիվության չափումը իրագործվել է ինքնատիտրոլ TIT-2 սարքի (Radiometer, Դանիա) վրա, սենյակային ջերմաստիճանում՝ իրրե սուբստրատ օգտագործելով դիպալմիտոիլֆոսֆատիդիլսոլին կամ ձվի դեղնուցի ֆոսֆատիդիլսոլին [19]:

Սպիտակուցների ամինաթթվային բաղադրությունը որոշված է D-500 (Durrum, ԱՄՆ) ավտոմատ անալիզատորի վրա 5,7 N HCl-ի մեջ 24 ժ և 72 ժ հիդրոլիզից հետո: Տրիպտոֆանի մնացորդների քանակը որոշված է Biocal (LKB, Շվեդիա) անալիզատորի վրա 4 N մեթանոլիֆոսֆոնային թթվով ամինաէթիլիզոլի (Pierce, ԱՄՆ) ավելցուկի առկայությամբ 24 ժ հիդրոլիզից հետո:

Քրոմատոգրաֆիայի ընթացքում Ա₂ ֆոսֆոլիպազի պարունակությունը սպիտակուցային թորամասերի լուծույթներում որոշված է «Gilford-250» (ԱՄՆ) սարքի օգնությամբ 280 նմ համար չափելով լուծույթների օպտիկական լիանումը: Սպիտակուցների աֆինային քրոմատոգրաֆիան իրականացվել է 4,0×15 սմ աշտարակներում՝ լցված 6 մգ կայունացված սուբստրատ պարունակող 300 մգ կենսալուրահատուկ սորբենտով:

Հանգստի վիճակում աշտարակը համասարակշռվել է բուֆեր 1-ով (Tris-HCl 50 mM, CaCl₂ 20 mM, EDTA 1 mM, NaCl 0,2 M, pH 7,5—8,1): Ֆոսֆոլիպազային թորամասերի լվացման համար կիրառվել է բուֆեր 2 (Tris-HCl 50 mM, EDTA 50 mM, pH 8,0) կամ 1 % քացախաթթվի լուծույթ:

Ա₂ ֆոսֆոլիպազի անջատումը կորեայի բույնից: Կորեայի թույնի 300 մգ լուծում ենք 0,3 մլ բուֆեր 1-ում (pH 7,5) և ներմուծում նույն բուֆերով համասարակշռված սորբենտով ի աշտարակ: 4°C տակ 20—24 ժ պահելուց հետո աշտարակը լվանում ենք բուֆեր 1-ով, 3 մլ՝ Ժ արագությամբ՝ թույնի չկապվող բաղադրամասերը հեռացնելու համար: Ա₂ ֆոսֆոլիպազի անջատման համար աշտարակը լվանում ենք 1 % քացախաթթվի լուծույթով: Ստացված թորամասը 1 % քացախաթթվի լուծույթի միջավայրում սեֆադեքս G-15-ով ի աշտարակում (1,0×30 սմ) ադայուկելուց հետո լիսֆիլիզացնում ենք: Նյութ կազմում է ~ 10 մգ:

Իզոֆերմենտների տարբադարձման համար ստացված 10 մգ պրեպարատը ներմուծում ենք CM-ցելյուլոզով լցված աշտարակ (1,0×10 սմ), որը համասարակշռված է 0,05 M (pH 4,5) ամոնիում-ացետատային բուֆերով: Բաժանումը իրականացվում է 15 մլ՝ Ժ արագությամբ, pH 4,5—7,5 դրադիենտի պայմաններում (400 մլ): Ստացված սպիտակուցային թորամասերը լիսֆիլիզացվում են:

Վահանամուր օձի բույնից Ա₂ ֆոսֆոլիպազի անջատման նպատակով սորբենտով ի աշտարակ է ներմուծվել 100 մգ թույնի կոնցենտրիկ լուծույթ

(բութեր 1, рН 8,0): Քրոմատոգրաֆիան իրականացվել է վերը նշված ձևով: Ա₂ ֆոսֆորիլազի լվացման համար կիրառվել է բութեր 2-ի լուծույթը: Աղադրկումն իրականացվել է սեֆադեքս G-25-ի օգնությամբ՝ 1 % քաղցախաթթվի լուծույթի միջավայրում: Նշքը կազմել է 5,2 մգ:

Իզոֆերմենտների բաժանումը իրականացվել է DEAE-ցելյուլոզի վրա բրոմատոգրաֆիայի միջոցով (1,0×5,0 սմ), կիրառելով ամոնիում-ացետատային բութերի 0,005-0,05 M գրադիենտի (200 մլ), այնուհետև հաջորդաբար 100-ական մլ 0,1 M, 0,2 M, 0,3 M լուծույթներ (рН 7,0): Ստացված թորամասերը կրկնակի լիոֆիլիզացվել են:

Արդյունքում մեղվի բույնից Ա₂ ֆոսֆորիլազի անջատման համար պահանջվում է թույնի բարձր մածուցիկությամբ լուծույթը նախապես ֆիլտրել պղտոր խառնուրդներից: Այսպիսի նախնական մաքրումից հետո թույնի 200 մլ ներմուծվել է աֆինային բրոմատոգրաֆիայի աշտարակ՝ հավասարակշռված բութեր 1-ով (рН 7,9): 1°C-ի տակ 20 ժ թողնելուց հետո աշտարակը լվացվել է 1 % քաղցախաթթվի լուծույթով: Աղադրկված ֆոսֆորիլազային թորամասի էլքը լիոֆիլիզացիայից հետո կազմել է ~ 5 մգ:

Իզոֆերմենտների այս խառնուրդն այնուհետև 10 մլ/ժ արագությամբ բաժանվել է C.M.-սեֆադեքսի վրա (1,0×5,0 սմ)՝ հավասարակշռված 0,05 M Tris-HCl բութերով, рН 9,0, NaCl-ի 0-0,2 M գրադիենտի կիրառությամբ (100 մլ):

Թույններից Ա₂ ֆոսֆորիլազի անջատման և անալիզի արդյունքները բերված են աղյուսակ 1-ում:

Այլ սպիտակուցային ֆրակցիաները ստացված են աննշան բանականությով:

Արդյունքներ և Լճնաբերում: Ներկա աշխատության մեջ նկարագրված է ամինային ապակու հիման վրա ստացված կենսալուրահատուկ սորբենտի սպառազործումը տարբեր աղբյուրներից Ա₂ ֆոսֆորիլազ անջատելու համար: Իբրև կենսալուրահատուկ էրի՝ ոգտագործված է ամինային սուպակին, որն ամինախմբերի միջոցով կովալենտորեն կապակցված է ֆոսֆորիլազների մոլեկուլների հետ: Աֆինային սորբենտի ստացման ժամանակ հաշվի են առնված ինչպես լիզանդ հանդիսացող լիպիդի, այնպես էլ անջատման ենթակա ֆերմենտի, իբրև սպիտակուցի հատկություններն ու ֆունկցիաները:

Այսպես, բանի որ Ա₂ ֆոսֆորիլազը օժտված է սուբստրատային և դիրքային յուրահատկությամբ, այսինքն՝ ճիգրոլիդի է ենթարկում 1,2 դիացիլ-3-օն-ֆոսֆորիլազների երկրորդ դիրքի բարդ եթերային կապը, ապա, իբրև լիզանդ ընտրել են՝ գլիցերինային հիմքի երկրորդ դիրքում պարզ եթերային կապ պարունակող ֆոսֆատիդիլսուլին: Լիզանդի կովալենտ կապակցումը մատրիցայի հետ իրականացված է գլիցերինային հիմքի C-1 ատոմին հարող ալկիլ մնացորդի կարգօքսիդային խմբի միջոցով: Սպառազործված լիզանդը 1-Օ-դոդեկադիկարբոնային-2-օկտադեցիլդեկան-3-ֆոսֆոսուլին է՝ նախկինում սինթեզված Մոսկովայի նուրբ քիմիական տեխնոլոգիայի ինստիտուտում [4,5], (տես սխեման):

Ոչ յուրահատուկ սորբցիայի կանխման նպատակով ամինային ապակու ազատ մնացած ամինախմբերը մեկուսացված են քաղցախային անհիդրիդի միջոցով ապոտիլացնելով:

Փորձը ցույց է տալիս, որ այսպիսի սորբենտը հնարավոր է բազմիցս օգտագործել երկար ժամանակահատվածի (1—2 տարվա) ընթացքում: Այս իմաստով, յուրաքանչյուր մաքրման պրոցեսից հետո սորբենտով լի աշտա-

րակը նպատակահարմար է կրկին համասարակշռել ստարտային բուֆեր 1-ով և այս վիճակում պահել 4°C -ի պայմանում:

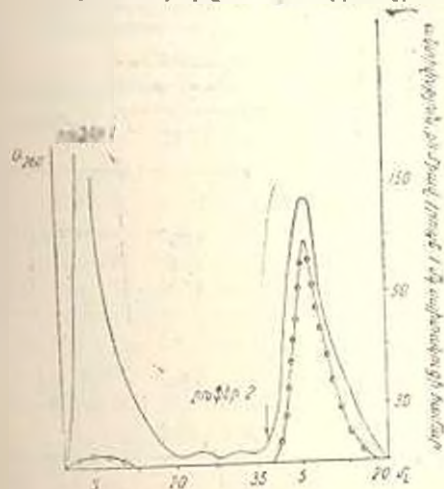
Ստացված աֆինային սորբենտը օգտագործել ենք միջինասիական *Naja naja oxiana* կոբրայի, հեռավոր արևելյան *Agkistrodon halis blomhoffii* վահանամուխ օձի և մեղրատու *Apis mellifera* մեղմի թույներից Ա₂ ֆոսֆոլիպազի անջատման համար:

Խուֆերային լուծույթների ընտրությունն ու բուն աֆինային քրոմատոգրաֆիայի ընթացքը երեք աղբյուրների համար էլ հիմնականում նույնն է: Սակայն պետք է նկատի ունենալ, որ Ա₂ ֆոսֆոլիպազն օձերի թույներից անջատելու դեպքում սորբենտով լցված աշտարակ է ներմուծվում պարզապես թույնի գոնցնետրիկ լուծույթ, մինչդեռ մեղմի թույնից անջատելու դեպքում սահմանցվում է թույնի մածուցիկ լուծույթի նախնական մշակում՝ ֆիլտրացիայի միջոցով մեխանիկական խառնուրդներից անջատում, հետագայում սորբենտը աղափոխելուց և խցանվելուց ապահովելու նպատակով:

Ծխնյութի լուծման և լիպիդ-լիզանզի հետ թույնի չկապվող բաղադրամասերի լվացման համար օգտագործված է բուֆեր 1-ը: Ֆոսֆոլիպազային ակտիվությամբ թորամասերի լվացումը իրականացվել է բուֆեր 2-ով կամ 1% քաղախաթթվի լուծույթով:

Լիզանզի հետ ֆերմենտի կապակցումն ընթանում է 20—24 ժամվա ընթացքում 4°C ջերմաստիճանի պայմաններում: Ա₂ ֆոսֆոլիպազի բոլոր իզոֆերմենտների լիակատար սորբցիայի մասին է վկայում այն փաստը, որ 24-ժամյա դադարից հետո աշտարակի կրկին լվացման դեպքում (բուֆեր 1), լվացված ճեղուկում ֆոսֆոլիպազային ակտիվություն չի հայտնաբերվում: Աշտարակի մաքրումը ֆերմենտային ակտիվություն ունեցող թորամասերից իրականացվել է կալցիումի իոններ չպարունակող բուֆեր 1-ով (այսինքն՝ բուֆեր 2-ով) կամ էլ քաղախաթթվի 1% լուծույթով լվացում կատարելով: Հետաքրքիր է նշել, որ աշտարակից ֆոսֆոլիպազային թորամասերը լվանալու նպատակով աղերի (օրինակ՝ 1,0—5,0M NaCl) կամ դետերգենտի տարրեր կոնցենտրացիաների (մինչև 10%) լուծույթների կիրառումը հաջող արդյունք չտվեց:

Նկատվում էր, որ աֆինային քրոմատոգրաֆիայի ընթացքը կորրային



Ա₂ ֆոսֆոլիպազի աֆինային քրոմատոգրաֆիայի ընթացքը: Այսպիսով յուրյց է սորբված բուֆերի փոփոխումը 1-սպիտակուցային խառնուրդ, 2-ֆոսֆոլիպազային ակտիվությամբ թորամաս:

Թույնից Ա₂ ֆոսֆոլիպազի անջատման համար: Վահանամուխ օձի և մեղմի թույներից Ա₂ ֆոսֆոլիպազի աֆինային մաքրման դեպքում քրոմատոգրաֆիայի կորը նմանօրինակ տեսք ունի:

Կենսալուրահատուկ բրոմատոգրաֆիայի միջոցով կարելի է դտարկել այս կամ այն աղբյուրի մեջ պարունակվող Ա₂ ֆոսֆոլիպազի իզոֆերմենտների ողջ գումարը: Ֆերմենտի դտարկված գումարային խառնուրդը կարելի է տաքադադրել՝ օգտագործելով ցելյուլոզի կամ սեֆադեքսի հիման վրա տարրեր տխար խոնափոխանակիչ սորբենտներ:

Կորրայի թույնի մեջ պարունակվում են Ա₂ ֆոսֆոլիպազի մինչև 7 իզոֆերմենտներ, մեղվի և վահանամուրթ օձի թույներում եւս կան այդ ֆերմենտի մի բանի իզոմերներ [10, 15]: Սակայն հարկ է նշել, որ մինչ վերջերս վահանամուրթ օձի թույնի մեջ պարունակվող իզոֆերմենտների թվի վերաբերյալ հայտնի տվյալները հակասական են եղել: Որոշ հեղինակներ [15] գտել են, որ այդ թույնը պարունակում է երկու իզոֆերմենտ՝ ը 4,0 և 10 իզոէլեկտրական կետերով, մինչդեռ մյուսներն ի հայտ են բերել երեք իզոֆերմենտ՝ ը 4,9, 6,9 և 8,7 իզոէլեկտրական կետերով [9]: Ընդ որում, երկու դեպքում էլ կիրառված է տրոդիցին բազմաստիճան բրոմատոգրաֆիայի եղանակը:

Մեր կողմից վահանամուրթ օձի թույնի աֆինային բրոմատոգրաֆիայից ստացված Ա₂ ֆոսֆոլիպազի իզոֆերմենտների խառնուրդի բաժանման համար օգտագործված է բրոմատոգրաֆիան DEAE-ցելյուլոզի վրա՝ կիրառելով ամոնիում-ացետատային բուֆերի գրադիենտը [3]: Այս ձևով անջատված են երեք իզոֆերմենտներ՝ ը 5,0±0,2, 7,0±0,2; 8,7±0,2 իզոէլեկտրական կետերով: Սպիտակուցային այլ ֆրակցիաներ ստացվել են զրեթե սեննչան բանակով և ֆոսֆոլիպազային ակտիվություն չեն պարունակել:

Անջատված իզոֆերմենտներին ինքնատիպությունը հաստատված է 15 պոլիակրիլամիդային զել-էլեկտրաֆորեզի և իզոէլեկտրաֆոկուսացման մեթոդներով [12, 18]: Մոլեկուլյար կշիռները որոշված են Ds-Na ներկայությամբ էլեկտրաֆորեզի և գել-ֆիլտրացիայի միջոցով: Ստացված ինքնատիպ սպիտակուցների ամինաթթվային անալիզի տվյալները լավագույն ձևով համադրվում են զրականության մեջ հայտնի տվյալների հետ [1, 2, 9]:

Աղյուսակ 1-ում ամփոփված են Ա₂ ֆոսֆոլիպազի աֆինային մաքրման և անալիզի որոշ արդյունքները:

Տարբեր աղբյուրներից Ա₂ ֆոսֆոլիպազի բրոմատոգրաֆիկ մաքրման և անալիզի արդյունքները

Թույնի աղբյուր	Ֆերմենտի պարունակությունը, %	Ֆերմենտի անսակարար թյունը, միավորային մաքրման համար	Ամրանաթթվային մնացորդների բնութագրիչ թիվը	N-ձայրի ամինաթթվային	
Միջինատիպային կորրայի թույնի իզոֆերմենտ	I 1.0 II 2.0-3.0 III 2.5-3.0	75 130 150	5.4±0.1 5.5±0.1 5.1±0.1	126 128 119	Act
Մեղրատու մեղվի թույն (հիմնային իզոֆերմենտ)	1.0-1.5	1.0	10.5±0.1	129	Ile
Արևելյան վահանամուրթի թույնի իզոֆերմենտ	I 1.0-1.5 II 3.0 III 1.0-1.5	40 160 80	8.7±0.2 7.0±0.2 5.0±0.2	109 123 105	Ser

Հարկ է նշել, որ նկարագրված ադսորբենտի միջոցով ստացվում են Ա₂ ֆոսֆոլիպազի անջատման լավագույն տվյալները օձերի և մեղրատու մեղվի թույ՝ Ներից՝ ի տարբերություն այն տվյալների, որոնք ստացվում են Ա₂ ֆոսֆոլիպազի անջատման դեպքում օրգանա-սիլիկատոլային տիպի կայունացված լիպիդով կենսալուրահատուկ կրիչի վրա, հավանաբար այն բանի հաշվին, որ տվյալ դեպքում սղտագործված սուրսուրատ-լիպանդը ապահովում է կապը ֆերմենտի հետ ոչ միայն բևեռացված մասով, այլև ըստ զլիցերինային հիմքի C-1 և C-2 ատոմներին կից հիդրոֆոր ալիֆատիկ կողմնային շղթաների, որն էլ բերում է թույնի ալիպիսի թաղանթաակտիվ բաղադրամասերի սուրսուրատի հետ փոխազդեցության և կապի թուլացմանը, ինչպիսիք են ցիտո-և կարդիոտոքսինները՝ կորբալի և մելլիտինը մեղվի թույների մեջ (հայտնի է, որ վերջիններս առաջացնում են կայուն կոմպլեքսներ սուրսուրատի բևեռացված մասի հետ)։

Այսպիսով, տարրեր թույներից Ա₂ ֆոսֆոլիպազ անջատելու համար կարելի է հաջողությամբ էկրանել վերը նշված ձևի՝ ամինային ապակու հիման վրա ստացված, անշարժացված լիպիդ-լիգանդով կենսալուրահատուկ ազսուրբենտ։

Իր մեջ լավագույն հատկությունների համադրման շնորհիվ (կայունություն, իներտություն, լիպիդ-լիգանդի հետ կոմպլեքս կապի ամրություն, լիպիդի հանդեպ ֆերմենտի բարձր խնամակցություն և էլանյութի մեջ այլ թաղանթաակտիվ բաղադրիչների՝ լիգանդի հանդեպ խնամակցության թուլացում), նման աֆինային սորբենտը կարելի է Լրաշխավորել տարրեր ներթափանցիվ և արտաթափանցիվ ադրյուրներից Ա₂ ֆոսֆոլիպազի անջատման համար կիրառության։

ЛИТЕРАТУРА

1. Алсалам У. Р., Шамбарант О. Г., Мирошников А. И., Биоорган. химия, 11, 1553—1559, 1977.
2. Гричук В. И., Мецержкова Е. А., Оханов В. В., Ефремова Е. С., Мирошников А. И., Биоорган. химия, 5, 8, 1222—1233, 1979.
3. Евстратова Н. Г., Айянян А. Е., Мирошников А. И., Серебренникова Г. А., Евстигнеева Р. П., Биохимия, 47, 9, 1547—1551, 1982.
4. Евстратова Н. Г., Василенко И. А., Попова Т. П., Серебренникова Г. А., Евстигнеева Р. П., Биоорган. химия, 5, 8, 1140—1145, 1979.
5. Купаун А. И., Башарули В. А., Швец В. И., Биоорган. химия, 4, 11, 1567—1568, 1978.
6. Borgmann B. J., Huntz C. K., Mackin W. M., Becker E. L., Proc. Nat. Acad. Sci., 81, 3, 761—771, 1984.
7. Francon R. C., Weir D. L., Thakkar J. J., molec. & cell cardiology, 15, 3, 189—197, 1983.
8. Gray W. R. in Methods in enzymol., 11, 139—151, Acad. Press, New York—London, 1967.
9. Hanahan P., Joseph M., Morales R., Biochem. et biophys. acta, 629, 3, 649—649, 1980.
10. Kawasch S., Iwanaga S., Samama J., Suzuki T., Biochem. et biophys. acta, 236, 1, 142—160, 1970.
11. Little C., Aurebeck B., Othman A., Febs Lett., 52, 2, 175—179, 1975.
12. Reisfeld R. A., Lewis U., Williams D., Nature, 195, 281—283, 1962.
13. Rock C. O., Snyder F. J., Biol. Chem., 250, 16, 6554—6556, 1975.
14. Salach J. I., Turini P., Seng R., Hauser J., Singer T. P. J., Biol. Chem., 246, 331—339, 1971.

15. Shipolini R. A., Callewaert G. L., Cottrell R. C., Doonan S., Vernon C. A., Banks B. E. G. J. Biochem. 20, 459, 1971.
16. Tanaka Y., Eriomin V. A., Kawamura Y., Inoue K., Naito S. J. Biochem., 24, 3, 841—846, 1983.
17. Teramoto T., Taji H., Yamano T., Okamoto M. J. Biochemistry, 93, 5, 1353—1361, 1983.
18. Weber K., Osborn M. J. Biol. Chem., 244, 16, 4401—4412, 1969.
19. Wells M. A., Hanahan D. L. Methods in Enzymol., 14, 179—181, Acad. Press., New York—London, 1969.

Ստացված է 25. XI 1985 թ.

Бiolог. ж. Арм. — 40, № 6, 358—360, 1987

УДК 577.15:579.22+579.6

ENZYMATIC CHARACTERIZATION OF A NEW HYDROLASE FROM MICROBIAL ORIGIN

BOHOS KEVORK MESROB AND STANKA PETKOVA SIOEVA

Dept. of Organic Chemistry, Inst. of Chemical Technology Sofia, Bulgaria

Abstract — The enzymatic properties of proteolytic enzyme isolated from *Bac. mesentericus* strain 76, selected by bulgarian microbiologists were investigated. The proteinase named as "MCP 76" (milk-clotting proteinase) is a metalloenzyme of 33000 mol. weight.

On the basis of the enzyme properties and structure the new enzyme is considered a metal-chelation-sensitive alkaline proteinase, which is too strange to find its place in the Morihara classification, but can be defined after Dixon and Webb as 3.4.24.4 *Bac. mesentericus* alkaline proteinase.

Аннотация — Изучены ферментативные свойства протеолитического фермента, изолированного из *Bac. mesentericus* (штамм 76) — болгарскими микробиологами. Молокосвёртывающая протеиназа, названная «МСП 76» является металлоэнзимом с м. в. = 33 000.

На основе изучения свойств и структуры нового фермента он определен как чувствительный к хелатам металлов щелочной протеиназа, которая слишком необычна, чтобы классифицироваться по системе Морихары, но может быть определена по Диксону и Уэббу как 3.4.24.4 *Bac. mesentericus* alkaline proteinase.

Անոտացիա — Ուսումնասիրվել են *Bac. mesentericus* (շտամ 76)-ից, ընտրված բուլղարական միկրոբիոլոգների կողմից, առանձին պրոտեոլիտիկ ֆերմենտի ֆերմենտատիվ հատկությունները: Կաթ թափաղակող պրոտեոլիտազը, որն անվանված է «МСП 76», 3300 մոլ. կշռով մետաղազնախնայող է:

Ֆերմենտի հատկությունների և կառուցվածքի ուսումնասիրման հիման վրա նոր ֆերմենտը համարվել է մետաղների խելատների նկատմամբ զգայուն ալկալային պրոտեոլիտազ, որը չափից դուրս արտասովոր է, որպեսզի դասակարգվի ըստ Մորիհարայի սխեմի, բայց կարող է ընդգրկվել ըստ Դիքսոնի և Ուեբերի որպես 3. 1. 24. 4. *Bac. mesentericus* alkaline proteinase.

Key words: milk-clotting enzyme, alkaline protease, *Bacillus mesentericus*.

The hydrolase, subject of our report is a proteolytic enzyme isolated from *Bac. mesentericus* strain 76, selected from bulgarian microbiologists [1]. Once established as an industrially interesting enzyme, they were elaborated new growth conditions of this strain, getting higher en-

zyme productivity [2]. This proteinase, named from us „MCP 76“ (milk-clotting proteinase from strain 76), having an alkaline optimum (pH 9.0) of peptidase activity [3] one Zn-atom per molecule in native state [4,5], stabilised by unidentified number of Ca-atoms [6], is isolated from the extracellular liquor and prepared in chemical pure state by ethanol-precipitation and anionexchange column chromatography [7]. MCP76 is a metalloenzyme of 33300 mol. weight, single polypeptide chain with 304 amino acid residues, missing cysteine [5]. With its N-terminal arginine and masked C-terminus it is histidine protein [8]. Beside the typically endopeptidase activity the enzyme demonstrates an esterase activity and high milk-clotting possibility. So it became a very good microbial rennin-substituent for the cheese making industry. By its amino acid composition, sensibility to specific amino acid-modifying reagents, as well as by some enzymatic properties MCP 76 resembles the thermolysine from *Bac. thermoproteolyticus* [9]. Its individuality is established by the sequence of 15 amino acid residues from the N-terminus [10], which differs from all the Zn-proteases with known amino acid sequence and from thermolysin too [11, 12].

The aim of this proceeding is to discuss the enzymatic properties of MCP 76 in connection with its usefulness in other fields of specific hydrolysis, in the enzyme catalysed peptide synthesis and so on.

Proteolytic and esterolytic activity of MCP 76. The proteolytic activity was determined towards high molecular weights substrates: 2% flamarsten casein solution in 0.1 M KCl + mM CaCl_2 and 2% solution of urea-denatured hemoglobin [13, 15]. For the esterase activity were used the following substrates: BAEE, TAME, ATEE, TEE BTME*. The enzyme catalysed hydrolysis of the substrates was followed using Radiometer autotitrator with pH state and after the absorption changes of the substrate solutions: for BAEE at 253 nm; for TAME at 247 nm; for ATEE and TEE at 237 nm and for BTME at 256 nm [16, 17].

The pH-activity curves for the hydrolysis of casein and urea denatured hemoglobin by the action of the MCP 76 showed an optimum pH at 8.5–9.0 for the hydrolysis of casein and pH 8.5–9.2—for hemoglobin. There is a difference in the pH-activity-pH curves for both substrates in the pH region 6.3–6.9, where casein hydrolysis is about 1.5-times greater than hemoglobin hydrolysis under the same conditions. The activity of MCP 76 on synthetic substrates showed an optimal pH 6.6 for the hydrolysis of TEE and pH 8.0 for the hydrolysis of BAEE. The rate of the TEE-hydrolysis is 4-times higher than of BAEE under the same conditions. The K_m for TEE and BAEE-hydrolysis determined at the optimal pH for each substrate is 83 mM for TEE and 26.6 mM for BAEE (Fig. 1).

The esterase activity of MCP 76 towards the other esters was tested comparatively with DFP-treated-MCP 76, trypsin and chymotrypsin. Each enzyme was investigated at its pH-optimum. It was established

* Abbreviations: BAEE—N- α -benzoyl-L-arginineethylester; TAME—N- α -tosyl-L-argininemethylester; ATEE—N-acetyl-L-tyrosineethylester; TEE—L-tyrosineethylester; BTME—N-benzoyl-L-tyrosinemethylester.

that the trypsinlike and chymotrypsinlike esterase activity of MCP 76 is about 10-times weaker than that of active trypsin and chymotrypsin [15]. The drop in activity after DFP-treatment is 3-5% vs. both typical trypsin and typical chymotrypsin substrates only after 4-hours of incu-

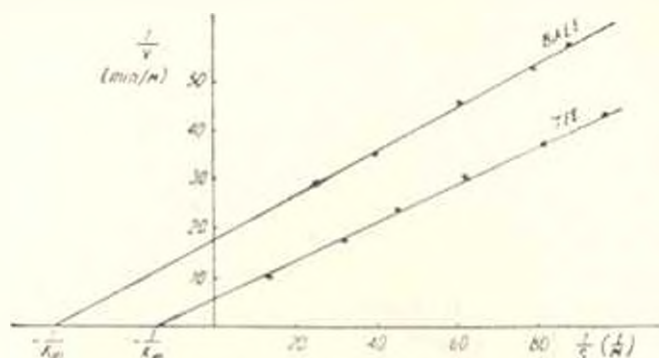


Fig. 1. K_m — values for the hydrolysis of TFE and BAEE by the action of MCP 76.

bation. Consequently, from the results obtained it may be assumed, that the MCP 76 esterase activity towards specific tyrosine and chymotrypsin substrates is its own property and is not due to serine-protein contamination. On the other hand, the slow and weak effect of DFP on MCP 76 may be ascribed to possible nonspecific interactions with serine residues out of the active site, leading to a violation of the enzyme native conformation. The pH-optimum of 8.5-9.0 is a typical alkaline protease property, but the lower proteolytic activity of MCP 76 at pH 5.8-6.0 makes it suitable as cheese making enzyme.

The potential usefulness of MCP 76 as a microbial rennin-substituent was the reason of our investigation on its phosphoesterase activity. Phosphomonoesterase activity was determined at pH 6.5 and 9.0 after the released p-nitrophenol from p-nitrophenylphosphate, as a substrate [18]. For the phosphodiesterase activity bis-(p-nitrophenyl)-phosphate as a substrate was used [19]. The absorbance at 400 nm was measured and the activity was calculated on the basis of molar absorption coefficient $17 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ of the released by the enzyme action p-nitrophenol.

The experiments show the predominance of phosphodiesterase activity at pH 6.5 of higher velocity than as pH 9.0 [20].

The established esterase activity of MCP 76 is not surprising. Some neutral Zn-proteases from *Bac. thermoproteolyticus*, *Bac. subtilis* and *Aeromonas proteolytica* hydrolyse ether binding too [21]. This fact implies that esterase activity is a property of Zn-proteases at all. The presence both of proteolytic and esterase activity in MCP 76 indicates according to Holmquist and Vallee [21] that ester and peptide bond hydrolysis proceeds by identical binding and catalytic mechanism.

As a protease, MCP 76 has a high hydrolytic capacity towards casein. Studying its proteolytic activity after the release of TCA-soluble nitrogen, MCP 76 showed about 5 and 2.5-times higher activity than

the rennin and the pepsin respectively, by the same conditions. By the kinetic study of this reaction at pH 6.5 was established, that rennin and pepsin catalysed reaction ended after about 40 min, while MCP 76 hydrolysed even after 60 min still by the same initial velocity. This contradiction in the hydrolysis rates obtained we explain with the phosphoesterase activity of the enzyme, leading to the split both of peptide and phosphoester bonds of casein fractions. This fact was confirmed with the drastic change of the electric charges of MCP 76-treated casein fractions, established by PAGE.

The MCP 76-catalysed hydrolysis reaction specificity was studied on oxydized insulin B-chain. After fractionation of the peptides obtained and determination of the sites and rates of splitting, the specificity of MCP 76 was demonstrated in comparison with known metal-chelator-sensible neutral and alkaline proteases, as well as with rennin and some rennin-substitutes (Fig. 2) [20].

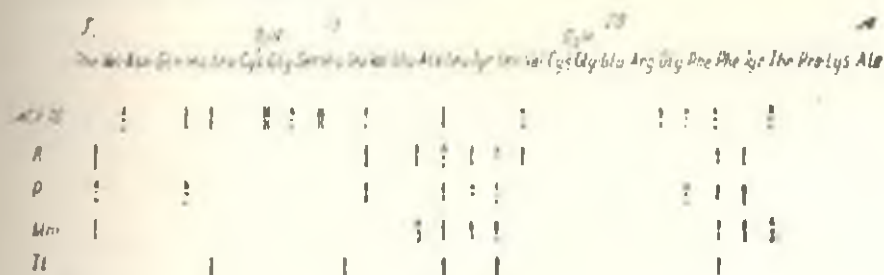


Fig. 2. Site of cleavage of oxydized insulin B-chain by MCP76 and other proteases. R — calf rennin, P — bovin pepsin, Mm — bacterial protease from *Mucor miehei* (milk-clotting enzyme), Tl — thermolysine.

Our results, obtained by using of low and high-molecular peptide substrates indicate (Fig. 2), that MCP 76 hydrolyses mainly peptide bonds, containing amino groups of hydrophobic amino acids of glycine and histidine.

This type of specificity is characteristic of the neutral metal-chelator-sensible proteases. They split mainly peptide bonds containing amino group of leucine, valine, phenylalanine and tyrosine. There are only small differences between the specificity of MCP 76 and these proteases. But MCP 76 differs significantly from the alkaline metal-chelator-sensible proteases (according the classification of Morihara [22]). The hydrolysis activity of these proteases is of lower specificity—they split from both the amino and carboxy side of same amino acids.

As can be seen (Fig. 2) the enzyme splits at different rates the same bonds in different surrounding in the B-chain (bonds Cys—Gly at 7—8 and 19—20). This result supports the hypothesis on the more complicated structure of the MCP 76 catalytic centre—the presence of secondary contact sites necessary in the binding of the substrate molecule, like the structure of pepsin [23] and some other proteases. In this case the hydrolysis rates depend on the neighbouring residues around the sensitive peptide bond.

We studied the MCP 76—catalysed reaction small peptide substrates too. The enzyme was practically inactive towards nonprotected dipeptides at pH 6.5. The reaction was carried out on the peptide chosen:

- 1) Z—L—Tyr—L—Ile—OH; 2) Z—L—Thr—L—Phe—OMe;
- 3) Z—L—Pro—L—Leu—GlyOH; 4) Z—L—Phe—L—Met—OH;
- 5) Furoyl—acryloyl—Gly—L—Leu—ONH₂ (FAGLA).

The reasons for this choice were: the first three contain MCP 76—accessible peptide bonds; No 4—the presence of Phe—Metbond—a casein bond mainly splitted from rennin in the milk—clotting process [24] and FAGLA—a specific thermolysin substrate [25]. The hydrolysed bond in each peptide was estimated by TLC of the obtained fragments. The peptides 1—4 were dissolved in 12.5% acetone in buffer (pH 6.5 and 9.0). The results are given in Table 1.

Table 1 Rate and specificity of MCP 76—catalysed hydrolysis of protected peptides

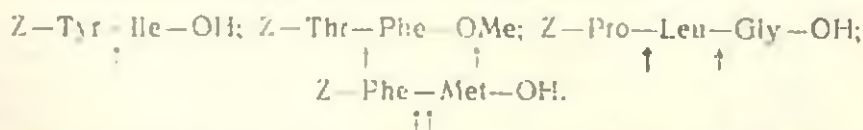
Substrate (in 12.5% acetone in 50 mM KCl + 1 mM CaCl ₂)	Hydrolysis rate (u 10 mM KOH/min)		Hydrolysis fragments* (TLC solvent systems)**	
	pH 6.5	pH 9.0	S 1 and S 2	S 3
Z—L—Tyr—L—Ile—OH	3.0	3.0	Z—Tyr	Ile—OH
Z—L—Thr—L—Phe—OMe	1.0	3.0	Z—Thr, Phe—OMe Z—Thr—Phe—OH	Phe—OH
Z—L—Pro—L—Leu—Gly—OH	0.3	0.7	Z—Pro, Z—Pro— —Leu	Gly—OH, Leu—OH
Z—L—Phe—L—Met—OH	10.0	0.5	Z—Phe	Met—OH

* By TLC on Silufol plates.

** S1 — Chloroform: acetic acid (9:1) (for protected peptides, Reindie dien
S2 — n—Butanol: water: pyridine: acetic acid (60:20:24:6) (for protected peptides, Reindie detection)

S3 — n—Butanol: acetic acid: water: pyridine (15:3:12:10) (for free amino acids, ninhydrin detection).

The resulting specificity of MCP 76 is as follows:



By the peptides studied there is no split of Z—Y bond (Y=Tyr, Thr, Pro, Phe). The comparatively higher rate of Phe—Met—bond hydrolysis by MCP 76 makes this enzyme effective as rennin—substitute.

The pH—optimum of the MCP 76—catalysed hydrolysis of Z—Phe—MetOH was determined in study of titration curves. The titrations with 19mM KOH were carried out using an autotitrator—pH—stat, on 1 ml portions of 100 mM substrate solution in 50% DMSO in 10 mM KCl + 5mM CaCl₂, with 5 Mg MCP 76 (~0.15 M moles) in 30 ML 100mM acetate buffer pH 6.5. The results (Fig. 3) show a sharp pH—optimum of about pH 5.1.

The peptidolytic activity of MCP 76 towards FAGLA was estimated by the drop of the absorption at 345 nm [25]. The pH—optimum was deduced by using of 1mM FAGLA solution in buffers of different pH. In Fig. 4 is plotted the pH 6.5 as optimum.

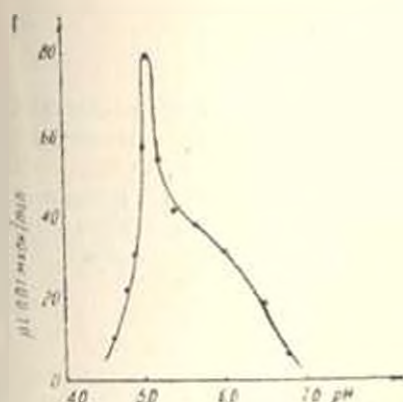


Fig. 3. pH—dependence of the hydrolysis velocity of Z—Phe—Met—OH as substrate by MCP76.

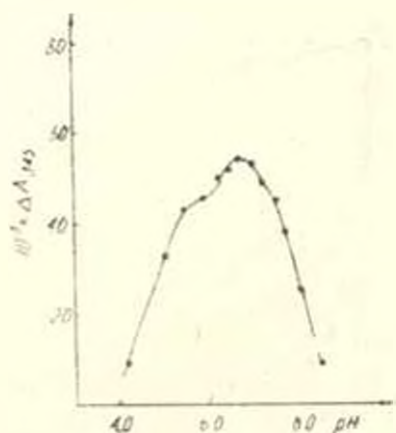


Fig. 4. pH—dependence of FAGLA cleavage by MCP76.

It can be seen, that MCP 76 shows an activity towards ester and peptide bonds in synthetic esters and low—and high—molecular peptides and proteins at different pH (between 5.1—9.2) dependent from the substrate and the type of the solvent media (water, water—organic solvents or water luls acids). This is in accordance and supports the idea of easier adaptation of microbial proteinases towards different substrates. It is supported by potentiometric titration of MCP 76, when occur significant conformational changes in the enzyme structure 26. These changes became deeper, when to the influence of pH is added the possible solvation of more hydrophobic areas of enzyme molecule by organic solvents. In these conditions the adaptation of the enzyme reactive centre structure to the different substrates seems to be a favorable process.

Inhibitory effects on MCP 76. The search of an effective inhibitor of MCP 76 had two reasons. If the trypsinlike or chymotrypsinlike esterase activity or the proteolytic are not due to other enzyme contaminations of serine type. On the other hand—to eliminate the autolysis of enzyme preparations during the investigation.

The following specific polypeptide inhibitors were tested: bull sperm—plasma—inhibitors (BUI I and BUI II), „Contrical“ (GDR)—a formulation of trypsin—, plasmin—and kalligenase—inhibitors, ovomucoid, melitin, soya bean trypsin—inhibitor. The results show lower than 6% of proteolytic activity decrease of MCP 76 treated with these inhibitors [15], demonstrating again that MCP 76 is not a serine proteinase. This low degree of inhibition may be due to the inhibitors' nonspecific interaction with MCP 76.

Chemical modification effect on the enzymatic properties of MCP 76. This study refers to the interaction of some specific amino

acid reactants, which modify mainly the specific amino acid function in the active centrum of enzymes. On the Fig. 5 are given the curves of inhibitory effect on MCP 76. From the results obtained may be summarised:

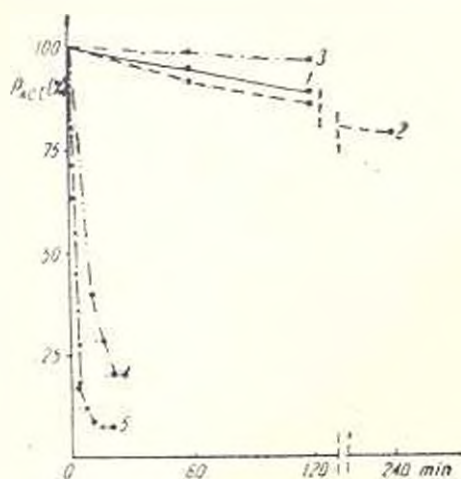


Fig. 5. Influence of specific chemical modifiers of amino acids on the proteolytic activity of MCP 76: 1 — TNM (25:1); 2 — DFP; 3 — 1, 2 — cyclohexadion (60:1) at pH 8.0; 4 — DEPC; 5 — DFP — trypsin.

The interaction of 1,2-cyclohexadion at pH 8.0, 35° [27] with MCP 76 leads to decrease of the proteolytic activity only with 3%;

The influence of DFP is nonspecific too. Only after 4-hour-treatment the loss of activity achieves 20%. In comparative study, the inactivation of trypsin occurs in few minutes [28];

Inactivation pattern of TNM (trinitromethane)-treated MCP 76 is almost the same. About 30% inactivation is observed after 2 hours and in 100-times molar excess of TNM [29].

This kind of slow and weak inactivation of MCP 76 may be due to the binding of the reagents with arginine residues (1,2-cyclohexadion), serine (DFP) or tyrosine residues (TNM) out of the catalytic centrum of the enzyme.

The interaction of diethylpyrocarbonate (DEPC) leads to drastic decrease of MCP 76 proteolytic activity [30]. This result shows a bound histidine in the reactive centrum of the enzyme. The presence of 2 accessible histidine residues on the surface of the native MCP 76 molecule was confirmed by potentiometric titration study of the enzyme [26].

Metal-chelator-effect on the MCP 76 enzymatic properties. As a Zn-proteinase MCP 76 is sensible to metal-chelators. Our investigation confirmed, that by longtime treatment with 1mM EDTA or OP (o-phtalylaldehyde) MCP 76 was irreversibly inactivated. The reversibility of this process was possible at reduced metal-chelator-treating time and at higher concentration of Ca-ions. The time-effect is shown in Table 2.

From these results is to be seen, that the reactivation is still possible by 1 mM Ca-ions in the reaction media, if the enzyme was first treated with metal-chelator not longer than 10 min.

Table 2 Kinetic of the loss and restoration of proteolytic activity of MCP 76 at pH 6.5

Loss of activity (in 1 mM EDTA+1mM CaCl ₂)		Restored activity (in 1mM ZnSO ₄ +1mM CaCl ₂)		
Time min	Residual activity %	Time, min		
		5	5	13
5	23.5	36.4	32.8	34.5
10	4.5	10.9	11.2	9.6
15	1.6	—	—	—

After 10 min treating in 1 mM EDTA by 100 mM CaCl₂ at pH 6.5 and about 80% of enzymes' proteolytic activity, 100% reactivation is achieved by incubation of the apoenzyme obtained in 1 mM ZnSO₄ and mM CaCl₂ solution.

By these results was demonstrated the importance of Ca-ions for the stability of the MCP 76 native structure, established by other methods from us [6]. Probably, the irreversibility of the enzymes' inactivation by longtime treatment with EDTA or OP at low Ca-ions concentration is due to the changes in the conformation of the enzyme, insufficiently protected for lack of Ca-ions.

On the basis of the discussed enzyme properties and structure data we consider this new enzyme—the MCP 76, as a metal—chelator—sensible alkaline proteinase, which is too strange to find its place in the Morihara classification [22].

After the Dixon and Webb „Nomenclature of enzymes“, must be defined as 3. 4. 24. 4. *Bac. mesentericus* alkaline proteinase regarding, that the enzyme is a hydrolase (3.), which hydrolyses peptide bonds (3. 4.), metal ion is participating in the catalytic mechanism₂(3. 4. 24.) and is from microbial origin (3. 4. 24. 4').

References

1. Emanuloff I. Bull. Inst. Microbiol. Bulg. Acad. Sci., 2, 1—17, 1951.
2. Kondratenko M., Nachev L., Dedova P., Antonova T. USPat. 4048339, 1977.
3. Mesrob B. K., Ivanov Ch., Vassileva R. A. Compt. rend. Acad. bulg. sci., 29, 1349—52, 1976.
4. Mesrob B. K., Vassileva R. A. Int. J. Pept. Protein Res., 17, 89—92, 1981.
5. Mesrob B. K., Stoeva S. P. Int. J. Pept. Protein Res., 21, 359—373, 1983.
6. Mesrob B. K., Stoeva S. P., Vassileva V. M. Compt. rend. Acad. bulg. sci., 35, 1523—26, 1982.
7. Mesrob B. K., Stoeva S. P., Vassileva R. A. Int. J. Pept. Protein Res., 11, 340—344, 1978.
8. Mesrob B. K., Stoeva S. P. Unpublished data.
9. Titani K., Hermanson M., Ericsson L., Walsh K., Neurath H. Nature, New Biology, 238, 35—37, 1972.
10. Vassileva R. A., Mesrob B. K., Mancheva I. N. Compt. rend. Acad. bulg. sci., 35, 1527—30, 1982.
11. Becker W. C., Dayhoff M. O. In: Atlas of Protein Sequence and Structure, ed. M. O. Dayhoff, Nat. Biomed. Res. Found., 5, 101, Washington, D. C., 1972.
12. Lipscomb W. N., Hartsuck J. A., Rock G. N. Jr., Quiroga F. A., Bethge P. H., Ludwig M. L., Steitz T. A., Muirhead H., Coppola J. C. Brookhaven Symp., 21, 24—32, 1969.

13. Stoeva S. P., Mesrob B. K. FEBS Letters, 99, 1, 86—88, 1977.
14. Anson M. L. J. Gen. Physiol., 22, 79—86, 1938.
15. Mesrob B. K., Stoeva S. P., Mahdi R. Compl. rend. Acad. bulg. sci., 35, 5 653—656, 1982.
16. Hummel B. C. W. Canad. J. Biochem. Physiol., 37, 1493—95, 1959.
17. Schwert D. W., Takenaka Y. Biophys. Biochim. Acta, 16, 570—578, 1955.
18. Bessey O. A., Loxley O. H., Brock M. J. J. Biol. Chem., 164, 321—328, 1946.
19. Gurilhe P., Laskowsky M. S. Biophys. Biochim. Acta, 18, 370—376, 1955.
20. Mesrob B. K., Stoeva S. P., Stenandova R. A. Annal. Chem. Technol. Inst., 28, 65—77, Sofia, 1981. (Engl.).
21. Holmquist B., Valle B. Biochemistry, 15, 101—107, 1976.
22. Morihara K. In: Adv. in Enzymology, 41, 179, 1974.
23. Fruton J. In: Adv. in Enzymology, 33, 401, 1970.
24. Hill R. J. Daley Res., 36, 409—415, 1969.
25. Feder J. Biochem. Biophys. Res. Comm., 32, 326—332, 1968.
26. Stoeva S. P., Dimitrova E. A., Atanasov B. P., Mesrob B. K. FECS, 3—rd Conf. on Chem. and Biotech. of Biol. Active Nat. Prod., 4 13—17, Sofia, 1985.
27. Dietl T., Tscholsche H. Z. Physiol. Chem., 351, 121—125, 1976.
28. Ballis A., Jansen E. In: Adv. in Enzymology, 13, 321—329, 1952.
29. Riordan J., Sokolowsky M., Valle B. Biochemistry, 6, 258—261, 1967.
30. Ovadi J., Libor S., Elődi P. Arch. Biochem. Biophys. Acad. Sci. Hung., 2, 4.5—459, 1967.

Received on the 5.1987

Биолог. ж. Армении, т. 40, № 5, 366—373, 1987

УДК 517.16/17+612.43/45

СОДЕРЖАНИЕ ДОФА И ДОФАМИНА В НАДПОЧЕЧНИКАХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГИПОПАРАТИРЕОЗЕ

Д. Н. ХУДАВЕРДИН, Г. Г. БАКУНЦ

Ереванский государственный медицинский институт, кафедра физиологии, ЦНИЛ

Аннотация — Изучено содержание ДОФА и дофамина в надпочечниках крыс на 4-, 14- и 30-й дни экспериментального гипопаратиреоза. Показана динамика изменений этих показателей. Обобщены полученные данные и результаты биохимического изучения центральных и периферических моноаминергических систем, а также морфологического изучения надпочечников в динамике развития экспериментального гипопаратиреоза.

Անոտացիա — Բնութագրվել է ՊՅՅԱ-ի և դոֆամինի պարունակությունը առեւտ-
ների մակերիվամներում փորձարարական թերձարվաճանազեղծության 4-րդ, 14-րդ
և 30-րդ օրերին:

Ամփոփվել են կենտրոնական և պերիֆերիկ մոնոամիներգիկ համակարգերի
ակտիվության կենտրոնական հետազոտության տվյալները և արդյունքները,
ինչպես նաև կատարվել է մակերիվամների մորֆոլոգիական հետազոտություն
փորձարարական թերձարվաճանազեղծության զարգացման ամբողջ ընթացքում:

Abstract—The DOPA and dopamine content in the rat adrenal glands at the 4th, 14th, and 30th days of the experimental hypoparathyreosis have been investigated. The data of the biochemical investigations of the central and periferic monoaminergic systems, and also with the morphological investigations of the adrenal glands under the experimental hypoparathyreosis conditions are summarized and discussed.

Ключевые слова: гипопаратиреоз, ДОФА, катехоламины, паратгормон, Ca^{2+} .

В настоящее время интенсивно изучаются нетрадиционные механизмы стресса, выдвинуто положение, согласно которому паратгормон, осущес-

ставляющий наряду с серотонином и катехоламинами активацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС), является одним из наиболее важных участников запуска и становления стрессовой реакции. При напряженных состояниях организма происходит усиление секреции паратгормона и нарастание концентрации Ca^{2+} в плазме крови, опережающее активацию ГГНС [11]. Анализ литературных данных и собственных исследований позволяет авторам утверждать, что гиперфункция окоштитовидных желез (ОЩЖ) и сопутствующая гиперкальциемия являются важными активирующими факторами развития стресса. Как же происходит формирование стресса при недостаточности функции ОЩЖ, понижении концентрации паратгормона и Ca^{2+} в крови, каким образом и за счет усиления каких звеньев происходит запуск и реализация клеточных механизмов адаптации при гипопаратиреозе? Поставленная задача является не частным вопросом нейроэндокринологии, а важной общепиофизиологической проблемой. Изучение моаминаов центральных нервных структур, проведенное ранее, выявило снижение уровня серотонина, норадреналина, адреналина и дофамина в мозге на 4-й день после удаления ОЩЖ на фоне развившейся гипокальциемии и выраженного судорожного синдрома. При этом снижение содержания серотонина, норадреналина и дофамина в гипоталамусе составляло 51,3, 25,8 и 37,3% от контроля. Полученные данные выявили биохимические механизмы, лежащие в основе паратиреопривной тетании, а также центральные механизмы запуска и развития синдрома напряжения при недостаточности функции ОЩЖ [14].

Обнаружена структурно-метаболическая перестройка коры надпочечников, свидетельствующая об активации секреторного аппарата (преобладание ацидофильных клеток, снижение содержания липидов, аскорбиновой кислоты, гликогена, увеличение относительного веса надпочечников), накоплении ионов Ca^{2+} в адренокортикоцитах, увеличении границ пучковой зоны и синтеза кортикостерона [3].

Литературные данные показывают роль катехоламинергических и серотонинергических нейронов гипоталамуса в запуске стресс-реакции. Исследованиями Гэнонга [17] обнаружена ингибиторная функция норадреналинергических нейронов гипоталамуса в деятельности ГГНС. Морфологические данные подтверждают тесную связь между окончаниями норадренергических нейронов «синего пятна» и нейросекреторными нейронами гипоталамуса, вследствие чего норадренергические нейроны тормозят высвобождение кортиколиберина, непосредственно действуя на нейросекреторные нейроны гипоталамуса [2]. Имеются данные о модулирующих высвобождение кортиколиберина влияниях дофаминергических нейронов. Исследованиями Науменко, Вермеса и Телегди и др. показано [8, 19], что серотонинергическая система гипоталамуса оказывает подавляющее влияние на нейроэндокринную регуляцию функций переднего гипофиза. Снижение содержания гипоталамического серотонина высвобождает гипоталамус из-под серотонинергического торможения и способствует секреции АКТГ. Серотонинергические нейроны тормозят стресс, суточный ритм функции ГГНС и опосредуют эффект кортикостероидов по принципу обратной связи.

Литературные данные при этом убеждают, что катехоламины и серотонин периферических моноаминергических структур, поступая в кровь, стимулируют ГНС, т. е. проявляют относительно моноаминов центральных структур противоположный по направленности действия эффект [8, 9]. Катехоламины крови активируют α -адренорецепторы нейронов заднего гипоталамуса, которые через аксоны активируют нейросекреторные нейроны медиобазального гипоталамуса, продуцирующие кортиколиберин [10, 13]. Однако авторы считают, что в окончаниях аксонов этих нейронов выделяются не катехоламины, а другой нейромедиатор. По мнению Науменко [8], единственным последним адекватным передатчиком симпатических и парасимпатических стимулов на гипоталамические нейроны являются серотонинергические нейроны гипоталамуса, так как подведение к гипоталамусу катехоламинов, обычно активирующих ГНС, на фоне мезэнцефалических сечений мозга не вызывают активации.

Из приведенных данных следует, что развитие синдрома напряжения и адаптации осуществляется при комплексном воздействии моноаминов центральных и периферических систем на определенные нейрональные структуры, приводящем к формированию метаболических и сердечно-сосудистых реакций в ситуациях напряжения.

Однако пока окончательно не выяснены механизмы сочетанного действия нейромедиаторов на нейросекреторные нейроны, продуцирующие кортиколиберин, а также тонкие механизмы активации симпатико-адреналовой системы, осуществляемые медиаторами периферических нейронов (серотонином, катехоламинами).

Исследованиями нашей лаборатории выявлена активация ГНС при недостаточности функции ОЩЖ, запускаемая центральными механизмами и длительно поддерживаемая периферическими серотонин- и адренергическими структурами, а также мозговым веществом надпочечников. Об этом свидетельствует значительное повышение содержания серотонина, норадреналина и адреналина в крови на 4-й день гипопаратиреоза и повторное возрастание уровня серотонина и адреналина на 30-й день эксперимента [16].

В связи с этим представляло интерес выяснить, включается ли при этом механизм транссинаптической индукции биосинтеза катехоламинов, реализуемый через стимуляцию преганглионарных нервных волокон и чревной нерв и повышающий активность тирозингидроксилазы и содержание ДОФА в надпочечниках, либо активация биосинтеза имеет место лишь на этапе фенилэтаноламин-N-метилтрансферазы, конечной стадии образования адреналина, под действием кортикостерондов, поступающих с кровью из коркового вещества надпочечников. С этой целью изучено содержание предшественников биосинтеза катехоламинов—ДОФА и дофамина—в динамике развития гипопаратиреоза.

Материал и методика. Опыты ставили на белых крысах-самцах массой 120—150 г. ОЩЖ удаляли электрокоагуляцией, проводимой под эфирным наркозом. Содержание ДОФА и дофамина изучали у контрольных и паратиреопривных крыс на 4-, 14- и 30-й дни после удаления ОЩЖ. Сроки исследования выбраны экспериментальным путем на основании результатов предварительных опытов по определению содержания

общего Ca^{2+} в плазме крови фотометрическим методом и состояния животных после паратиреоидэктомии. Максимальное снижение концентрации Ca^{2+} в крови (53% к отношению к контролю) в сочетании с арестивностью, двигательными гиперкинезами и повышенной нервно-мышечной возбудимостью установлено на 4-е сутки, а на 14-, 30-е сутки выявлена тенденция к повышению уровня Ca^{2+} (20% по сравнению с 4-и сутками) и улучшению общего состояния животных (исчезают гиперкинезы, состояние судорожной готовности, животные более активны).

Содержание дофамина и ДОФА в надпочечниках определяли спектрофлуориметрическим методом в описании Матликой и соавт. [7]. Исследуемые вещества экстрагировали из надпочечников перхлорной кислотой и адсорбировали на окиси алюминия. Элюцию с окиси алюминия осуществляли в хроматографической колонке 0.25 М уксусной кислотой и 1 N соляной кислотой. Для дополнительной очистки дофамина его экстрагировали из уксуснокислого элюата кислым бутанолом, затем в присутствии изоктаина переводили в подвижную фазу. Окисление проводили триоксинидоловым методом, в качестве окислителя при определении дофамина применяли йод, а для ДОФА—железосинеродистый калий. Пики возбуждения и флуоресценции ДОФА соответствовали 360, 470 мкм, а дофамина—320 и 370 мкм.

Результаты и обсуждение. Результаты проведенных исследований представлены в таблице.

Содержание ДОФА и дофамина в надпочечниках при экспериментальном гипопаратиреозе, мкг/г ткани

	Контроль	4-й день	14-й день	30-й день
ДОФА р	22.27±0.62	29.95±2.84 <0.05	13.51±0.84 <0.001	21.77±1.22 = 0.05
Дофамин р	23.83±1.30	18.37±2.34 <0.05	13.28±1.56 <0.001	15.91±1.44 <0.01

По этим данным, на 4-й день после удаления ОЩЖ происходит достоверное повышение содержания ДОФА в надпочечниках. На 14-й день оно снижается, а на 30-й достигает контрольного уровня. Содержание дофамина снижается во все исследованные сроки, а наиболее значительные сдвиги наблюдаются на 14-й и 30-й дни.

Повышение содержания ДОФА на 4-й день после удаления ОЩЖ свидетельствует об активации тирозингидроксилазы, ключевого регуляторного фермента, лимитирующего скорость биосинтеза катехоламинов. Полагаем, что в основе активации лежат нейрональные влияния, исходящие из центральных (гипоталамических) структур и ведущие к стимуляции преганглионарных нервных волокон и через чревной нерв—к активации адезилатинклазы в хромаффинных клетках надпочечников.

Механизм транссинаптической индукции биосинтеза катехоламинов в хромаффинной ткани надпочечников изучен при холодовом стрессе, введении резерпина или холинолитиков. Агенты, индуцирующие активность тирозингидроксилазы, повышают величину соотношения цАМФ/цГМФ. Блокада никотиновых рецепторов или денервация надпочечников блокирует увеличение этого соотношения и подавляет индукцию фермента. Таким образом, трофические влияния на эффекторные клетки могут быть опосредованы включением циклических нуклеотидов как промоторов индукции тирозингидроксилазы [18].

Установлено, что центральные моноаминергические нейроны ингибируют активность мозгового вещества надпочечников и верхнего шейного симпатического ганглия; снижение активности центральных нейронов обеспечивает совместно с ГНС гормональные и метаболические сдвиги при эмоциональном стрессе [2, 12].

Обобщение результатов биохимического и морфофункционального исследований, проведенных в нашей лаборатории, приводит к заключению, что снижение содержания моноаминов в центральной нервной системе при гипопаратиреозе вызывает активацию ГНС, поддерживаемую периферическими моноаминами (серотонином и катехоламинами крови), а также нейрональную активацию мозгового вещества надпочечников, о чем свидетельствуют количественные сдвиги в содержании ДОФА.

Анализ механизмов активации ГНС при резерпинном стрессе, изученных при раздельном и сочетанном применении демедуляции и препарата-орнида, блокирующего выход норадреналина из окончаний адренергических нервов, выявил значение гормонального и медиаторного компонентов симпатико-адреналовой системы как альтернативных путей реализации активирующего ГНС действия резерпина [9].

Включение периферических серотонинергических и норадренергических нейронов в активацию ГНС при гипопаратиреозе в сочетании с транссинаптической индукцией лимитирующих биосинтез катехоламинов в надпочечниках ферментов, реализуемой через холинергическую медиацию и повышающей на конечном этапе содержание адреналина, создает возможность эффективной мобилизации всех звеньев (гормональной и медиаторной) структурно-метаболической перестройки при состояниях, связанных с дефицитом паратормона и Ca^{2+} в организме, важных компонентов запуска и развития синдрома напряжения. Гормональная активация конечного этапа биосинтеза катехоламинов (на стадии фенилэтианоламин-N-метилтрансферазы) установлена в ранних работах по изучению стресса [20].

Снижение содержания дофамина на 4-й день гипопаратиреоза, по-видимому, является следствием повышения активности дофамин- β -гидроксилазы, также подверженной транссинаптической индукции биосинтеза. Синхронное снижение содержания ДОФА и дофамина на 14-й день, сопровождающееся понижением уровня адреналина в крови [16], свидетельствует о понижении активности тирозингидроксилазы, обусловленном, по-видимому, снижением содержания тирозина в надпочечниках при активации биосинтеза катехоламинов. На 30-й день содержание ДОФА увеличивается до контрольного уровня, что указывает на повышение активности тирозингидроксилазы по сравнению с 14-м днем; при этом содержание дофамина остается сниженным. Комплексный анализ данных о содержании ДОФА, дофамина, норадреналина и адреналина в надпочечниках и содержании адреналина в крови на 4-й и 30-й дни экспериментального гипопаратиреоза, полученных в нашей лаборатории [16], а также литературных данных говорит о повышении активности тирозингидроксилазы и дофамин- β -гидроксилазы в эти сроки исследования.

По литературным данным, в начальный период после стрессорного воздействия (черепно-мозговая травма, плавание, гипертермия, пирогенальная лихорадка, комбинирование иммобилизации, эфирного наркоза и лапаротомии) происходит повышение содержания адреналина в крови без существенных изменений его уровня в надпочечниках (отсутствии изменений, либо незначительное понижение или повышение уровня). Отсутствие изменений в содержании адреналина в надпочечниках при значительном повышении его уровня в крови отражает активацию биосинтеза катехоламинов в надпочечниках, проявляющуюся в значительном поступлении адреналина в кровь. Исследование резерпинного стресса также показало усиление биосинтеза катехоламинов в надпочечниках, выразившееся в повышенной экскреции адреналина, не сопровождающейся увеличением содержания адреналина и норадреналина в надпочечниках [1]. В дальнейшем выводы авторов были подтверждены результатами изучения ферментативной активности.

Таким образом, активация биосинтеза катехоламинов в надпочечниках на 4-й день экспериментального гипопаратиреоза начинается на стадии, катализируемой тирозингидроксилазой, и проявляется в повышении содержания ДОФА, а также в значительном увеличении уровня адреналина в крови без существенных изменений в содержании адреналина и норадреналина в надпочечниках [16].

Интересно, что при различных видах воздействий, например, при травме, связанной со вскрытием синусного мозга у крыс, концентрация ДОФА в надпочечниках не изменяется, а уровень дофамина снижается до 25%. При этом содержание адреналина в надпочечниках уменьшается до 65%, а в крови нарастает до 150% [1]. При беге крыс в барабане, наоборот, содержание ДОФА снижается до 63%, а концентрация дофамина не изменяется [5]. Сделан вывод, что при разных видах стресса развиваются неравномерные изменения активности отдельных ферментов синтеза катехоламинов.

В регуляции функциональной активности мозгового слоя надпочечников при стрессе большое значение придается содержанию предшественника биосинтеза ДОФА—тирозина в надпочечниках. Считается, что в условиях усиления синтеза и секреции катехоламинов имеющееся в надпочечниках количество тирозина не может поддерживать скорость биосинтеза длительное время. В связи с этим потенциальные возможности синтеза катехоламинов не всегда могут реализоваться. Поэтому содержание катехоламинов в надпочечниках при стрессе в большей степени, чем в норме, зависит от скорости поступления тирозина из крови в железу [6]. Уменьшение содержания ДОФА и дофамина, выявленное нами, происходит синхронно с уменьшением содержания норадреналина, адреналина в надпочечниках и снижением уровня адреналина в крови [16], что мы связываем с уменьшением количества тирозина.

Изучение различных видов длительного стресса выявило явную направленность сдвигов. Так, через 45—90 мин после нанесения черепно-мозговой травмы содержание адреналина в надпочечниках уменьшается до 65%, при этом через 45 мин снижается также уровень норадре-

матлина, дофамина и ДОФА, а концентрация адреналина в крови через 90 мин увеличивается до 131%. При этом наблюдается также активация ферментных систем, участвующих в биосинтезе катехоламинов, а выявленные сдвиги объясняются недостатком тирозина при нормальном или повышенном выбросе адреналина в кровь [4].

Повышение содержания ДОФА в надпочечниках до контрольного уровня на 30-й день гипопаратиреоза связано, по-видимому, с усилением поступления тирозина в надпочечники, достаточным для активации биосинтетических процессов.

Это является из опытов, показавших повышение уровня адреналина в крови на 30-й день гипопаратиреоза, однако степень этой активации ниже, чем на 4-й день исследований, поскольку она завершается значительным снижением содержания адреналина в надпочечниках при выбросе адреналина в кровь [16].

Проведенные нами исследования выявили цикличность в протекании биосинтетических процессов в хромоаффинных клетках надпочечников, синтезирующих катехоламины, и энтерохромоаффинных клетках кишечника, вырабатывающих серотонин, характерную для стресса.

Физиологическая целесообразность значительной активации периферических серотонин- и катехоламинергических систем и повышенного поступления моноаминов в кровь при гипопаратиреозе состоит в поддержании активности ГГНС и создании нового уровня регуляции при дефиците паратгормона и Ca^{2+} в организме, обеспечиваемого повышенным притоком Ca^{2+} в клетку. Установлено повышение содержания Ca^{2+} в митохондриях печени, а также в адренокортикостцах паратиреопрививных крыс [3, 15]. В основе этого увеличения лежит, по-видимому, активация серотонином и катехоламинами крови аденилатциклазы и увеличение уровня внутриклеточного цАМФ, способствующего трансмембранному перемещению Ca^{2+} из плазмы в клетку, активирующего ферментные системы клетки и создающего оптимальный уровень метаболизма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бару А. М. Тр. IV Всесоюз. конф. по биохимии нервной системы. Тарту, 1969.
2. Белова Т. И., Голубева Е. Л., Судakov К. В. В кн.: Гомеостатическая функция *locus coeruleus* (синего пятна). М., 1980.
3. Довлатян Р. А. Автореф. канд. дисс., Тбилиси, 1986.
4. Кисиль Г. Н., Крижаконский Г. И., Матлина Э. Ш., Палова Г. С., Графова В. П. Докл. АН СССР, 204, 1, 249, 1972.
5. Милышева В. А., Матлина Э. Ш. Пробл. эндокринологии и гормональной терапии, 17, 6, 84, 1971.
6. Матлина Э. Ш. Успехи физиол. наук, 3, 1, 92, 1972.
7. Матлина Э. Ш., Шедрина Р. Н., Ширинян Э. А. В кн.: Новые методы исследования гормонов и других биологически активных веществ. М., 1969.
8. Науменко Е. В. В кн.: Центральная регуляция гипофизарно-надпочечникового комплекса. Л., 1971.
9. Расин М. С., Бару А. М., Данилин Н. Н., Браун Н. Я. Физиол. ж. СССР, 62, 7, 1021, 1971.

10. Рощин Я. А. В кн.: Физиология гисто-гематических барьеров. М., 1977.
11. Слепушкин В. Д., Лишников Ю. Б., Золосов Г. К., Прун Н. А. Успехи физиол. наук. 16, 4, 106, 1985.
12. Судяков К. В. В кн.: Системные механизмы эмоционального стресса. М., 1981.
13. Тонких А. В. Успехи физиол. наук. 7, 2, 3, 1976.
14. Худавердян Д. Н., Азгаладян Н. Р., Бакунц Г. Г. Биол. ж. Армении, 31, 8, 821, 1981.
15. Худавердян Д. Н., Арцруни Г. Г., Тер-Маркосян А. С., Овсепян Р. С. Биол. экзп. перим. биол. я мед., XCVII, 3, 257, 1984.
16. Худавердян Д. Н. и др. Отчет ОННР, инв. № 0286.0013127, Ереван, 1985.
17. Ganong W. F. Ann. N. Y. Acad. Sci., 297, 509, 1977.
18. Guidotti A., Costa E. Biochem Pharmacol., 26, 817, 1977.
19. Verme I., Telegdy G. Results In Neurochem., Neuroendocrinol., Neurophysiol. and Behaviour Neuropharmacol., Neuropathol., Cybern. Budapest, Acad. kiado, 1976.
20. Wurtman R., Axelrod J. J. Biol. Chem., 241, 2301, 1966.

Поступило 20.X.1986 г.

Биол. ж. Армении, т. 40, № 5, 373—377, 1987

УДК 591.1.05

КИНЕТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АРГИНАЗЫ ЖУКОВ ФАСОЛЕВОЙ ЗЕРНОВКИ *ACANTHOSCELIDES OBTECTUS* SAY.

Дж. Г. ГУКАСЯН, А. Х. АГАДЖАНИЯ, М. А. ДАВТЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии и физиологии
сравнительной и эволюционной биохимии

Аннотация. — Изучена аргиназа жуков фасольевой зерновки *Acanthoscelides obtectus* Say. Обнаружен один энзим аргиназы, который проявляет высокие свойства к субстрату. Лизин и пролин являются неконкурентными ингибиторами аргиназы, а орнитин и валин — конкурентными. Неконкурентный характер ингибирования аргиназы пролином свидетельствует о возможном функционировании ферментов в системе биосинтеза пролина из аргинина.

Անոտացիա. — Ուսումնասիրվել է լորտ ընդակերի *Acanthoscelides obtectus* Say բվեղների արգինազան. Հայտնաբերվել է արգինազայի մեկ իզոֆորմնետ, որը ավելի արագորակի նկատմամբ ցուցաբերում է մեծ խնամակցություն: Լիզինը և պրոլինը համարվում են բվեղների արգինազայի ոչ մրցակցային. իսկ օրնիթինը և վալինը՝ մրցակցային ընկճողներ: Նշված արգինազայի ոչ մրցակցային ընկճումը պարզվում է պրոլինի բուրնիթի պրոցեսում նրա հետարավոր մասնակցություն մասին:

Abstract.—The arginase of haricot beetle *Acanthoscelides obtectus* Say has been studied. An enzyme of arginase is discovered, which shows higher affinity to the substratum. Lysin and proline appear non-competitive inhibitors of arginase, whereas ornithine and valine-competitive. Non-competitive character of arginase inhibition by proline indicates the possible functioning of enzyme in the system of biosynthesis of proline from arginine.

Ключевые слова: аргиназа, фасольевая зерновка

Известно, что набор изоэнзимов резко меняется в метаморфозирующих насекомых. С этой точки зрения большое значение имеет изучение

сравнительно недавно открытого неуреотелического изоэнзима аргиназы. Изоэнзимы аргиназы подробно изучены в печени [8], в молочной железе крысы [2, 17] и у многих других уреотелических организмов. Изоэнзимы неуреотелических организмов, в частности насекомых, изучены недостаточно. Давтян и сотр. обнаружили три изоэнзима аргиназы у тутового шелкопряда, проявляющиеся в различной степени на разных стадиях развития организма [6].

Два изоэнзима указанного фермента обнаружены у личинок и один у куколок фасолевой зерновки. Сродство фермента к субстрату у куколок в 10 раз слабее, чем у личинок [1]. В данной работе приводятся результаты изучения изоэнзимного спектра и некоторых кинетических свойств аргиназы жуков фасолевой зерновки *Acanthoscelides obiectus* Say.

Материал и методика. Готовили 10%-ный гомогенат жуков на смеси, состоящей из 20 мМ KCl и 80 мМ глицинового буфера (pH 9,5), в стеклянном гомогенизаторе типа Потер-Эльвуджейма. Разделение белков проводили на колонке с сефадексом G-150, уравновешенной 0,05 М трис-HCl буфером. Объем нанесенного на колонку супернатанта составлял 3 мл. Аргиназную активность определяли методом Ратнер [15] путем инкубирования в присутствии 50 мкМ L-аргинина и 5 мкМ $MnCl_2$ с последующим определением мочевины методом Арчибалда [9].

Константу Михаэлиса (K_m) определяли графическим методом Лайнуивера-Бурка. Были использованы следующие концентрации субстрата: 12, 24, 40, 50, 70, 90 мкМ.

Константу ингибирования (K_i) определяли графическим методом Диксона, при этом аргинин применяли в концентрациях 40 и 80 мкМ. В качестве ингибиторов аргиназы использовали L-орнитин, L-лизин, L-пролин. Из разветвленных аминокислот использовали L-валин. Все аминокислоты-ингибиторы применяли в концентрациях 6, 12, 20, 30 мкМ.

Молекулярный вес аргиназы жуков определяли гельфильтрацией на сефадексе G-200 на основании элюционного графика белков с известными молекулярными весами (пепсин, гемоглобин, цитохромоксидаза, уреазы).

Результаты и обсуждение. Определение изоэнзимного спектра аргиназы жуков фасолевой зерновки в 1-й, на 5-, 8-, 12-й дни после вылуп-

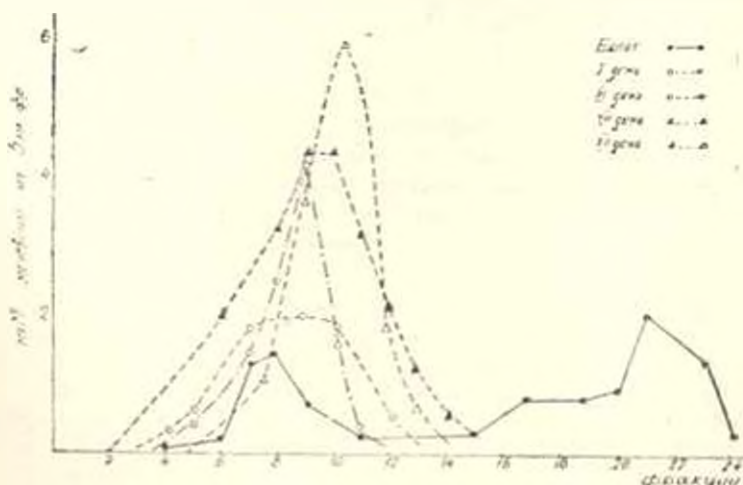


Рис. 1. Фракционирование экстракта аргиназы жуков фасолевой зерновки. Выведение выявляет один энзим аргиназы, фильтрующийся с высокомолекулярными белками на фоне выраженных двух пиков белка (рис. 1). Сопоставляя эти данные с результатами исследований, проведенных в на-

шей лаборатории на личинках и куколках фасолевой зерновки [1], можно сказать следующее: у личинок присутствуют все ферменты орнитинового цикла, и аргиназа представлена двумя изоэнзимами—высокомолекулярным и низкомолекулярным, а у куколок и жуков отсутствуют ферменты этого цикла, и аргиназа представлена лишь одним высокомолекулярным изоэнзимом. Очевидно, последний является неуреотелическим изоэнзимом и, возможно, обеспечивает процесс биосинтеза пролина из аргинина. При этом выявляется четкая корреляция между активностью указанного изоэнзима аргиназы и процессом биосинтеза пролина из орнитина на различных этапах онтогенеза. В частности, эти показатели наиболее выражены у личинок и сравнительно слабее—у куколок и имаго.

Нами определены K_m единственного энзима аргиназы жуков (табл. 1).

Таблица 1. Константы Михаэлиса аргиназы жуков фасолевой зерновки

Дни вылупления	K_m , мМ	Дни вылупления	K_m , мМ
1	10.0	8	20.2
3	12.1	12	22.2

Данные показывают, что сродство фермента к субстрату уменьшается с возрастом жуков. Это наводит на мысль о том, что высокомолекулярный изоэнзим неоднороден и в процессе развития компоненты проявляют неодинаковую активность. Это предположение нуждается в более углубленном исследовании. Результаты, однако, позволяют и на данном этапе исследований утверждать, что по сродству к субстрату аргиназа жуков фасолевой зерновки близка к таковой жирового тела шелковичной моли [16], дрожжей [11], аэробных инфузорий [7] и др. Основываясь на этих данных, можно сказать, что утверждение Мора и сотр. [14] о более низком сродстве неуреотелической аргиназы к субстрату, по сравнению с уреотелической, очевидно, неправомерно.

Для установления характера и константы ингибирования отдельных изоэнзимов, полученных путем гельфильтрации, мы выбрали орнитин, лизин, валин, пролин (табл. 2, рис. 2).

Таблица 2. Характер и константы ингибирования аргиназы жуков фасолевой зерновки

Аминокислоты	K_i , мМ	Характер ингибирования
L—орн	12.2	Конкурентный
L—лиз	1.8	Неконкурентный
L—вал	4.1	Конкурентный
L—про	16.4	Неконкурентный

Как видно из приведенных данных, лиз и про являются неконкурентными ингибиторами аргиназы жуков, а орн и вал—конкурентными. Не-

конкурентное ингибирование аргиназы лизином — редко встречающееся явление. Подобный характер ингибирования установлен также в отношении II изоэнзима аргиназы личинок фасолевой зерновки [1].

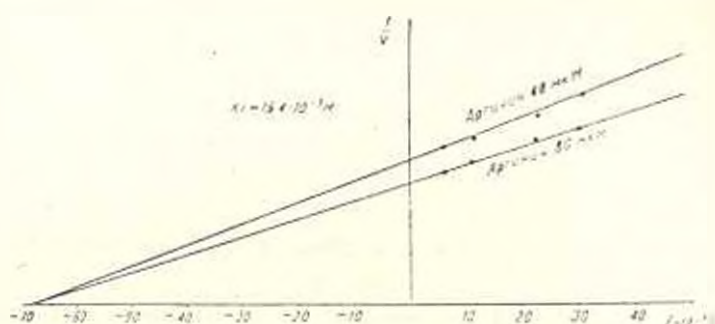


Рис. 2. Ингибирующее влияние L-пролина на аргиназу жуков фасолевой зерновки (12-й день развития)

Особый интерес представляет неконкурентное ингибирование аргиназы жуков пролином, выявленное также у аэробных инфузорий [7], в молочной железе беременных и лактирующих крыс [4], у дождевого червя [5]. Неконкурентный характер ингибирования пролином доказан в отношении I изоэнзима личинок и единственного изоэнзима куколок, тогда как II изоэнзим личинок фасолевой зерновки ингибируется конкурентно. Неконкурентный характер ингибирования аргиназы жуков фасолевой зерновки пролином, по-видимому, свидетельствует о функционировании фермента в системе биосинтеза пролина.



Рис. 3. Калибровочная кривая определения молекулярного веса аргиназы жуков фасолевой зерновки.

Следует добавить также, что четкая положительная корреляция выявлена нами ранее между аргиназой и ферментами биосинтеза пролина на уровне целого гомогената в процессе развития жуков [3].

K_i для L-лизина близка к таковой аргиназы дождевого червя — 0,87–1,12 мМ [5], печени быка — 1,53 мМ [10], печени овцы — 2,2 мМ [12], для L-пролина — к константе ингибирования аргиназы дождевого червя — 14,5–15,3 мМ [5], опухолей молочной железы крыс — 20,1 мМ [13], I изоэнзима личинок — 17,42 мМ и единственного энзима куколок

фасолевой зерновки—18,7 мМ. Примечательно, что величины K_i I изоэнзима аргиназы на всех стадиях метаморфоза фасолевой зерновки поразительно схожи. А что касается K_i II изоэнзима личинок для пролина, то абсолютное значение ее намного ниже такового I изоэнзима. Именно этот низкомолекулярный энзим отсутствует как у куколок, так и у жуков. По-видимому, он и функционирует в ориитиновом цикле личиночной стадии фасолевой зерновки [1].

Нами определен и молекулярный вес аргиназы жуков фасолевой зерновки, который оказался равным 257000 (рис. 3). Таким образом, молекулярный вес этой аргиназы близок к аналогичному показателю аргиназ многих неуротелических организмов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян А. Х. Биолог. ж. Армении, 37, 1, 1984.
2. Агаджанян А. Х., Арутюнян Л. М. Биолог. ж. Армении, 32, 12, 1979.
3. Агаджанян А. Х., Арутюнян Л. М., Гикасян Дж. Г. Биолог. ж. Армении, 33, 6, 1980.
4. Арутюнян Л. М., Агаджанян А. Х. Биолог. ж. Армении, 34, 2, 1981.
5. Гаспарян Х. Г. Мол. научн. работник, 36, 2, Ереван, 1982.
6. Давтян М. А., Арутюнян Л. Г., Хачатрян М. А. Биолог. ж. Армении, 29, 7, 1976.
7. Заробян Т. Я., Агаджанян А. Х., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 29, 6, 1976.
8. Трапезникова С. С., Навасардянц Д. Г., Давтян М. А. Биохимия, 17, 12, 1982.
9. Archibald R. M. Biol. Chem., 156, 121, 1944.
10. Campbell J. W. Comp. Biochem. Physiol., 18, 179, 1966.
11. Chan P. Y., Cassius E. A. Plant. Cell. Physiol., 14, 641, 1973.
12. Kesava Rao R. V., Reddy S. R. R., Swami R. S. Int. J. Biochem., 4, 62, 1973.
13. Kesava Rao R. V., Pai S. R., Bapat C. V. Br. J. Cancer, 30, 129, 1974.
14. Mura J., Tarrab R., Martinelli J., Suberon G. Biochem. J., 96, 588, 1965.
15. Ratner S., Morrel H., Garavaiho E. Arch. Biochem. Biophys., 91, 280, 1950.
16. Reddy S. R., Campbell J. W. Biochem. J., 115, 495, 1969.
17. Yip M. C. M., Kins W. E. Biochem. J., 127, 848, 1972.

Поступило 11.11 1986 г.

Биолог. ж. Армении, т. 40, № 5, 377—382, 1987 УДК 616.45—001.1/3:612.2+577.163.2

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОД ВЛИЯНИЕМ НИЗКОЧАСТОТНЫХ АКУСТИЧЕСКИХ КОЛЕБАНИЙ

М. М. МЕЛКОНЯН, Г. Г. ЗАКУТОВ, Е. А. МЕЛНИК-МЛАДША,
А. Б. АФРИКЯН, В. Г. МХИТАРЯН

Ереванский государственный медицинский институт

Аннотация — Изучено влияние низкочастотных акустических колебаний на процессы перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантной системы в мозге, печени и сердце. Показала двухфазность действия α -токоферала.

Отмечается рост фоновых липидных перекисей, подавление процессов ферментативного ПОЛ, фазность сдвигов в активности ферментов глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, супероксиддисмутазы и липидо-6-фосфатдегидрогеназы. Интенсивность и направленность сдвигов зависят от длительности воздействия и вида ткани.

Անոսացիա — Ուսումնասիրվել է ցածր հաճախականության հաշվային տատանումների ազդեցությունը վարդի, ուղեղի և սրտի ինչիդային գերօքսիդացման պրոցեսների և ճակատօքսիդանտային համակարգի վրա: Բացահայտվել են 2-տոկոֆերոլի քանակի ֆազային փոփոխություններ, ինչիդային գերօքսիդների աճ, ֆերմենտատիվ գերօքսիդացման պրոցեսի ճնշում: Նկատվել են դիտաֆերոքսիդորոլիդացա, ցիտոսթինոնդոկոտացա, սուպերօքսիդիդիմոտացա և դիլուկոդ-6-ֆոսֆատոլեհիդրոլեհացա ֆերմենտների ակտիվության տեղաշարժեր, որոնց ինտենսիվությունը և ուղիքայինը կախված է ինչպես հետազոտվող հյուսվածքի տեսակից, այնպես էլ ազդակի ազդման ժամկետից:

Abstract — The extremely low frequency acoustic oscillations influence on the lipid peroxidation processes and antioxidant system of brain, liver and heart. The biphasic changes of α -tocopherol are established.

The increase of the phone of of lipid peroxides, the suppression of NADPH-dependent lipid peroxidation with the phasic changes in the glutathionperoxidase, glutathionreductase, superoxidismutase and glucose-6 phosphatedehydrogenase are noted. The changes intensity and direction depend both on the action term and the type of the studied tissue.

Ключевые слова. низкочастотные акустические колебания, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система.

В настоящее время внимание исследователей привлекает изучение воздействия на живой организм низкочастотных акустических колебаний (НАК) высокой интенсивности, характерных для промышленного производства и интенсивного транспорта [9, 10]. Однако до сих пор нет единого мнения о характере воздействия НАК на живой организм и продолжает оставаться спорным вопрос о допустимых уровнях и длительности их воздействия [11]. В связи с этим важное значение приобретает изучение биохимических сдвигов в органах и тканях организма в условиях воздействия НАК. В изстоящей работе представлены результаты изучения процессов ПОЛ и состояния антиоксидантной системы в мозге, печени и сердце белых крыс при длительном воздействии НАК.

Материал и методы. Эксперименты ставили на белых крысах-самках массой 150—200 г, содержащихся на стандартном рационе. Животные были разделены на 6 групп: одна контрольная и 5 опытных, подвергающихся воздействию НАК уровнем 103 дБ в диапазоне частот 4—8000 Гц, с максимальной энергией в области 16 Гц. Сроки воздействия 2, 3, 4, 8, 12 недель (соответственно 2-, 3-, 4-, 5- и 6-я группы) круглоосуточно.

Животных забивали декапитацией. Ткани перфузировали 0,154 М раствором KCl. На исследование брали 10%-ные гомогенаты мозга, сердца и печени. Содержания фослипидных перекисей (ФЛП) определяли по описанному методу [14], уровень аскорбатзависимого (неферментативного) — АЗП и НАДФН-зависимого (ферментативного) — НЗП ПОЛ — по известному методу [1]. Содержание α -токоферола (ТФ) определяли флуориметрически [12]; активность глутатионпероксидазы (ГП), глутатионредуктазы (ГР) и глюкозе-6 фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) — по методам, описанным в [2, 16], с некоторыми модификациями; содержание белка — по Лоури [13].

Результаты и обсуждение. Результаты экспериментов свидетельствуют об органоспецифичности действия НАК. В мозге отмечается повышение уровня ФЛП, наиболее выраженное через 8 недель воздействия. Динамика изменений этого показателя в сердце прямо противоположна наблюдаемому в мозге: в течение всего эксперимента, за исклю-

чением 12-недельного воздействия, содержание ФЛП значительно ниже контроля. В печени выраженный рост ФЛП через 4 недели воздействия сменяется резким снижением их уровня через 8 недель. Интересно отметить, что в сердце и печени крыс при 8- и 12-недельном воздействии уровень ФЛП нормализуется.

Несомненный интерес представляет, на наш взгляд, повышение уровня ТФ во всех исследуемых тканях у животных 2-й и 3-й групп (рис. 1). Наиболее выраженные изменения отмечаются в сердце (+131%).

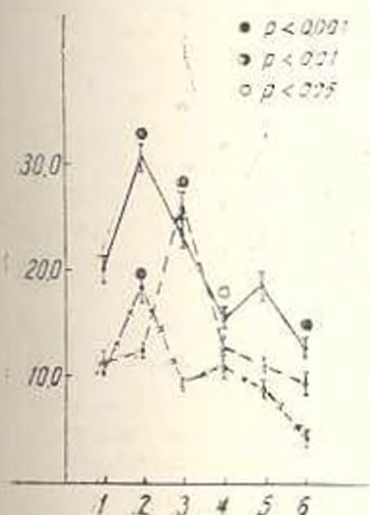


Рис. 1. Уровень ТФ в мозге, печени и сердце крыс-самцов в условиях воздействия НАК (мкг на г/кг). По оси абсцисс: 1—контроль, 2—2-недельное, 3—3-нед., 4—4-нед., 5—8-нед., 6—12-нед. воздействие. На остальных рисунках обозначения те же.

Однако 12-недельное пребывание животных в условиях эксперимента приводит к нормализации уровня ТФ в сердце и снижению его в мозге (—37%) и печени (—60%), что, по-видимому, является результатом воздействия этого антиоксиданта в реакции свободно-радикального окисления. Интенсивность АЗП возрастает во всех исследуемых тканях у животных 2-й группы, особенно в сердце. Пребывание животных в условиях эксперимента больше 3 недель приводит к нормализации АЗП в мозге, сердце и печени, однако к концу эксперимента он подавлен в мозге (на 20%), печени (на 44%), сердце (на 73%). Отмечается односторонняя направленность сдвигов в содержании ТФ и АЗП.

Характер изменений НЗП несколько иной: выявлено угнетение процессов ферментативного ПОЛ во всех тканях в течение всего эксперимента. Процесс этот наиболее выражен в сердце. Различия в процессах АЗП и НЗП ПОЛ могут быть обусловлены как нарушением сбалансированности и антиоксидантной системе, представленной тканевыми водо- и жирорастворимыми антиоксидантами и каскадом ферментов, осуществляющих обезвреживание активных форм кислорода, так и изменениями липидного, в частности жирнокислотного, состава клеточных компонентов. Известно, что субстратами неферментативного ПОЛ в тканях млекопитающих могут быть любые ненасыщенные жирные кислоты (НЖК), в том числе и моноеновые, тогда как ферментативного — только полиненасыщенные ЖК, содержащие 1,4 дис, дис-пентадиеновые группировки. Важное значение в этом аспекте приобретает также то, что субстратом ферментативного ПОЛ служат полиненасыщенные ЖК, ло-

кализованные в строго определенных локусах мембраны, и то время как в процессы АЗП могут вовлекаться, вероятно, любые мембранные полиненасыщенные ЖК [4].

Активность СОД, ГП, ГР и Г-б-ФДГ подавлена в мозге животных 2-й группы (рис. 2 а, б; 3 а, б). Однако у последующих экспериментальных групп динамика изменения активности этих ферментов отлича-

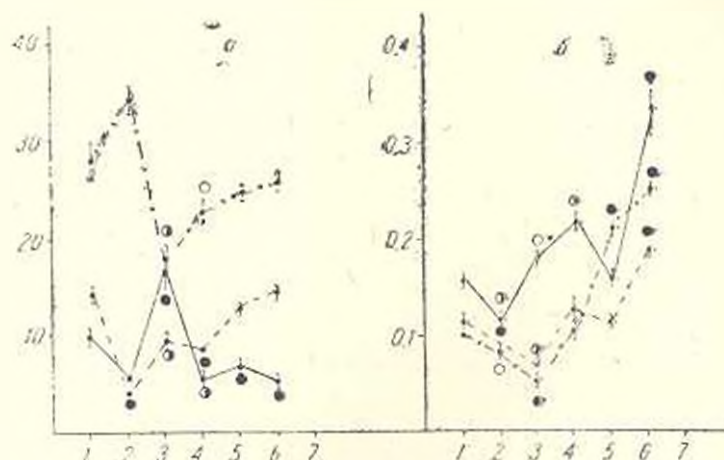


Рис. 2. Активность СОД (ед. акт. на мг белка)—а и ГП (нмоль глутатиона на мг белка)—б в мозге, печени и сердце белых крыс в условиях воздействия НАК.

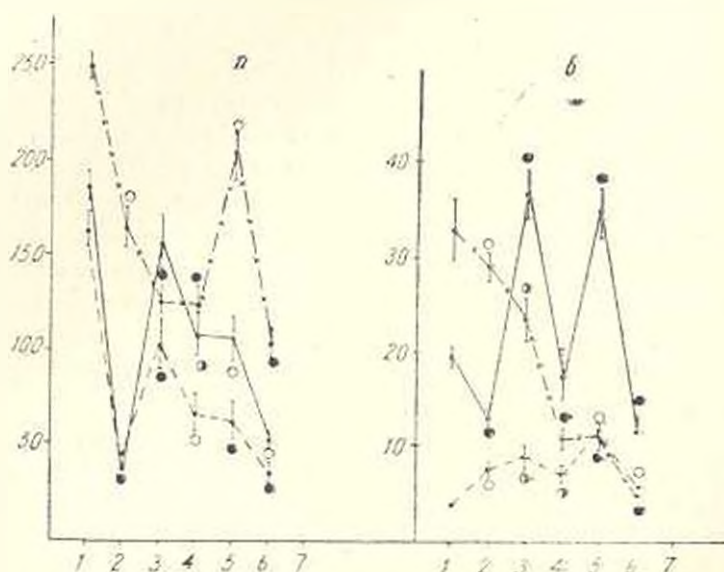


Рис. 3. Активность ГР (нмоль НАДФН на мг белка)—а и Г-б-ФДГ (нмоль НАДФН на мг белка)—б в мозге, печени и сердце белых крыс-самцов в условиях воздействия НАК.

ется: активность ГП и Г-б-ФДГ нарастает в ходе эксперимента, достигая максимума у животных 6-й группы, в то время как активность ГР и СОД подавлена почти у всех групп животных. Исключение составляет СОД животных 3-й группы (рис. 2а).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о значительных изменениях в процессах ПОЛ в тканях, что может быть следствием реализации неспецифической стрессовой реакции, развивающейся в условиях воздействия НАК. Однако, на наш взгляд, важный вклад в развитие наблюдаемых изменений вносит непосредственное прямое влияние НАК на организм в целом. Основанием для подобного предположения служат данные Маргулиса и др. о развитии свободнорадикальных реакций в модельной системе под влиянием акустических колебаний частотой 7—200 Гц [5].

Анализ полученных данных может служить экспериментальным подтверждением благоприятного воздействия НАК на органы и ткани при относительно непродолжительных воздействиях, определенной интенсивности и определенных частотных характеристиках. При этом отмечается значительное обогащение сердца, мозга и печени ТФ у животных 2—3 групп, что, возможно, лежит в основе положительного эффекта НАК. В мозге к концу эксперимента уровень ТФ и интенсивность индуцированных процессов ПОЛ приближается к норме.

Однако длительное воздействие НАК приводит к дисбалансу в антиоксидантной ферментной системе ряда органов, снижению уровня ТФ в тканях, что свидетельствует об истощении антиоксидантной системы, являющейся важным звеном в цепи регуляторных механизмов. При этом следует отметить органоспецифичность и выраженности изменений. По-видимому, в основе неблагоприятного эффекта длительного воздействия НАК, о чем свидетельствуют многочисленные литературные данные [3, 8, 11], лежит именно этот механизм. В доступной нам литературе приводятся данные, касающиеся более высоких уровней НАК (115—140 Б) и во всех случаях длительного воздействия, при этом отмечаются грубые морфологические изменения в тканях и значительные изменения в биохимических параметрах: выявлена зависимость не только от уровня НАК, но и от действующей частоты. Интересно отметить, что в условиях воздействия НАК значительно меняется уровень аскорбиновой кислоты, одного из важных тканевых антиоксидантов, в мозге, надпочечниках и печени. Разнонаправленность сдвига объясняется не только изменением частоты и времени воздействия, но и разной «заинтересованностью» органов к действующим частотам и степени выраженности вызванных изменений [8]. Отмечаются также выраженные сдвиги в микроэлементном составе органов и тканей, в том числе железа и меди, играющих важную роль в процессах развития ПОЛ и детоксикации активных форм кислорода [10].

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об активном участии процессов ПОЛ и антиоксидантной системы в реализации воздействия НАК на живой организм. Интенсивность и направленность отмечаемых изменений зависят от длительности воздействия НАК и вида исследуемой ткани.

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимирова Ю. А., Архипов А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.

2. Захарин Ю. Л. Лабор. дело, 6, 327, 1967.
3. Карпова Н. Н., Малышев Э. Н. Низкочастотные акустические колебания на производстве. М., 1981.
4. Ланкин В. Э. Укр. биохим. ж., 56, 3, 317, 1984.
5. Маргулис М. А., Грудель Л. М. ДАН СССР, 265, 4, 914, 1982.
6. Мелконян М. М., Аракелян А. Г., Мхитарян В. Г. Биолог. ж. Армении, 36, 10, 518, 1983.
7. Мелконян М. А., Мелик-Агаева Е. А., Мхитарян В. Г., Аракелян А. Г. Биолог. ж. Армении, 37, 8, 668, 1984.
8. Пономарева В. Л., Куряева В. П., Васильева Л. А., Шайник Е. Ю., Дасаева А. Л., Демюкидова Н. К., Шмелева Е. В. Шум, вибрация и борьба с ними на производстве. Тез. респ. конф., 204, Л., 1979.
9. Санступов Н. Г., Алексеев С. В., Бухарин Е. А., Кадыкина Е. Н., Калинин Л. Н., Алексеева Л. Н. Тр. Ленинград. сан-гиг. ин-та «Шум и вибрация», 35, 114, 1976.
10. Швайко Н. И., Казарин И. П., Михайлюк Н. А., Мотузков Н. Н. Гигиена и санитария, 9, 91, 1984.
11. Broner N. Journal of Sound and Vibration, 58, 4, 483, 1978.
12. Duggan D. E. Arch. Biochem. Biophys., 64, 116, 1959.
13. Lowry O. H., Rosenbrough N. I., Farr A. I., Randall R. I. J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.
14. Ioshitoka T., Kawada K., Shimada T., Mori M. Amer. J. Obstet. Gynecol., 135, 672, 1979.
15. Nishikimi M., Rao N. A., Jagi K. Biochem. Biophys. Res. Commun., 45, 3, 849, 1972.
16. Pinto R. E., Bertley W. Biochem. J., 112, 109, 1969.

Поступило 27.11 1986 г.

Биолог. ж. Армении, т. 40, № 5, 382-386, 1987

УДК 612.014.4145

УГЛЕВОДНЫЙ ОБМЕН У КРОЛИКОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ВИБРАЦИИ И ШУМА

С. М. МИНАСЯН, И. И. АДАМЯН, Л. А. ПЕТРОСЯН

Ереванский государственный университет, кафедра физиологии ч/ж

Аннотация — При многократном воздействии вибрации и шума выявлено снижение содержания сахара в крови и гликотена печени кроликов, изменение ответных биохимических реакции. Отмечалось удлинение времени гликемической реакции на сахарную нагрузку, увеличение постгликемического коэффициента.

Խնամարար — Վերրացրիսի և աղմուկի բազմամիակ ազդեցության պայմաններում դիտվել է արյան շաքարի և լյարդի գլիկոգենի բանալի նվազում, կենսաքիմիական ցուցանիշների պատասխան ունեցրիսի փոփոխություն ֆրիգլիկան գործոնների տեսակ ազդեցության նաեղեպ: Խրամամանակ շաքարալի և ծանրաբեռնվածության պայմաններում դիտվել է գլիկեմիկ ռեակցիայի ժամանակի երկարում, ևսգլիկեմիկ գործակցի մեծացում:

Abstract — During multiple action of vibration and noise decrease of sugar content in blood and liver glycogen, change of response reactions of biochemical parameters on testing action of vibration and noise have been established. Increase of time of glyceimic reaction on sugar charge and that of postglyceimic coefficient is observed as well.

За последние три десятилетия в учении о действии вибрации на организм достигнуты значительные успехи. Несмотря на это, ряд вопросов, касающихся главным образом выяснения механизмов нарушения обменных процессов в организме при действии указанных факторов, окончательно не решен.

Целью настоящего исследования явилось изучение углеводного обмена кроликов при воздействии вибрации и шума.

Материал и методика. Экспериментальные исследования в трех сериях проводили на кроликах массой 2,5–3,5 кг. У подопытных животных определяли сахар крови (по Хагедорпу-Иенсену) и гликоген печени (антроновым методом Морриса). Для выяснения регуляторных механизмов и углеводной функции печени изучали гликемическую реакцию при сахарной нагрузке. Кровь исследовали до, сразу после воздействия физических факторов, через 15, 30 мин и далее через каждые 30 мин в течение 3 часов. В первой серии опытов биохимические показатели исследовали при изолированном воздействии шума, во второй — при вибрации, в третьей — при комбинированном воздействии вибрации и шума по 3 ч ежедневно при 6-дневной неделе в течение 3-х месяцев.

Животных подвергали вибрации на вибротеле ST-300 (частотой 60 Гц, амплитудой 0,4 мм) и воздействию широкополосного шума уровнем 88 дБА с максимальной акустической энергией в области средних и высоких частот.

Изменение содержания сахара и гликемических кривых в крови кроликов изучали после однократного, 10-, 20-, 30-, 60- и 90-кратного воздействия общей вибрации и шума. Гликоген печени определяли до и после 3-месячного воздействия физических факторов.

Результаты и обсуждение. В первой серии опытов при однократном действии шума наблюдалось некоторое увеличение содержания сахара крови (табл. 1). В дальнейшем отмечалось постепенное снижение его.

Таблица 1. Изменение содержания сахара в крови (мг%) кроликов при тестированном воздействии вибрации и шума

Серия	Дни исследования	Фон M ± m	Время, мин						
			сразу	15	30	60	90	120	150
I	Контроль	105 ± 3,45	126 ± 4,84	136 ± 4,83	140 ± 5,60	138 ± 8,65	126 ± 4,44	110 ± 3,12	107 ± 5,65
	90-й	95 ± 3,15	97 ± 3,01	90 ± 3,79	95 ± 5,14	80 ± 5,63	85 ± 4,28	83 ± 3,85	90 ± 5,90
II	Контроль	109 ± 3,07	131 ± 4,12	143 ± 7,62	159 ± 5,63	145 ± 7,12	110 ± 6,54	112 ± 4,23	107 ± 2,08
	90-й	90 ± 2,43	124 ± 3,15	125 ± 4,38	117 ± 3,45	106 ± 3,96	97 ± 5,10	90 ± 2,68	86 ± 4,75
III	Контроль	110 ± 7,65	144 ± 4,45	174 ± 3,78	194 ± 10,65	178 ± 8,09	150 ± 6,54	135 ± 2,77	115 ± 3,15
	90-й	85 ± 4,12	85 ± 4,65	95 ± 5,73	85 ± 3,43	100 ± 4,98	90 ± 5,13	92 ± 4,05	85 ± 2,25

а на 150-й мин — восстановление исходного уровня. С первого по 20-й день при 3-часовом ежедневном воздействии шума содержание сахара в крови животных колебалось в пределах фоновых величин. На 30-й день оно достоверно уменьшалось. Отмеченная закономерность была выявлена и после 3-месячного воздействия шума. При этом содержа-

Таблица 2. Изменение содержания сахара в крови (в мг%) кроликов при сахарной нагрузке после 30-дневного воздействия вибрации и шума

Серия	Фон	Время, мин							
		10	20	30	60	90	120	150	180
Контроль	103± 3.13	124± 4.13	131± 5.18	157± 6.83	139± 7.06	124± 3.15	104± 2.63	103± 2.84	
I	110± 3.80	117± 2.35	129± 5.01	150± 8.14	154± 8.43	135± 4.69	177± 8.75	150± 5.53	145± 5.65
II	126± 4.46	124± 4.25	131± 4.85	141± 5.72	178± 9.13	145± 5.01	177± 5.45	135± 6.08	137± 5.15
III	142± 5.27	106± 4.91	129± 4.15	124± 4.15	165± 9.15	165± 7.18	190± 6.43	173± 6.84	175± 7.45

ние сахара в крови кроликов снижалось до 95 мг%. Таким образом, тестированное (3-часовое) шумовое воздействие вызывает гипогликемическую реакцию.

Об изменении характера гликемических кривых мы судили по исходному уровню сахара, времени его максимального подъема, гипергликемическому коэффициенту, времени возвращения сахарной кривой к исходному уровню и постгликемическому коэффициенту.

У нормальных кроликов (табл. 2) гликемическая кривая характеризуется повышением уровня сахара через 30 мин после введения глюкозы. Затем она постепенно снижается до исходного уровня и полностью нормализуется через 2 часа. После 30-дневного воздействия шума у 50% животных (I серия) максимальный гипергликемический эффект отмечается на 120-й мин, а нормализация—на 180-й минуте.

Гипергликемический коэффициент находился в пределах нормы (1,4—1,5). У 30% животных отмечались фазовые изменения в содержании сахара, характеризующиеся появлением второго пика на 120-й минуте. Через 3 ч после введения глюкозы они еще не возвращались к норме. В связи с этим постгликемический коэффициент был выше нормальной величины и составлял 1,2—1,3.

Подобные изменения наблюдались и при 3-месячном воздействии шума. При этом гипергликемический коэффициент в большинстве случаев соответствовал нормальным величинам.

Во второй серии опытов однократное воздействие вибрации вызвало выраженный гипергликемический эффект, который достигал максимума на 30-й минуте поствибрационного периода, превышая исходный уровень на 45% (табл. 1). При длительном воздействии вибрации (от 10 до 30 дней) исходный уровень сахара в крови достоверным изменениям не подвергался, однако у некоторых животных наблюдалась тенденция к его увеличению. На 2-м и 3-м месяцах исследования у подопытных кроликов отмечалось снижение содержания сахара в крови (табл. 3), на 90-й день после тестированного воздействия вибрации его количество увеличилось всего на 38%, а второй подъем за счет гуморальной фазы не отмечался.

Таблица 3. Изменение содержания сахара в крови (в мг%) кроликов в динамике трехмесячного воздействия вибрации и шума

Серия	Контроль	Дни исследований					
		10	20	30	60	75	90
I	105±4.62	115±3.05	107±2.65	110±3.51	95±2.15	92±2.85	95±3.15
II	109±2.06	115±2.45	120±2.64	126±4.80	96±3.67	95±2.18	90±2.43
III	110±3.08	150±5.00	146±6.28	142±4.53	115±5.12	85±5.11	85±4.12

У большинства животных увеличение содержания сахара отмечалось через 60 и 120 мин после введения глюкозы. Гипергликемический коэффициент за редким исключением находился в пределах нормы, а постгликемический составлял 0,8—0,9 (табл. 2). При 90-дневном воздействии вибрации его значение превышало норму и составляло 1,7—1,8.

В третьей серии опытов при изучении одностороннего воздействия вибрации и шума наблюдался выраженный гипергликемический эффект. На 30-й мин поствибрационно-шумового воздействия содержание сахара в крови повышалось на 76% и сохранялось на этом уровне до 60-й минуты (табл. 1). При многократном воздействии физических факторов от 10 до 30 дней содержание сахара повышалось. На 30-й день гипергликемические подъемы отмечались на 60-й и 120-й минутах (табл. 2).

После 3-месячного воздействия физических факторов отмечалось достоверное снижение содержания сахара в крови, удлинение времени гликемической реакции с максимумом сахарной кривой на 60-й минуте, что свидетельствует об ослаблении гликогенообразовательной функции печени. На 30-й день комбинированного воздействия постгликемический коэффициент составлял 1,2, а на 90-й—1,3.

Содержание гликогена определялось до и после 90-дневного воздействия вибрации и шума. У нитактих кроликов оно составляло 1917 ± 183 мг%, при воздействии изолированного шума на 90-й день снижалось до 1725 ± 134 мг%, при вибрации—до 1700 ± 165 мг%, а при комбинированном воздействии вибрации и шума—до 1623 ± 174 мг%.

Таким образом, многократное действие вибрации и шума вызывает снижение содержания сахара в крови и гликогена печени, удлинение времени гликемической реакции на нагрузку, двугорбые подъемы с максимальным нарастанием на 60-й и 120-й минутах, увеличение постгликемических коэффициентов.

В наших экспериментах гипергликемический эффект изолированного однократного воздействия вибрации и шума можно объяснить активацией симпато-адреналовой системы. Об этом свидетельствуют и литературные данные [2, 5], согласно которым в компенсаторно-приспособительных реакциях организма, направленных на поддержание гомеостаза, большое значение имеет симпато-адреналовая система. По данным ряда авторов [1, 3], вибрация оказывает также влияние и на гипоталамус—гипофиз—кора—надпочечниковую систему, в регуляции

функций которой большая роль принадлежит биогенным аминам [4, 6]. Показано [5], что при вибрационном воздействии возрастает количество адреналина и норадреналина. Вибрация как мощный фактор с данными параметрами способствует выбросу адреналина, который и усиливает гликогенолиз печени, благодаря активации фосфоорилазы.

В наших исследованиях комбинированное действие вибрации и шума вызывало выраженную гипергликемию по сравнению с тем же явлением при их изолированном действии. Механизм этого явления, очевидно, связан с суммацией действия двух факторов. Их влияние на сахар крови осуществляется непосредственно активацией надпочечников через стимуляцию симпатической нервной системы и гуморальным путем. В динамике воздействия физических факторов (при изолированном и комбинированном влиянии) возникающая гипергликемия обусловлена, с одной стороны, нарушением нейро-эндокринной регуляции, с другой — ферментативной гликогенолитической функцией печени. С этой точки зрения результаты наших исследований, касающиеся изменения содержания гликогена, согласуются с литературными данными [7].

Одной из возможных причин снижения гликогена печени может быть нарушение ферментативных систем или усиление процесса гликогенолиза. Не исключается также возможность функциональной недостаточности инсулярного аппарата поджелудочной железы, вследствие чего могут уменьшаться запасы гликогена печени. Об этом свидетельствуют и изменения при сахарной нагрузке.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бочарев Г. Н., Синицина А. Д., Ефимов И. Н. Гигиена и санитария, 5, 106—108, 1970.
2. Вейн А. М., Метель Э. Ш., Мурадханов М. А. Гигиена труда и проф. заболеваний, 10, 12—16, 1971.
3. Лунин В. Н. Гигиена труда и проф. заболеваний, 6, 14—18, 1966.
4. Лунин А. В. Вопросы санитарной охраны внешней среды, гигиены труда и проф. заболеваний, 75—76, Л., 1970.
5. Макаренко Н. А. Врач. дело, 1, 94—97, 1963.
6. Мурадханов М. А. Биогенные амины в клинике, 201—208, М., 1970.
7. Якубович Т. Г. Архив анатомии, гистологии и эмбриологии, 12, 55—58, 1967.

Поступило 17 IV. 1986 г.

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН МОЗГА КУР ПРИ ИНКУБАЦИИ ЯИЦ В УСЛОВИЯХ ПЕРЕМЕННЫХ ТЕМПЕРАТУР

А. А. СИМОНЯН, Р. А. СТЕПАНЯН, Е. Б. МЕСРОПЯН

Институт биохимии АН Армянской ССР, Ереван

Аннотация — Исследовали влияние переменных температур на интенсивность дыхания и окислительного фосфорилирования, а также на изменение активности АТФазы в митохондриях мозга 15- и 20-дневных эмбрионов и 5-дневных цыплят. Показано разобщение окислительного фосфорилирования и повышение активности Mg-АТФазы.

Անոտացիա — Հետազոտել ենք փոփոխական չեղմանտեմպերատուրաների ազդեցությունը շնչառության և օքսիդացիոն ֆոսֆորիլացման ինտենսիվությանը, ինչպես նաև ԱՏՖազայի ակտիվության փոփոխությունները զրա 15 և 20 օրական սաղմերի և 5 օրական ճտերի ուղեղից անջատված միտոքոնդրիաներում: Փոփոխական չեղմանտեմպերատուրաների ազդեցությամբ դիտվում է օքսիդացիոն ֆոսֆորիլացման պրոցեսի փնջերում և մագնեդիում-ԱՏՖազայի ակտիվության բարձրացում:

Abstract — The effect of variable temperatures both on the respiratory and oxidative phosphorylation intensity and ATPase activity of hen brain mitochondria has been investigated at the various stages of development (15-and 20-days embryos, 5-days chickens). Uncoupling of oxidative phosphorylation and increase of Mg-ATPase activity has been observed under the influence of variable temperatures.

Ключевые слова: яйца кур, митохондрии, колебательная температура, АТФаза, окислительное фосфорилирование

Результаты работ по изучению процесса инкубации в естественных условиях наводят на мысль о возможном благоприятном воздействии колеблющейся температуры на жизнеспособность и выход цыплят сельскохозяйственных птиц в инкубаторных хозяйствах.

Важным звеном в цепи биохимических сдвигов в организме в условиях переменных температур является изменение энергетического обмена мозга, так как мозг по сравнению с другими органами функционирует при более узком диапазоне температур и особенно чувствителен к колебаниям температуры. Однако имеющиеся в литературе данные относительно влияния охлаждения на метаболизм ткани мозга касаются преимущественно млекопитающих и охватывают в основном постнатальный период их развития [1—4].

Наша цель состояла в изучении влияния колебательной, или переменной, температуры инкубирования яиц на некоторые показатели энергетического метаболизма в нервной ткани в процессе эмбрионального и раннего постэмбрионального развития кур.

Материал и методика — Опыты проводили в 1984—85 гг. Исследовали митохондрии мозговой ткани 15- и 20-дневных эмбрионов и 5-дневных цыплят. В изолированных митохондриях мозга исследовали влияние переменной температуры инкубирования яиц на интенсивность поглощения кислорода и окислительного фосфорилирования, и отдельной серией опытов исследовали изменение активности Mg-АТФазы.

Яйца контрольной группы инкубировали при стабильной температуре, как это предусмотрено в правилах по инкубации (температура 37,5°, относительная влажность 50–54%). Яйца опытной группы инкубировали при той же температуре и влажности, но с 10-го дня развития их охлаждали от трех до пяти раз по 30 мин при комнатной температуре в определенные часы суток. Яйца другой группы охлаждали два раза по 60 минут.

Митохондрии из мозга выделяли в растворе 0,25 М глюкозы с 0,01 М трис-HCl буфером (pH 7,4). Ядерную фракцию осаждали при 800 g (10 мин), митохондриальную — при 16000 g. Потребление кислорода измеряли манометрическим методом. Субстрат окисления — суцоксат (40 мкМ). Активность АТФазы определяли по Скулачеву [5]. Полученные данные рассчитаны на 1 мг белка, который определяли по Лоури и соотр. [8].

Результаты и обсуждение. На рис. 1 показано, что трехкратное охлаждение яиц по 30 мин во всех изученных возрастных группах эмбрионов не приводит к каким-либо заметным изменениям в процессе поглощения кислорода митохондриями по сравнению с контролем. Четырех- и пятикратное охлаждение увеличивает количество усвоенного кислорода у 15-дневных эмбрионов. Двукратное охлаждение по 60 мин еще больше стимулирует процесс дыхания митохондрий мозга.

В зависимости от возраста и степени развития интенсивность дыхания митохондрий несколько снижается. В постэмбриональном периоде в мозге 5-дневных цыплят процесс поглощения кислорода почти приближается к норме. Только при двукратном охлаждении яиц по 60 мин количество поглощенного кислорода достоверно увеличивается.

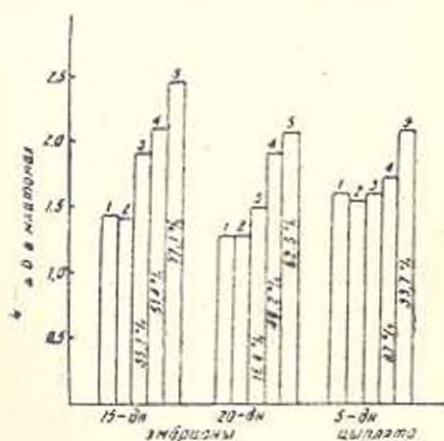


Рис. 1.

Влияние перерывной температуры инкубирования яиц на дыхание митохондрий мозга. 1—контроль, 2—трех-, 3—четыре-, 4—пятикратное охлаждение, 5—двукратное охлаждение по 60 мин.

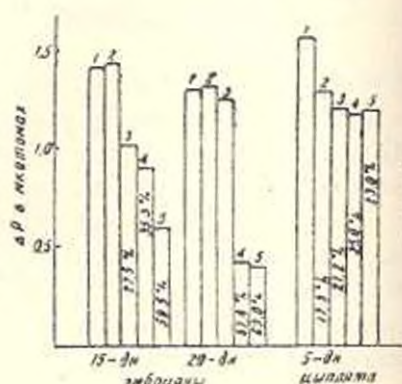


Рис. 2.

Mg-АТФазная активность в митохондриях мозга в условиях перерывной температуры инкубирования. Обозначения те же.

Определенные сдвиги отмечаются и в процессе эстерификации неорганического фосфата. В мозге 15- и 20-дневных эмбрионов трехкратное охлаждение, а у 20-дневных даже четырехкратное почти не влияет на интенсивность сопряженного фосфорилирования. Однако пятикратное

охлаждение заметно угнетает этот процесс. Заметные сдвиги в сопряженном фосфорилировании наблюдаются при двукратном охлаждении яиц по 60 мин. В постэмбриональном периоде во всех опытных группах интенсивность сопряженного фосфорилирования почти приближается к норме.

При инкубировании яиц в условиях переменной температуры соответственно меняется и величина коэффициента дыхания и фосфорилирования—Р/О.

Таким образом, при инкубировании яиц в условиях колебательной температуры происходит разобщение окислительного фосфорилирования с преобладанием свободного окисления, дыхание отключается от синтеза АТР, энергия больше не накапливается и превращается в тепло.

Изучение активности Mg-АТРаза в митохондриях мозга в указанных условиях показало, что под влиянием колебательной температуры инкубирования яиц активность фермента как у 15-, так и 20-дневных эмбрионов повышается, при этом находясь в непосредственной зависимости от степени и глубины охлаждения (рис. 2). Активность фермента приближается к норме в постэмбриональном периоде.

Сопоставление полученных результатов показало, что разобщение окислительного фосфорилирования в митохондриях мозга в эмбриональном и постэмбриональном периоде развития кур в условиях колебательной температуры инкубирования яиц в определенной степени связано с активацией некоторых АТРазных реакций в митохондриях, в частности, Mg-АТРаза. С другой стороны, по-видимому, увеличение скорости распада АТР может явиться защитной реакцией, уменьшающей последствия «энергетического голода», возникающего в мозге вследствие снижения уровня сопряжения между окислением и фосфорилированием.

Таким образом, при переменной температуре инкубирования яиц происходят заметные изменения в отдельных реакциях энергетического метаболизма, обуславливающие нормальную теплоотдачу инкубируемыми яйцами. Некоторые исследователи в целях улучшения теплоотдачи предлагают снижать температуру яиц во второй половине инкубационного периода. Мы пришли к убеждению в целесообразности поддержания стабильной температуры с ежедневным снижением ее в определенные часы суток начиная с 10-го дня инкубации, что увеличивает вывод молодняка, повышает их качество [6, 7].

На основании результатов наших исследований и литературных данных [6, 7] можно заключить, что переменные температуры, несколько задерживая рост зародыша, тем не менее способствуют лучшему усвоению эмбрионом питательных веществ яйца. Охлаждение яиц, обуславливая кратковременное колебание температуры, создает лучшие условия для теплоотдачи и газообмена в связи с изменением внутрияйцевого давления.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алюхин Ю. С., Калинин М. А. Физiol. ж. СССР, 56, 1, 19, 1970.
2. Атабекова Н. Г. В кн.: Теоретические проблемы действия низких температур на организм. Л., 1969.

3. Векслер Я. И., Атабекова Н. Г. В кн.: Митохондрии, 119, М., 1969.
4. Волжина Н. Г. Укр. биох. ж., 54, 3, 270, 1982.
5. Скулачев В. П. Соотношение окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи. М., 1962.
6. Третьяков Н. Н. Цикубадия, 137, М., 1973.
7. Третьяков Н. Н., Руда Ц., Эренсон А., Кодлов Г., Ранд Р., Эдгар Ю. Ж. общ. биологии, 3, 237, 1961.
8. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.

Поступило 3.1 1986 г.

Биолог. ж. Армении, т. 40, № 5, 390—394, 1987

УДК 612.825

ВЛИЯНИЕ РАЗДРАЖЕНИЯ ТУБЕРАЛЬНОГО ГИПОТАЛАМУСА НА ПОВЕДЕНИЕ ДОМАШНИХ ПТИЦ

Н. Л. ПОГОСЯН, А. В. АРШАКЯН

Институт физиологии им. Л. А. Орбели АН Армянской ССР, Ереван

Аннотация — На курах изучалось влияние электрического раздражения латеральной и медиальной областей туберального гипоталамуса на поведенческие и электроэнцефалографические показатели. Показано, что стимуляция медиального гипоталамуса вызывает наряду с торможением пищевого поведения эмоциональные реакции оборонительного типа, раздражение латерального гипоталамуса приводит к ориентировочно-поисковой реакции и активации приема пищи.

Անոտացիոն — Կուրջ է արվել, որ կողմնային հիպոթալամուսի տարրեր ինտենսիվության գրգռումը մեջ պայտում առաջացնում է սենդի բնորոշման ակտիվացում մյուս դեպքում՝ սենդային վարքագծի առանձին կողմերի գրգռում:

Մեծ կիսագնդերի ընդլայնարական ակտիվությունը բնութագրվում է բարձր հաճախականությամբ ունեցող արագ ալիքներով: Միջային հիպոթալամուսի գրգռումը սենդային վարքառքը ուղղակիման հետ մեկտեղ առաջացնում է նաև պաշտպանական տիպի գրգռումային օնախցիտներ, որոնք էլեցնֆալոգրաֆիայով արտահայտվում են մեծ կիսագնդերի սենսիբորնիզացիայի ձևով:

Abstract — The influence of the stimulation of lateral region of hypothalamus on the behavioural and electrophysiological reactions of poultry was studied.

It was shown that the stimulation of lateral hypothalamus activated appetite and some emotional reactions. EEG was characterized by high frequency waves. Equally with the inhibition of food activity the defence reaction was quite shown during medial hypothalamus stimulation. Bioelectrical activity was shown by desynchronization of cerebral EEG.

Ключевые слова: птица домашняя, туберальный гипоталамус, ЭЭГ.

Исследованиями, проведенными на млекопитающих, показана ведущая роль гипоталамо-корковых взаимоотношений в формировании целенаправленных реакций животных [2, 5, 6, 9, 11]. При изучении восходящих влияний различных структур гипоталамуса на электроэнцефалограмму (ЭЭГ) некоторые авторы наблюдали реципрокный характер

вливания заднего и переднего гипоталамуса на электрическую активность коры мозга [4, 6]. Данные других авторов [3, 10] свидетельствуют о мозаичном распределении и перекрытии активирующих и деактивирующих структур в пределах всего гипоталамуса.

В условиях хронического эксперимента на курах с раздражением различных отделов гипоталамуса [7] было показано, что участие переднего гипоталамуса в формировании пищевых двигательных условных рефлексов в отличие от других отделов сравнительно не велико.

В настоящем сообщении приводятся экспериментальные данные о влиянии электрического раздражения туберальной области гипоталамуса на поведенческие и электроэнцефалографические показатели птиц.

Материал и методика. Эксперименты проведены на 8 курах в хронических условиях. Для раздражения использовали стальные биполярные электроды, которые в соответствии с атласом птиц [14] вживляли в латеральные и медиальные структуры туберального гипоталамуса. Отведение биопотенциалов производили при помощи серебряных шариковых электродов с симметричных участков лобного отдела больших полушарий. Регистрацию биоэлектрической активности мозга осуществляли на отечественном четырехканальном чернильно-плотнящем энцефалографе. Применяли как низкочастотное и высокочастотное раздражение гипоталамуса (частота раздражения 10—100 Гц, напряжение 1—3 В, продолжительность импульсов 0,1—0,2 мс). Поведенческие и электроэнцефалографические изменения изучали на практически здоровых птицах в условиях свободного поведения. Пищевое поведение изучали на голодных и изголодавшихся курах.

Результаты и обсуждение. Опыты показали, что электрическая стимуляция латеральной области туберального гипоталамуса в зависимости от интенсивности раздражения вызывает различные реакции у птиц. В норме для ЭЭГ кур характерны выраженные высокоамплитудные медленные волны частотой 2—3 колебания в секунду, амплитудой 50—120 мкВ. Раздражение латеральной области частотой 10 Гц не вызывает в поведении птиц заметных изменений, однако наблюдается незначительное угнетение медленных волн (рис. 1, 1). С повышением частоты раздражения (20—40 Гц) сразу же наступает реакция некоего беспокойства. Птица воспроизводит ритмические движения клювом и лапами (автоматизм пищевого поведения), но не притрагивается к пище. После прекращения раздражения отмечается реакция приема пищи. Повышение интенсивности раздражения усиливает ориентировочную реакцию, вызывает повышенную двигательную активность, голосовые реакции. Коррелятом такой реакции (рис. 1, 2, 3) является угнетение медленных волн в сторону десинхронизации. При высоких частотах раздражающего тока (90—100 Гц) наблюдается реакция замирания, прием пищи активизируется, но осуществляется только в том случае, если корм находится перед птицей. После прекращения стимуляции электрическая активность не сразу восстанавливается. Повышение интенсивности раздражения вызывает реакцию оборонительного типа с рядом вегетативных нарушений. Раздражение, при котором наблюдается повышение пищевого возбуждения, вызывает десинхронизацию, тогда как собственно пищевая реакция, выражающаяся в потреблении пищи, характеризуется появлением высокоамплитудной активности, связанной, вероятно, с клевательными движениями.

Стимуляция медиальной области туберального гипоталамуса приводит к торможению пищевого поведения, к реакции беспокойства, настороженности. При минимальных параметрах электрического раздражения (10—20 Гц, 1 В, 0,1 мс) этой области гипоталамуса наблюдается прекращение приема пищи без других отклонений в поведении птиц. После прекращения раздражения птица продолжает прием пищи, однако в ЭЭГ выявляются некоторые изменения. Как видно из рис. 2, 1, в.

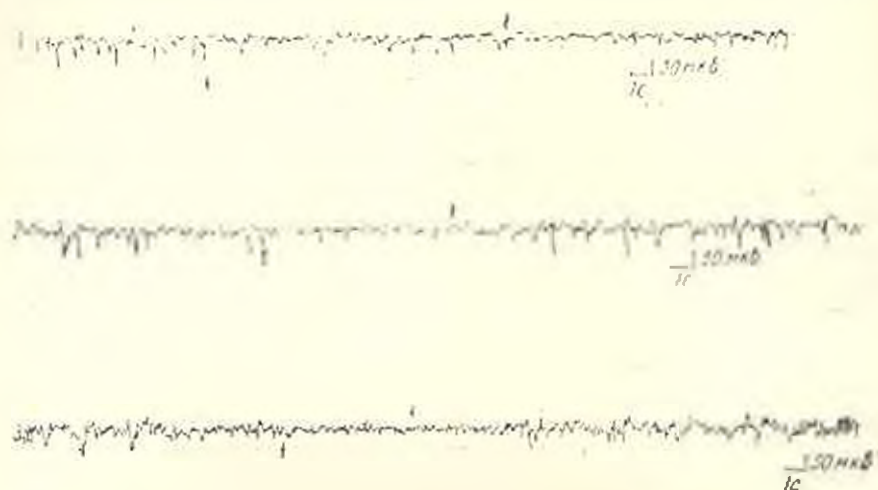


Рис. 1. Электрическая активность больших полушарий птиц при раздражении латеральной области туберального гипоталамуса. 1—частота 10 Гц, напряжение 1 В, продолжительность 0,1 мс; 2—20 Гц, 0,1 мс, 1 В; 3—60 Гц, 0,2 мс, 1 В. Стрелками отмечены начало и конец раздражения.

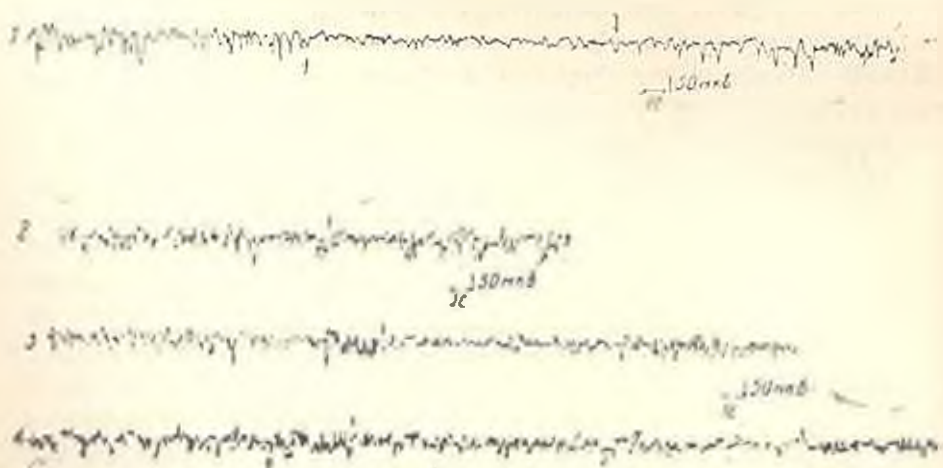


Рис. 2. Изменения электрической активности больших полушарий при раздражении медиальной области туберального гипоталамуса: 1—10 Гц, 0,2 мс, 2 В; 2—60 Гц, 0,2 мс, 3 В; 3—80 Гц, 0,2 мс, 1 В; 4—100 Гц, 0,2 мс, 2 В.

ответ на пороговое раздражение в электрической активности больших полушарий наблюдается угнетение высокоамплитудных медленных волн. Повышение частоты раздражающего тока (40—60 Гц) вызывает торможение приема пищи, при этом отмечаются и другие реакции, такие как беспокойство, настороженность. После прекращения раздра-

жения птицы забиваются в угол камеры, четко проявляется выраженная пассивно-оборонительная реакция, которая сохраняется в течение длительного времени, не проявляя тенденции к угасанию. Что касается электрической активности больших полушарий, то здесь наблюдается десинхронизация, которая не исчезает сразу и сохраняется еще некоторое время после выключения раздражения. При повышении интенсивности раздражения до 100 Гц, 2 В, 0,2 мс отмеченные неэротические нарушения приобретают более выраженный характер (появляется агрессивность к экспериментатору). Соответственно в ЭЭГ появляются регулярные высокоамплитудные волны.

Все изменения электрической активности полушарий птиц более выражены на ипсилатеральной стороне раздражения. Степень выраженности, продолжительность реакций десинхронизации разные у разных особей.

Результаты наших опытов показали, что стимуляция различной интенсивности латерального гипоталамуса приводит в одних случаях к активации приема пищи, в других—к проявлению отдельных фрагментов пищевого поведения. Пороговое раздражение латерального гипоталамуса вызывает ориентировочно-исследовательскую реакцию пищевого поиска. Биоэлектрическая активность больших полушарий выражается в появлении высокочастотных волн. Усиление раздражения приводит к активации латерального гипоталамуса, вызывает пищевое поведение. В серии опытов, в которых изучали влияние раздражения латерального гипоталамуса на пищеводвигательные условные рефлексы, мы наблюдали активацию безусловного пищевого поведения и подавление условнорефлекторных реакций [7]. Данные ряда авторов указывают на сложную морфофизиологическую дифференцировку латерального гипоталамуса [2, 12, 13]. Опыты с разрушением и раздражением показали существование в этой области зон с различной функциональной организацией, формирующих мотивацию к пище и безусловную пищевую реакцию. На основании полученных данных [2] выделяют наружно-латеральную область гипоталамуса как «эффекторный центр питания», вызывающий комплекс сомато-вегетативных реакций, обеспечивающих прием и первичную обработку пищи (при этом пищедобывательные условные рефлексы заторможены), и внутренне-латеральную область—как «инициативный центр пищевой мотивации», активирующий целенаправленную пищевую деятельность.

Данные, полученные нами, позволяют предположить, что латеральная область гипоталамуса птиц так же, как и у более высокоорганизованных животных, связана со всеми фазами пищевого поведения.

Стимуляция латерального гипоталамуса, способствуя формированию пищевого поведения, вызывает у птиц эмоциональные реакции, степень которых зависит от силы и интенсивности раздражения.

В опытах ряда авторов с электрическим раздражением вентромедиального гипоталамуса наблюдались поведенческие реакции двух типов: реакции пищепонска и разнообразные формы агрессивного поведения. Электроэнцефалограммы, полученные в ответ на раздражение медиального гипоталамуса, характеризовались двумя типами реакций—десинхронизацией и медленной высоковольтной активностью [1, 8, 9,

11]. Определенной закономерности между ЭЭГ изменениями и поведенческими реакциями авторы не наблюдали, оба типа поведенческих реакций могли сопровождаться и десинхронизацией и медленной активностью.

Поведенческие реакции в ответ на раздражение медиального гипоталамуса в наших исследованиях также носят двойственный характер. Электрическая стимуляция медиального гипоталамуса пороговыми значениями вызывает торможение пищевого поведения с характерными изменениями ЭЭГ в больших полушариях мозга птиц. С повышением интенсивности раздражения, наряду с торможением пищевого поведения, развиваются эмоциональные реакции оборонительного типа, электрографически выражающиеся в десинхронизации больших полушарий.

Как видно из приведенных данных, латеральная и медиальная области туберального гипоталамуса принимают участие не только в регуляции пищевого поведения, но и в проявлении ряда эмоциональных реакций организма, оказывая восходящее активирующее влияние на большие полушария мозга птиц.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аладжашова Н. А. Медленные электрические процессы в головном мозгу. М., 1962.
2. Аситуани А. В., Бакурадзе А. Н. Нейрогуморальные механизмы пищевой деятельности. Тбилиси, 1975.
3. Баклаваджян О. Г. Вегетативная регуляция электрической активности мозга. Л., 1967.
4. Гелозори Э., Лудборроу Дж. Эмоции и эмоциональные расстройства. М., 1966.
5. Зилов В. Г. В сб.: Проблема физиологии гипоталамуса, 12, 34—42, 1978.
6. Карамян А. Н., Соллертинская Т. Н. Физиол. ж. СССР, 50, 8, 962—974, 1964.
7. Погосян Н. Л., Аршикян А. В. Биол. ж. Армении, 38, 12, 1044—1049, 1985.
8. Соллертинская Т. Н. Физиол. ж. СССР, 50, 5, 546—556, 1964.
9. Судачов К. В. Биологические мотивации. Л., 1971.
10. Тонких А. В. Гипоталамо-гипофизарная область и регуляция физиологических функций организма. Л., 1965.
11. Шудейкина К. В. Системная организация пищевого поведения. М., 1971.
12. Morgan P. J. Amer. J. Physiol., 201, 838—844, 1961.
13. Morgan P. J. Proc. of the Seventh. Inter. Congr. of nutrition, 1, 1—5, 1966.
14. Van Tienhoven A. and Juhász L. P. J. Comp. Neurol., 118, 2, 185—194, 1962.

Поступила 16.VII 1986 г.

ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДОВ ПОЛУЧЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ ГИСТАМИНЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗЫ ЖЕЛУДКА

В. Г. ИВАШКИН, Г. А. МИНАСЯН, О. Г. АГБЕВА,
Т. Н. КОНИЧЕВА, В. М. АРУТЮНЯН

Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Ленинград
Ерванский государственный медицинский институт,
кафедра внутренних болезней № 1

Аннотация — Сравнивались различные методики получения препаратов гистаминчувствительной аденилатциклазы. Показано, что максимальную активность аденилатциклазы обеспечивает инкубация париетальных клеток желудка и лизирующей буфере с последующим многократным пропусканием через иглу.

Անոտացիա — Համեմատված են ադենիլատցիկլազայի ակտիվությանը (արտադրված և անալիզի պարբերությամբ) հարմար թափանցիկ և կրակային Ֆրանցիաների անալիզի մի քանի մեթոդներ: Ցույց է տրված, որ ադենիլատցիկլազայի առավելագույն ակտիվությունը եկապիտում է կրակային Ֆրանցիաներում: Անալիզի արդյունքում էն այդ Ֆրանցիաների անալիզի ուղիները:

Abstract — Various ways of receiving of gastric parietal cells and membrane fractions, enriched by adenylatcyclase activity were compared. It was shown that the maximum activity of enzyme provided the using of lytic system and crossing through medical needle.

Ключевые слова: слизистая оболочка желудка, аденилатциклаза.

Изучение аденилатциклазы (АЦ), регулируемой гистамином, только началось. В литературе имеются данные о некоторых свойствах АЦ клеток слизистой желудка ряда видов млекопитающих и влиянии на активность этого фермента различных гормонов и простагландинов [1—3, 5, 7]. Однако в целом данные об этом важном ферменте характеризуются фрагментарностью и неполнотой. Между тем использование АЦ в качестве фермента-мишени для исследования влияния различных фармакологических веществ имеет большое практическое значение, поскольку позволяет резко повысить эффективность научных поисков, в частности, в гастроэнтерологии. При этом очень важен выбор метода, позволяющего получать препараты с высокой аденилатциклазной активностью.

В данном исследовании приведены результаты сравнения аденилатциклазной активности ферментных препаратов при различных способах их получения.

Материал и методика. Работа выполнялась в 1984—86 гг. Препараты, обогащенные париетальными клетками из слизистой оболочки желудка крыс, получали по модифицированному методу Левина [6]. В опытах использовали беспородных крыс (150—200 г), наркотизированных перед операцией удаления желудка. Удаленный желудок освобождали от содержимого, промывали охлажденным физиологическим раствором, накладывали лигатуры по кардиальному и пилорическому сфинктерам, выворачивали слизистую оболочку наружу, вновь промывали солевым раствором, после че-

го полость, обрамленную серозной оболочкой, заполняли раствором протеолитического фермента—трипсы (4 мг/мл) и тщательно перевязывали. Изолированный желудок инкубировали в солевом растворе при 37° в течение 20 мин в термостатированном сосуде, помещенном на магнитную мешалку. После окончания инкубации клетки отделяли центрифугированием (1000 об/мин, К-23), суспендировали, подсчитывали на счетчике Коултера. Из одного желудка крысы среднего размера получали в среднем 6×10^6 клеток. Жизнеспособность клеток, определяемая по трипановому синему, составляла не менее 90—98%. Parietalные клетки идентифицировали под световым микроскопом либо непосредственно в препарате (так как они легко отличимы от других клеток), либо после гистохимического окрашивания на сульфидгидрогеназу.

Полученные париетальные клетки разрушали различными методами: ресуспендированием в лизирующем буфере—трис-HCl—20 mM (pH 7.4), ДТТ—1, ЭДТА—1, $MgCl_2$ —3 mM—с последующим многократным пропусканием суспензии через медицинскую иглу, замораживанием в жидком азоте с последующим оттаиванием и повторением цикла; озвучиванием на УЗДН; ручным гомогенизированием в гомогенизаторе стекло/тефлон. Активность ферментного препарата определяли по количеству образованного сАТР после инкубации в среде, содержащей АТР-регенерирующую систему и ингибитор фосфодиэстераз. сАТР определяли по методу Гильмана [1]. Поскольку в качестве критерия нативности препарата АЦ обычно используют зависимость их активности от различных стимуляторов, в качестве стимулятора использовали гистамин.

Результаты и обсуждение. Результаты оценки степени нативности АЦ в клетках, разрушенных разными способами, приведены в таблице.

Нативность гистаминзависимой аденилатциклазы в париетальных клетках желудка, разрушенных различными способами

Способ разрушения клеток	Стимуляция активности аденилатциклазы (в процентах от базальной)	
	гистамин	фтористый натрий
Озвучивание (1 с, 3 Вт)	75	1 100
Замораживание	100	1 000
Гомогенизация	135	1 300
Инкубация в лизирующем буфере и пропускание через иглу	300	1 100

Использование наиболее мягких условий разрушения клеток (инкубация в лизирующем буфере с пропусканием через иглу) обеспечивает максимальную нативность гистаминчувствительной АЦ, о чем свидетельствует относительно высокая стимуляция фермента гистамином. Другие методы разрушения клеток приводят к резкому снижению гистаминовой стимуляции. Уровень стимуляции фторидом практически не зависит от способа разрушения клеток.

Центрифугирование полученных после инкубации в лизирующем буфере клеточных гомогенатов при различных ускорениях (10, 20 и 30 тыс. g) позволяет получать мембранные фракции, по-разному обогащенные гистаминчувствительной АЦ (рис. 1).

Установлено, что только в грубой мембранной фракции уровень базальной и гистаминстимулированной активности достаточно высок. Во фракциях, полученных при ускорениях 20 000 и 30 000 g, активность фермента низка. Относительно высокий уровень фторидной стимуляции, характерный для фракции, полученной при 30 000 g, указывает на ча-

стичное разобшение компонентов аденилатциклазной системы в этом препарате.

На рис. 2 представлены данные, свидетельствующие об активности клеточного гомогената, полученного путем мягкого лизиса париетальных клеток и грубой мембранной фракции, осаждаемой при 10 000 г. Фактически по своим свойствам эти препараты весьма близки. Уровень

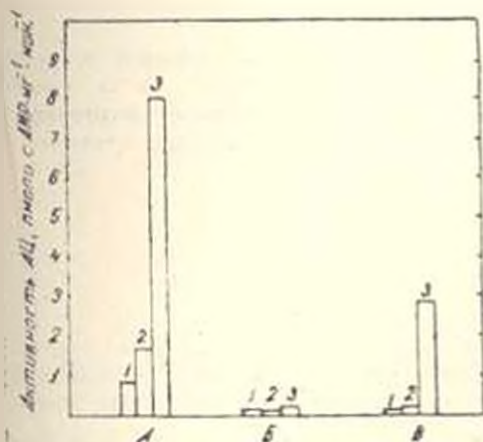


Рис. 1.

Рис. 1. Влияние гистамина (2) и ионов фтора (3) на стимуляцию базальной активности (1) аденилатциклазы, содержащейся в мембранных фракциях, полученных после центрифугирования клеточного гомогената при 10 000 (А), 20 000 (Б) и 30 000 г (В). Содержание белка в пробах—60, 55 и 50 мкг соответственно.

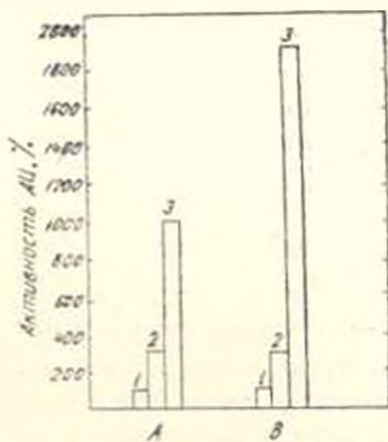


Рис. 2.

Рис. 2. Сравнение аденилатциклазной активности клеточного гомогената (А) и грубой мембранной фракции (Б) в отсутствие эффектора (1), в присутствии гистамина (2) и фторидов (3). Содержание белка в пробе—80 (А) и 70 мкг (Б).

гистаминовой стимуляции в них достаточно высок, что свидетельствует о сохранении способности фермента реагировать повышением активности на введение гормона. Однако более высокий эффект фторидных ионов при воздействии на грубые мембранные фракции указывает на определенное денатурирующее влияние процедуры очистки фермента.

Как известно, основным условием корректного определения активности фермента является знание характера зависимости его активности от содержания белка. Зависимость активности АЦ от содержания белка в пробе представлена на рис. 3, данные которого свидетельствуют о существовании линейной зависимости «активность—белок» при количестве белка в пробе в пределах 50—180 мкг.

Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать следующие выводы.

Максимальную нативность гистаминчувствительной АЦ в препарате обеспечивает инкубация париетальных клеток желудка в лизирующем буфере с последующим многократным пропусканием через иглу, в то время как другие способы разрушения (замораживание—оттаивание в жидком азоте, ручное гомогенизирование, озвучивание) приводят к значительной инактивации фермента.

Уровень базальной и гистаминстимулированной активности АЦ наиболее высок в грубых мембранных фракциях клеток, полученных при центрифугировании клеточных гомогенатов при ускорении 10 тыс. g.

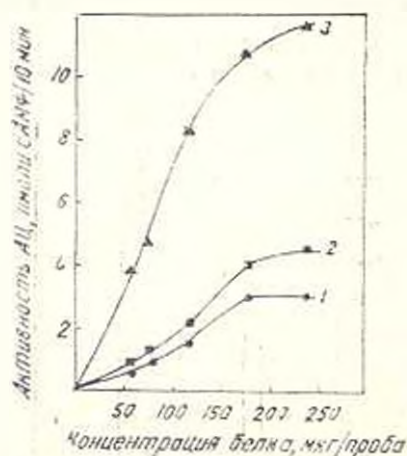


Рис. 3 Зависимость активности аденилатциклазы от содержания белка в пробе (1—базальная, 2—гистаминстимулированная, 3—фторидстимулированная активность).

При более высоких скоростях центрифугирования (20 и 30 тыс. g), активность фермента резко падает из-за разобшения в препарате компонентов аденилатциклазной системы.

При содержании белка в пробе в пределах 50—180 мкг существует линейная зависимость между активностью АЦ и содержанием белка.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гаиров М. М. и соавт. Биохимия, 6, 1035—1041, 1983.
2. Dosua T. P. Gastroenterology, 71, 904—912, 1979.
3. Gespach C. et al. Biochem. Biophys. Acta, 729, 7—12, 1982.
4. Gittman A. G. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 67, 305—31, 1970.
5. Leulitzki A. J. Receptor Res., 4, 399—403, 1984.
6. Lewin et al. Biol. Gastroenterol., 7, 139—144, 1971.
7. Thompson W. J. et al. Amer. J. Physiol., 1, 76—84, 1981.

Поступило 21.1.1987 г.

Биол. ж. Армения, т. 10, № 5, 399—400, 1987

УДК 616.31/36—005

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ФОСФИНОВЫХ КОМПЛЕКСОВ Rh , Ru и Pd

А. А. ЧАЧОЯН, Л. И. САГГАДЯН

Институт тонкой органической химии АН Армянской ССР, Ереван
Ереванский политехнический институт им. К. Маркса

Ключевые слова: фосфиновые комплексы переходных металлов, противоопухолевая активность, токсичность.

Известно, что водорастворимый фосфиновый комплекс родия был использован в качестве катализатора в биологических системах, в частности, для гидрирования ненасыщенных жирных кислот, ассоциированных с фосфолипидами клеточной мембраны. При этом предполагалось, что, укрепляя стенку клеточной мембраны гидрированием, можно останавливать рост опухолей [4]. В связи с этим представлялось интересным изучение в эксперименте противоопухолевой активности водорастворимых фосфиновых комплексов переходных металлов родия, рутения и палладия в зависимости от природы металла и лигандного окружения, поскольку известно [3], что в гомогенном катализе активности их изменяется не только при замене одного металла другим, но и при замене лиганда в координационной сфере металла. Изучены также нерастворимый фосфиновый комплекс родия, несulfированный трифенилфосфин и лиганд drp — $(C_6H_5)_2PC_6H_4SO_3Na$, дифенилфосфин-бензол-м-сульфонат натрия. Способ получения данных соединений описан [2, 3].

Материал и методика. Хиждотермическне эксперименты проведены по известной методике [1] на белых беспородных крысах (массой 90—120 г) и мышах (массой 18—21 г) обоего пола.

На мышах при однократном внутрибрюшинном введении определены абсолютно смертельная (LD_{50}), максимум переносимая (МПД) дозы и на основании этого — терапевтическая доза соединений. Исследования антибластической активности жүще ставлено на крысах с саркомой 15, лейкозом Швец и мышах с саркомой 180, асцитной карциномой Эрлиха. Соединения I—VI (табл.) вводили крысам (8 раз) и мышам (6 раз) внутрибрюшинно ежедневно 1 раз в день, в дозах $1/20$ и $1/10$ от LD_{50} с ответственностью. Соединения I—III растворяли в изотоническом растворе хлорида натрия, а IV—VI испытывали в виде взвеси, приготовленной на 0,5%-ном растворе карбоксиметилцеллюлозы. Летальный эффект каждого соединения оценивали по проценту торможения роста солидных опухолей или увеличению продолжительности жизни мышей по сравнению с контролем. Об общетоксическом действии взвеси из организм животных судили по коэффициенту роста (Кр. %).

Всего использовано 102 крысы и 150 мышей. Полученные результаты статистически обработаны по методу Стьюдента-Фишера и приведены в таблице.

Токсичность и противоопухолевая активность водорастворимых фосфиновых комплексов Rh, Ru и Pd и их лигандов

Соединения	ЛД ₅₀	МПД	Доза, мг/кг в сутки	Лейкоз Шнеца		
	мг/кг			T%	α	Кр. %
I CLRh (dpm) ₂	1000	850	50	80	>0.99	+1.5
II CL ₂ Pd (dpm) ₂	1000	700	50	20	<0.95	+0.5
III CL ₂ Ru (dpm) ₂	1250	900	60	63	>0.99	+3
IV CLRh/P(C ₆ H ₅) ₃	1000	650	50	66	>0.99	0
V dpm	200	100	10	0		+6
VI P(C ₆ H ₅) ₃	1600	1300	80	0		-0.1

Результаты и обсуждение. Следует отметить, что токсичность водорастворимых комплексов I—III независимо от природы металла примерно одинакова. ЛД₅₀ их составляет 1000—1250 мг/кг. Аналогичную токсичность проявили нерастворимый фосфиновый комплекс родия (IV) и несulfированный трифенилфосфин (VI), однако лиганд (V) оказался сравнительно токсичным.

Судя по действию на саркомы 45, 180 и асцитную карциному Эрлиха, все три водорастворимых комплекса переходных металлов (Rh, Ru и Pd), а также нерастворимый комплекс рутения (IV) и лиганд (V) не активны. Несulfированный трифенилфосфин (VI), в отличие от самих комплексов переходных металлов, проявил выраженную активность в отношении саркомы 180 (T% = 73, α = 0,95) и саркомы 45 (T% = 40, α = 0,95). Несколько чувствительным к действию указанных соединений оказался лейкоз Шнеца (табл.). На данном опухолевом штамме водорастворимые комплексы рутения и родия (I, III), а также нерастворимый комплекс родия (IV) проявляли наиболее высокую эффективность (T% = 63—80), при этом не оказывая токсического действия на организм животных. Водорастворимый комплекс палладия (II) обладал слабой активностью в отношении лейкоза Шнеца, а исходный лиганд (V) и несulfированный трифенилфосфин (VI) не оказывали противоопухолевого действия.

Из полученных данных следует, что относительно активными противоопухолевыми веществами являются комплексы рутения и родия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Методы экспериментальной химиотерапии. 357, М., 1971.
2. Саградян Л. Н. Канд. дисс., Ереван, 1983.
3. Чухаджян Г. А., Элбакян Т. С., Саградян Л. Н. Арм. хим. ж., 31, 2, 163—165, 1981.
4. Madden T. D., Quinn P. J. Biochem. Soc. Trans., 6, 6, 1345—1347, 1978.

Поступило 28.XI 1986 г.

ВЛИЯНИЕ АТР НА ОБРАЗОВАНИЕ МАЛОНДИАЛЬДЕГИДА В КОРКОВОМ СЛОЕ ПОЧЕК

А. А. МИДОЯН, А. С. ОГАНЕСЯН, Ж. С. ГЕВОРКЯН,
Т. А. ОГАНЕСЯН, Г. А. ДОВАНДЖЯН

Институт биохимии АН Армянской ССР, лаборатория патобиохимии, Ереван

Ключевые слова: корковый слой почек, малондиальдегид, АТР

Ранее нами было показано [5], что кратковременная преинкубация срезов почек в атмосфере низкого парциального давления кислорода (воздух) приводит к выраженному уменьшению продукции аммиака из некоторых L-аминокислот (глутамат, аспартат, орнитин), что сопровождается резким снижением содержания АТР. Добавленный АТР оказывает благотворное влияние. Подобное явление наблюдается также у экспериментальных животных и у людей, страдающих нефритом [3].

Учитывая важность интактности плазматических мембран клеток в процессах дезаминирования глутамата, аспартата и орнитина и роль АТР в обеспечении многочисленных биосинтетических и метаболических реакций в клетке, сохранении ультраструктуры и функций клеточных мембран, мы предприняли ряд исследований по изучению влияния этого препарата на перекисное окисление липидов (ПОЛ) в срезах почек.

Материал и методы. Опыты проводили с препаратами коркового слоя почек белых крыс, здоровых и страдающих нефритом, вызванным подкожным введением малеиновой кислоты из расчета 400 мг/кг, по методике Владимирова и Арчакова [2]. О влиянии различных условий и концентраций АТР на интенсивность ПОЛ судили по накоплению малонового диальдегида (МДА).

Результаты и обсуждение. Результаты исследований показывают (табл.), что в ходе инкубации почечной ткани здоровых животных в атмосфере воздуха происходит значительное возрастание количества МДА по сравнению с его эндогенным содержанием. Низкие концентрации АТР подавляют образование МДА, между тем как высокие приводят к выраженному возрастанию этого продукта перекисного окисления липидов. Более того, при повышении содержания АТР в инкубационной среде наблюдается линейное возрастание этого показателя. Инкубация почечной ткани в условиях высокого парциального давления кислорода приводит к снижению содержания МДА, в то время как АТР способствует выраженному повышению его по сравнению с контрольными опытами и опытами, проведенными в атмосфере воздуха. АДР и АМР как в атмосфере воздуха, так и кислорода вызывают не большое повышение показателя МДА. Интересно отметить, что супероксиддисмутаза подавляет образование МДА при инкубации почечной ткани в атмосфере воздуха и не оказывает влияния, если инкубация проводится в атмосфере кислорода.

Иная картина выявляется у больных животных. Инкубация почечной ткани этих животных в атмосфере воздуха в присутствии низких

Условия опыта	Интенсивность образования МДА (показатели спектрофотометра)	
	здоровые	больные
Инкубация в атмосфере воздуха		
Контроль (до инкубации)	0.107	0.135
Контроль (после инкубации)	0.390	0.350
+ супероксиддисмутаза	0.300	0.265
+ АТР — 0.05 мг/мл	0.310	0.275
+ АТР — 0.25 мг/мл	0.453	0.355
+ АТР — 0.5 мг/мл	0.500	0.370
+ АТР — 0.5 мг/мл + супероксиддисмутаза	0.515	0.375
+ АДР — 0.25 мг/мл	0.459	0.360
+ АМР — 0.25 мг/мл	0.400	0.360
Инкубация в атмосфере $O_2 + CO_2$		
Контроль (после инкубации)	0.300	0.310
+ супероксиддисмутаза	0.320	0.350
+ АТР — 0.05 мг/мл	0.410	0.430
+ АТР — 0.25 мг/мл	0.530	0.450
+ АТР — 0.5 мг/мл	0.540	0.485
+ АТР — 0.5 мг/мл + супероксиддисмутаза	0.560	0.480
+ АДР — 0.25 мг/мл	0.410	0.365
+ АМР — 0.25 мг/мл	0.350	0.360

концентрации АТР и супероксиддисмутаза вызывает снижение содержания МДА, а высокие концентрации АТР не оказывают особого влияния на этот показатель. При инкубации почечной ткани этих животных в атмосфере высокого парциального давления кислорода как низкое, так и высокие концентрации АТР повышают содержание МДА, однако значительно меньше, чем у здоровых животных в аналогичных условиях. Супероксиддисмутаза как отдельно, так и в сочетании с АТР не оказывает влияния на этот показатель.

Следует отметить, что АТР не дает тиобарбитурат (ТБК) — положительной реакции, она связана с ферментативной активностью почечной ткани и протекает более интенсивно при $t + 37^\circ$ в течение определенного времени. При предварительной денатурации почечной ткани ТБК-положительная реакция не развивается.

Предпринимая настоящие исследования, мы предполагали, что одной из причин подавления дезаминирования аминокислот при инкубации почечных срезов в атмосфере низкого парциального давления кислорода, как это отмечалось ранее [5], является изменение ультраструктуры клеточных мембран в результате снижения содержания АТР и усиления перекисного окисления липидов. Интактность плазматических мембран клеток является одним из важных условий осуществления дезаминирования ряда L-аминокислот в почечной ткани [5]. Учитывая литературные данные о нарушении функциональной деятельности клеточных мембран при снижении содержания АТР [1, 6, 7], а также результаты наших исследований [5], показавших благотворное влияние этого нуклеотида на функциональную деятельность почек и процессы обмена аминокислот при их патологии (нефрит), мы изучали его влия-

ние на процессы ПОЛ почечной ткани (по накоплению малондиальдегида) и получили интересные результаты: низкие концентрации этого препарата у здоровых животных подавляют, между тем как высокие вызывают выраженное повышение количества МДА. По-видимому, низкие концентрации АТР сохраняют интеграцию клеточных мембран путем подавления ПОЛ и, возможно, способствуют сохранению активности супероксиддисмутазы. Последняя подавляет образование МДА при низком энергетическом уровне почечной ткани, при высоком же эффект этого фермента—антиоксиданта не проявляется. Не исключена возможность, что в атмосфере высокого парциального давления кислорода, когда содержание АТР высокое, образуются радикалы, которые, атакуя супероксиддисмутазу, снижают ее активность.

Пока трудно объяснить усиление ТБК-реакции под действием высоких концентраций АТР. Можно полагать, что АТР стимулирует образование МДА. Нетрудно представить, что АТР вызывает дегенерацию клеточных мембран. Развитие ТБК-положительной реакции в ответ на добавление к почечной ткани АТР связано с определенным превращением последнего, так как при добавлении его в конце инкубации почечной ткани этого не наблюдается. Для проявления указанной реакции требуется определенное время инкубации при $+37^{\circ}$. Химический анализ показал, что препарат АТР не содержит следов железа, которое проявляет положительную ТБК реакцию [8]. Мы склонны думать, что в ходе инкубации, возможно, из АТР образуется промежуточное соединение, которое, реагируя с ТБК, вызывает реакцию окисления, как это наблюдается в присутствии МДА, причем интенсивность реакции зависит от содержания АТР. Слабая реакция ткани больных животных в ответ на добавленный АТР, возможно, связана со снижением интенсивности определенных биохимических процессов, обуславливающих образование МДА. Большой научный и особенно практический интерес представляет изучение действия АТР на указанные процессы в условиях *in vivo*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белоус А. М., Бондаренко В. А. Биомембраны 210, Рига, 1980.
2. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
3. Мидохи А. А., Оганесян А. С., Геворкян Ж. С. Журн. эксперим. и клин. мед., 24, 5, 502—503, 1984.
4. Оганесян А. С., Геворкян Ж. С. ДАН АрмССР, 62, 4, 251—256, 1976.
5. Russo M. A., Rossum G. D., Colcott T. J. membr. biol., 31, 267—299, 1977.
6. Suzuki O., Yagi K. Experientia, 30, 248—253, 1974.
7. Wills E. D. Biochem. Biophys. acta, 84, 474—477, 1984.

Поступило 23 VII 1986 г.

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ВНУТРИОРГАННОГО МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ГИСТАМИНА

Н. Н. МЕЛКОНЯН, К. В. КАЗАРЯН, А. М. ЧИЛИНГАРЯН

Институт физиологии им. Л. А. Орбели АН Армянской ССР, Ереван

Ключевые слова: кровеносное микроциркуляторное русло, АТР гистамин.

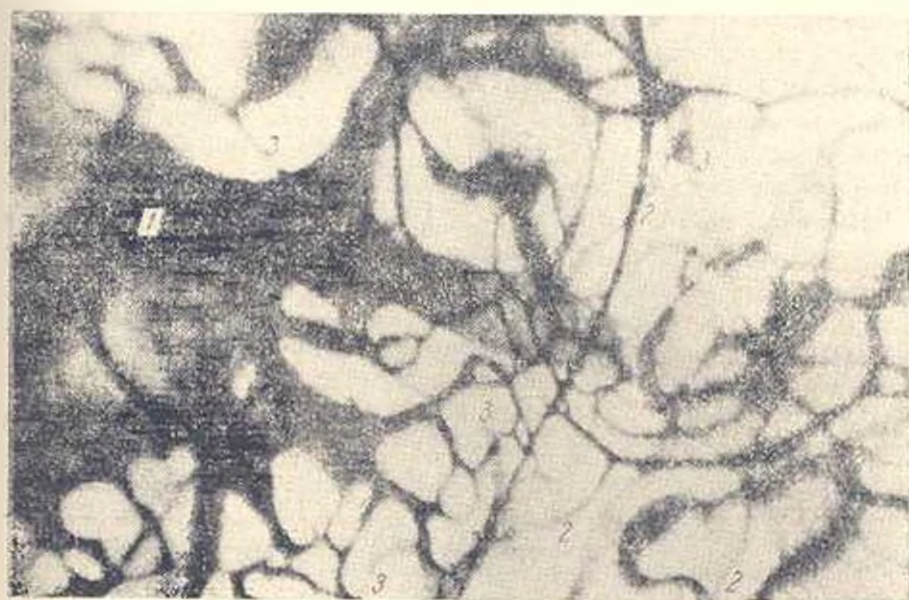
Согласно существующим представлениям, гистамин является мощным вазоактивным веществом, регулирующим периферическое кровообращение. Однако о влиянии препарата на сосуды разных органов или на различные звенья микрососудистого русла (МЦР) в литературе нет единого мнения. Отсутствуют данные о его действии на внутриорганные микроциркуляторные русла. Это не удивительно, так как до последнего времени отсутствовали соответствующие методы, позволяющие проводить исследования подобного рода. Использование в этих целях кальций-АТРного метода Чилингаряна [8] оказалось весьма перспективным. Метод позволяет на толстых гистологических срезах фиксированного материала окрасить внутриоргannую сосудисто-капиллярную сеть и одновременно дифференцировать артериальное, венозное и капиллярное русло.

Материал и методика. Исследования проводили на подопытных кошках (по 4—5 кошек на каждую серию опытов). Животных усыпляли сибуталексом (60 мг/кг). Через час наркотизированным животным внутривенно вводили гистамин в дозе 5 мкг/кг, в других сериях дозу увеличивали до 10 мкг/кг. После введения препарата через 1; 3; 10; 15; 20; 25; 30; 45 мин быстро извлекали сердце с перикардом и мозг с твердой мозговой оболочкой, разрезали их на кусочки и фиксировали в 5%-ном формалине и течение 24 ч, оболочки фиксировали целиком. После промывки кусочков в воде готовили замороженные срезы сердца (60 мкм), полушарий (150 мкм). Приготовленные срезы и оболочки обрабатывали согласно кальций-АТРному методу Чилингаряна [8]. После окраски срезы заключали в глицерин-желатину. На полученных препаратах проводили морфометрический анализ. Измеряли диаметр капилляров с помощью окулярного микрометра [1].

Результаты и обсуждение. На окрашенных препаратах весьма контрастно и избирательно выявляется внутриоргannое микрососудистое русло. На оболочках (перикарде и твердой мозговой оболочке) видны все компоненты его независимо от диаметра сосуда. В полушарии является непрерывная сосудисто-капиллярная сеть, а в миокарде — капиллярное русло и фрагменты артериол и венул. К сожалению, на наших препаратах невозможно получить данные о первоначальном диаметре артериол и венул и судить о них. Поэтому морфометрическому анализу подвергали капиллярное русло, поскольку диаметр капилляров для данного вида животного и органа является довольно постоянной величиной при использовании нами метода. Согласно нашим данным, у наркотизированных кошек (контрольные животные) диаметр

составляет в среднем в коре полушарий 6, в миокарде—6, в твердой мозговой оболочке—14, в перикарде—12 мкм.

У животных, получавших гистамин в дозе 5 мкг/кг, в исследованные сроки не удалось установить существенных изменений в диаметре капилляров, а также в артериолах и венолах. Наиболее существенные изменения были выявлены при введении гистамина в дозе 10 мкг/кг после минутного позддействия препарата. В твердой мозговой оболочке сильно выражена реакция наблюдалась со стороны сосудов всех калибров. Даже визуально можно было установить, что венолы настолько расширяются, что утрачивают четкость форм. Венолы становятся грушевидной формы и сливаются в резко увеличенные бесформенные непонятные лакуны или «озера». Артериальные сосуды также расширяются, но в меньшей степени, чем венозные. На некоторых артериолах гладкомышечные клетки выявляются нечетко. Вторичные ветви, отходящие от крупных артериол, имеют зигзагообразный ход, а в некоторых участках резко сужены (закрытые участки). Морфометрический анализ показывает, что в твердой мозговой оболочке под воздействием гистамина в значительной степени уменьшается и диаметр капилляров, который в среднем составляет 8,6 мкм (рис.). В перикарде также вид-



Твердая мозговая оболочка с расширенными венозными лакунами (1) и суженными венолами (3) и артериолой (2). Увеличение 6Х8.

но, что диаметр сосудов всех калибров не одинаков на всем протяжении сосуда. Капилляры имеют негладкую поверхность и становятся как бы «курчавыми» от резкого сужения, их диаметр в среднем составляет 8 мкм. В то же время следует отметить, что сужение капилляров в значительной степени наблюдается в артериальном отделе. В миокарде отмечается расширение диаметров капилляров, которое в среднем составляет 8 мкм, хотя в артериолах и венолах резких изменений не за-

мечается. Изменения в диаметре капилляров пол. шарий мозга выражены слабее и составляют в среднем 7,5 мкм.

В таблице в процентном выражении приведены изменения диаметров капилляров, составляющие более 2 мкм в сравнении с контролем, из общего числа измеренных капилляров (16 полей зрения).

Процентное выражение изменения диаметров капилляров

Орган	Диаметр капилляров в контроле, мкм	Количество капилляров с измененным диаметром	Изменение диаметров капилляров, %	Количество измеренных капилляров
Мозг	6	76 (7,5 мкм)	47 (расш.)	160
Сердце	6	80 (8 мкм)	50 (расш.)	160
Твердая мозговая оболочка	14	136 (12 мкм)	86 (суж.)	157
Перикара	12	115 (10 мкм)	80 (суж.)	145

Представленные в таблице данные, на наш взгляд, наглядно показывают те количественные сдвиги, которые происходят в МЦР под влиянием гистамина. Полученные нами данные существенно отличаются от литературных [3—6], касающихся влияния препарата на отдельные органы. Используемый нами метод позволяет исследовать различные звенья МЦР в разных органах одновременно. Это обстоятельство дало возможность установить, что гистамин по-разному влияет на различные органы. В мозге и миокарде он вызывает достоверное расширение, а в оболочках наблюдается явное сужение капилляров.

Наряду с полученными ранее данными [9], результаты, приведенные в настоящем сообщении, позволяют судить о перспективности гистоангиологического метода, с помощью которого можно получать количественные и другие точные данные о морфофункциональном состоянии МЦР при воздействии различных агентов и веществ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г. Г. Введение в количественную и патологическую морфологию, Научник, 1980.
2. Блинов С. М., Глэзер Н. Н. Мозг человека в цифрах и таблицах. М., 1980.
3. Гаевый М. Д. Фармакология мозгового кровообращения. М., 1980.
4. Гедеванишвили Н. Д. Периферическое кровообращение и особенности его регуляции. М., 1967.
5. Медведишин Г. Н. Капиллярное кровообращение. Тбилиси, 1958.
6. Успенский В. Н. Гистамин. М., 1963.
7. Чирпук А. М. Микроциркуляция. М., 1984.
8. Чилингарян А. М. Журн. экспер. и клин. медицины, 17, 5, 1977.
9. Чилингарян А. М., Мелконян Н. Н. Биол. ж. Армении, 39, 1, 1986.
10. Heisig K., Stemsler S. Bibl anat., 9, 55—60. Page, 1967.

Поступило 12.VI 1986 г.

РОЛЬ МЕДИАЛЬНОГО ЯДРА МИНДАЛИНЫ В АКТИВНОМ ИЗБЕГАНИИ У КРЫС

Д. А. ЛОКЯН, Г. М. КАЗАРЯН, К. Н. ГЕВОРКЯН, Л. С. ГАМБАРЯН

Институт зоологии АН Армянской ССР, Ереван

Ключевые слова: условный рефлекс активного избегания, миндалина.

Результаты многочисленных исследований, посвященных изучению миндаля, подтверждают большое многообразие ее функций, которые до настоящего времени остаются не до конца выясненными [4, 6, 8, 10 и др.]. В настоящее время внимание исследователей привлекает изучение роли миндалевидного комплекса в оборонительных реакциях [1, 5—9, 11]. Однако полученные результаты зачастую противоречивы и не дают ответа на вопрос о роли отдельных ядер миндалины в оборонительном поведении животных.

Нам была поставлена задача изучить роль медиального ядра миндалины в реакциях активного избегания у крыс.

Материал и методика. Опыты были поставлены на 40 белых беспородных крысах-самках массой 150—200 г. Были проведены 2 серии экспериментов. В первой изучалась динамика выработки условных реакций избегания у питающихся (20 крыс), аминдалотомизированных (16) и ложноперицирированных (4) животных, во второй из 20-ти животных, предварительно обученных навыку избегания у 16-ти производилось билатеральное электролитическое повреждение медиального ядра миндалины, у 4-х крыс—ложная операция.

Электролитическое повреждение медиального ядра миндалины производилось током 1,5 мА в течение 20 с по стереотаксическим координатам атласа мозга крысы [13]: $A = -1,0$, $H = -9,5$, $-3,5$.

Выработку условных реакций активного избегания проводили в специальной камере, представляющей собой продолговатый ящик с электродным полом. На одном конце камеры находилась стартовая площадка, на другом—педаль. Расстояние между ними составляло 40 см. Крысы обучались на сигнал (звонок) подбегать к педали и нажимать на нее для выключения тока, подаваемого в пол камеры. Если условно-рефлекторная реакция побежки и нажатия на педаль осуществлялась в течение индуцированного действия условного сигнала (3 с), то животные вообще избегали действия тока. Продолжительность действия стимулирующего тока—10 с. Пороговые значения тока подбирали индивидуально для каждой крысы и в среднем составляли 20—25 В. В каждом опыте применяли 10 сочетаний с интервалом между ними 5—8 мин.

При анализе результатов экспериментов учитывали следующие показатели: количество проб, необходимых для выработки условных реакций, латентные периоды условных реакций, количество правильно выполненных реакций. Результаты опытов обрабатывали статистически с использованием критерия Стьюдента.

По завершении экспериментов животных забивали, мозг извлекали и фиксировали в 10%-ном фермалине для последующей гистологической обработки (окраска гематоксилином-эозином) с целью определения локализации и объема повреждения амигдалы.

Результаты и обсуждение. Результаты опытов показали, что непитающиеся животные очень быстро обучались реакциям активного избегания, в среднем на 1—2-м применении тока. Уже с первых проб при

подаче тока крысы довольно легко находили педаль и нажимали на нее. В дальнейшем, при повторении сочетаний условного сигнала с болевым подкреплением они все легче и быстрее осуществляли оборонительную реакцию. В среднем эта реакция закреплялась на 14-м сочетании. Латентные периоды условных реакций у интактных животных в среднем составляли $0,75 \pm 0,12$ с.

У животных с поврежденным медиальным ядром миндаловидной процесс обучения условным реакциям избегания проходил со значительными нарушениями. После подачи тока в электродный пол они начинали метаться по камере, с трудом находили педаль. Постепенно защитная реакция у них закреплялась (в среднем на $48,3 \pm 2,7$ пробах), однако не достигала 100%, оставаясь до конца экспериментов (30 дней) на уровне в среднем 81,2%. Латентные периоды условных реакций у оперированных животных составляли в среднем $1,1 \pm 0,2$ с.

У ложнооперированных животных реакция активного избегания вырабатывалась с такой же скоростью, как и у интактных животных, и осуществлялась с такими же латентными периодами.

В другой серии экспериментов повреждение медиального ядра миндаловидной производили после закрепления условных реакций активного избегания. В этот период животные выполняли условные реакции в 100% случаев в период подачи условного сигнала и практически не получали болевого подкрепления.

Билатеральное электролитическое повреждение медиального ядра миндаловидной приводило к нарушению условнорефлекторной деятельности в первые дни после операции. Так, количество правильных ответов в первый день опытов после операции снижалось до 78,4%, значительно возрастали и латентные периоды, в первые дни после операции крысы чаще всего не успевали нажать на педаль до подачи тока в электродный пол, и лишь безусловное подкрепление вынуждало их совершать условные реакции. На 3—4-й день после операции условнорефлекторная реакция восстанавливалась полностью и крысы выполняли заученные действия с прежней точностью, незначительно увеличенными оставались лишь латентные периоды условных реакций.

Таким образом, сохранение целостности миндаловидного комплекса (в частности, его медиального ядра) необходимо для выработки оборонительных реакций активного избегания животных.

Нарушения в выработке оборонительных реакций могут иметь различное объяснение. С одной стороны, они могут быть обусловлены повреждением «зоны страха» [12], либо эмоциональной недостаточностью [9], с другой — амигдала, по-видимому, играет важную роль в механизмах замыкания временной связи по системе «кора—подкорка—кора» [3], и повреждение ее приводит к нарушению механизмов оценки условных сигналов, сличения поступающей от наличного сигнала информации с имеющейся в аппарате памяти и программирования поведения [7]. К подобному выводу приходят и Данилова с соавт. [5], исследования которых показали, что после разрушения амигдалы условный раздражитель с трудом приобретает сигнальное значение.

«рат» аших исследованиях было показано также, что повреждение амигдалы у животных с хорошо закрепленными оборонительными реакциями избегания не приводит к нарушениям в условнорефлекторной деятельности. У таких животных выполнение условных рефлексов связано не с мотивацией страха, а обусловлено иными условнорефлекторными механизмами.

Таким образом, повреждение медиального ядра амигдалы у крыс приводит к нарушению процесса формирования условных реакций активного избегания. Амигдалотомия у животных с закрепленными условными реакциями избегания вызывает незначительные и быстро проходящие нарушения в условнорефлекторной деятельности крыс.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адамцетс Л. Х., Дитрих М. Е. Журн. высш. нервн. деят., 15, 1, 86—95, 1965.
2. Богач П. Г., Маркарчук Н. Е., Чайченко Г. М. Тез. и реф. докл. XXVI Совец. по проблемам ВНД, 74, Л., 1981.
3. Гамбарян Л. С. О функционально-анатомической структуре условного двигательного рефлекса. 43, Ереван, 1959.
4. Гамбарян Л. С., Казарян Г. М., Гарибян А. А. Амигдала. 147, Ереван, 1981.
5. Данилова Л. К., Перфильев С. Н., Костяева О. В. Журн. высш. нервн. деят., 34, 6, 1048—1056, 1984.
6. Ильяченко Р. Ю., Гилинский М. А., Лоскутова Л. В. и др. Миндалевидный комплекс (связи, поведение, память). 227, Новосибирск, 1981.
7. Казарян Г. М. Канд. дисс., 176, Ереван, 1978.
8. Пигарева М. Л. Лимбические механизмы переключения (гипоталам и амигдала) 126, М., 1978.
9. Симонов П. В., Пигарева М. Л., Бразовская Ф. А. Журн. высш. нервн. деят., 25, 2, 350—355, 1975.
10. Чепурнов С. А., Чепуркова Н. Е. Миндалевидный комплекс мозга. 251, М., 1981.
11. Черкас В. А. Журн. высш. нервн. деят., 17, 1, 70—77, 1967.
12. Mishkin M., Aggleton J. In: The amygdaloid complex. IN: IERM Symposium, 20, 409, Amsterdam—New York—Oxford, 1961.
13. Pellegrino L. J., Cushman A. J. A Stereotaxic atlas of the rat brain, New York, 1968.

Поступило 18.III 1986 г.

Биолог. ж. Армении, т. 40, № 5, 409—412, 1987

УДК 612.82

ТОПОГРАФИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕМПЕРАТУРЫ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ

Р. А. АРУТЮНЯН

Институт физиологии им. Л. А. Орбели АН Арм. ССР, Ереван

Ключевые слова: терморегуляция, топографические особенности, мышц скелетных.

Ряд литературных данных [1, 2, 6, 7] показывает, что различные группы скелетных мышц в процессе теплопродукции играют не одинаковую роль. Так, экспериментами Ивакова и др. [2—5, 7] установлено, что у собак, кроликов и белых крыс как при голодовой дрожи, так и во время терморегуляционного тонуса мышцы проксимального отдела (шейные и височные) характеризуются более высокой электрической актив-

ностью и более интенсивным потреблением кислорода, чем мышца на дистального отдела организма (мышцы спины и бедра). В связи с этим представлялось важным определение температурных изменений отдельных групп скелетных мышц, играющих важную роль в процессе химической терморегуляции организма как в пределах термонейтральной зоны, так и ниже этой зоны.

Материал и методика. С помощью медно-константановых термопар у неанестезированных кроликов одновременно регистрировали изменения температуры различных групп скелетных мышц в области шеи (трапециевидная и ромбовидная мышцы), спины (длиннейшая мышца) и бедра (двуглавая мышца и прямая головка четырехглавой мышцы бедра), а также температуру прямой кишки и ушных раковин.

Перед каждым опытом с помощью игловидных электродов «рабочие» спай термопар, регистрирующие мышечную температуру, вводили внутримышечно на глубину 2 см, а термопару, регистрирующую температуру прямой кишки, — на глубину 6 см. «Рабочие» спай термопар, измеряющие температуру кожи ушных раковин, прикрепляли перед каждым опытом с помощью липкого пластыря и коллодия. «Свободные» спай термопар помещали в ультратермостат типа У-10, где поддерживалась эталонная температура.

Запись температуры исследуемых точек производили в течение всего опыта 12-канальным самопишущим потенциометром типа ЭПП-09-МЗ, который был подключен к выходу фотоэлектрического усилителя типа Ф-116/2 с чувствительностью измерения температуры $0,02^\circ$ для мышц и прямой кишки и $0,1^\circ$ для кожи ушных раковин и термодатчиков.

Опыты проводили в двух сериях: в первой — регистрировали температурные изменения в указанных группах скелетных мышц и температуру прямой кишки, кожи ушных раковин в пределах термонейтральной зоны (в среднем 25°), а во второй — в условиях среды ниже термонейтральной зоны (в среднем 19°).

Во время каждого опыта животное находилось в «спешальной» стационарно устанавливаемой свободе движений, но позволяющей сохранять естественную позу без какого-либо эмоционального напряжения. Регистрацию температурных изменений в каждом опыте производили непрерывно в течение 30—50 минут. Работа выполнена на 13 кроликах, всего поставлено 34 опыта.

Результаты и обсуждение. Полученные данные показывают, что в пределах термонейтральной зоны из различных групп скелетных мышц самую высокую температуру имеют мышцы шейного отдела тела. Средняя температура этих мышц на $0,14$ — $0,16^\circ$ выше, чем средняя температура мышц спины и бедра (табл.). Хотя поперечнополосатая мышца входит в состав «ядра» организма и имеет «постоянную» температуру, однако это «постоянство», как показывают данные таблицы, относительно и в пределах термонейтральной зоны окружающей среды может колебаться. Кроме того, установлено, что в пределах термонейтральной зоны температура в шейных, спинных и бедренных мышцах на $0,22$ — $0,38^\circ$ ниже температуры прямой кишки.

Результатами второй серии экспериментов установлено, что сниженные температуры среды термонейтральной зоны в среднем на 6° снижает температуру бедренных мышц в среднем на $0,08^\circ$, мышц спины на $0,44^\circ$, а температура шейных мышц, наоборот, повышается и превышает температуру мышц бедра и спины на $0,42$ и $0,75^\circ$, что статистически достоверно ($P < 0,001$).

Данные таблицы показывают также, что при колебании температуры среды от 17 до 22° температура в шейных мышцах колеблется в пре-

Температурные показатели в скелетных мышцах, прямой кишке и коже ушных раковин при температуре среды 25 и 19°

Показатели	Температура					термокамеры
	шейные мышцы (M ₁)	мышцы спины (M ₂)	мышцы бедра (M ₃)	прямой кишечник (M ₄)	кожа ушных раковин	
M ₁ +m	38.41± 0.212	38.27± 0.296	38.25± 0.253	39.63± 0.227	34.77± 0.604 35.41± 0.596	25.6±1.5 (22-28)
Колебание	37.9— 39.5	37.1— 39.3	37.5— 39.4	37.7— 39.4	—	
Значение P между показателями M ₁ , M ₂ и M ₃ P > 0.05						
M ₁ +m	38.59± 0.127	37.83± 0.138	38.17± 0.079	38.43± 0.106	28.41± 0.73 28.82± 0.80	19.2±0.33 (17-22)
Колебание	37.1— 39.6	36.3— 38.8	37.4— 38.9	37.3— 39.4	—	

Значение между показателями M₁ и M₂ P = 0.001, M₁ и M₄

P < 0.01, M₂ и M₃ P < 0.05, M₂ и M₄ P < 0.05, M₃ и M₄ P < 0.05.

делах 37,1—39,6°, в мышцах спины — 36,3—38,8°, в мышцах бедра — 37,4—38,9°. При этом если в условиях температуры среды ниже термонейтральной зоны температура шейных мышц превышает таковую прямой кишки в среднем на 0,16°, то температура мышц спины и бедра оказывается ниже прямой кишки в среднем на 0,26—0,6°, что статистически достоверно (P < 0,05). Температура кожи ушных раковин в этих условиях составляет 28,41 ± 0,73° и 28,82 ± 0,8°.

Полученные результаты позволяют заключить, что хотя скелетная мускулатура составляет часть «ядра» организма и имеет постоянную температуру, это постоянство относительно и в пределах термонейтральной зоны колеблется в пределах 1,6—2,2°, а в условиях температуры среды ниже нейтральной зоны от 1,5 до 2,5°.

Одновременно можно заключить, что в пределах термонейтральной зоны мышцы проксимального отдела тела (шейные мышцы) имеют более высокую температуру, чем мышцы дистального отдела тела (спины и бедра). Это объясняется тем, что мышцы проксимального отдела тела имеют более высокую сократительную активность и в общей теплообразовательной функции скелетной мускулатуры их тепловая эффективность выше, чем у мышц дистального отдела тела. Это подтверждается литературными данными [2—5], согласно которым при прочих равных условиях частота и напряжение биопотенциалов имеют наибольшие значения в оральных отделах тела и наименьшие — в мышцах конечностей.

Из полученных данных следует также, что в условиях температуры среды ниже термонейтральной зоны терморегуляторный тонус шейных мышц повышается больше, чем у других, и превышает ее на $0,16^{\circ}$. Этот интересный феномен следует объяснить с точки зрения механизма температурной компенсации. Действительно, снижение температуры, а следовательно, и теплообразование в мышцах бедра и спины компенсируются усилением теплообразования и повышением температуры внутришейных мышц. Такое заключение согласуется с данными Баженова [1], показавшего, что температурная компенсация обеспечивается перераспределением теплообразования между отдельными группами мышц.

Таким образом, полученные нами результаты еще раз подтверждают данные Иванова и сотр. в том, что наибольшее значение в химической терморегуляции имеют мышцы проксимального отдела тела. Физиологический смысл этого явления, вероятно, заключается в следующем: мышцы проксимального отдела тела, располагаясь близко к мозгу, обладают относительно короткими венозными магистральями, что позволяет им без потерь доставлять тепло в центры терморегуляции для регулирования установочной точки (Set-point) и поддержания общего температурного гомеостаза организма, в то время как из дистально расположенных мышц вследствие большей протяженности кровеносных путей потери тепла будут значительными.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баженов Ю. И. В сб.: Температурная компенсация и поведенческий гомеостазис. 10—24, Л., 1980.
2. Иванов К. П. Мышечная система и химическая терморегуляция. 175, Л., 1965.
3. Иванов К. П. Руководство по физиологии. Физиология терморегуляции. Л., 1984.
4. Иванов К. П., Слюмин А. Д. Физиол. ж. СССР, 56, 12, 1828, 1970.
5. Иванова К. П., Гкаченко Е. Я., Якименко М. А. Физиол. ж. СССР, 56, 10, 1438, 1970.
6. Гкаченко Е. Я., Иванов К. П. Физиол. ж. СССР, 57, 1, 111, 1971.
7. Якименко М. А. Физиол. ж. СССР, 56, 12, 1970.

Поступило 16.VII 1986 г.

Биолог. ж. Армения, т. 40, № 5, 412—416, 1987

УДК 595.752

НОВЫЕ ДАННЫЕ ПО МОРФОЛОГИИ *PALAEOLECANIUM BITUBERCULATUM* (TARG.) (НОМОПТЕРА СОСКОИДЕА)

А. Г. БАБАЯН, Г. А. БАБАЯН

Институт защиты растений Госагропрома Армянской ССР, пос. Мерицван

Ключевые слова: ложнощитовка боярышниковая, морфология.

В условиях АрмССР боярышниковая ложнощитовка распространена во всех плодородческих зонах. Из-за сильного заражения вредителем в некоторых хозяйствах яблоневые сады высыхают.

В настоящем сообщении описаны стадии развития боярышниковой ложнощитовки по микроскопическим признакам, недостаточно освещенным в литературе [1, 2].

Молодая оплодотворенная самка.—Тело овально-округлой формы, по всей длине проходят 5 поперечно расположенных полосок красно-коричневого цвета, которые по краям постепенно расширяются. Длина—1,31 мм, ширина—0,8 мм. Усики 7-члениковые, третий и четвертый слиты. Длина члеников: I—10,2; II—20,4, III и IV—51; V—15,3; VI—7,6; VII—20,4 мк. Ноги тонкие, длина отделов задних ног: тазик—41,2, бедро с вертлугом—79, голень—76,5, лапка без коготка—17,5 мк. Коготковые пальчики разные, один явно толще другого, оба к концу расширены. Дыхальцевые бороздки шириной 1—2 желез. Железы пятиячечные, диаметр 5,1 мк. Число железок 3—15. Дыхальцевые шипики по сравнению с краевыми более широкие и менее острые. Длина—10,2 мк, средний шипик несколько крупнее двух боковых. Краевые шипики острокопечные, размеры их в разных частях тела варьируют от 10,2 до 17,5 мк. Анальное кольцо с двумя парами округлых пор и шестью щетинками, по три с каждой стороны. Длина щетинок—112—127,5 мк. Анальные пластинки удлиненные, 137,9 мк, на конце их имеется хвостовой волосок. На них имеется по три волоска. На брюшной части нижней стороны тела, на каждом стерните брюшка, расположены многоячечные железы. Они встречаются также у основания усиков, у гызиков ног. Имеют округлую форму диаметром 4,2—6,8 мк. На верхней и нижней стороне тела имеются цилиндрические железы. Они не однородны, на верхней стороне они меньших размеров. С нижней стороны тела цилиндрические железы окаймляют прикрашенную область, прерываясь только у анальных пластинок. Щетинки тела многочисленны, расположены по периферии вентральной части тела, через каждые 2—3 краевые щетинки. Щетинки имеются у основания усиков, тазиков ног, на стернитах брюшка. Длина брюшковых щетинок до 4,6 мк. У основания конечностей—3,5 мк, на периферии—4,4 мк (рис. 1, 2).

Личинка I стадии—тело овальное, имеет желтовато-светло-зеленую окраску. Длина тела до 1,01 мм, ширина—0,5 мм. Усики семичлениковые, третий и четвертый слиты. Длина члеников: I—6; II—7; III и IV—14; V—7,8; VI—8,7; VII—13,9 мк. На усиках имеется большое количество волосков. Ноги хорошо развиты. Длина отделов задних ног: тазик—13,9, бедро с вертлугом—29,6, голень—24,4, лапка без коготка—15,7 мк. Коготковые пальчики разные, один толще другого. Дыхальца мелкие, округлые. Перитрема передних дыхалец имеет длину 2,5 мк. Дыхальцевые бороздки состоят из 3—4 пятиячечных желез диаметром 0,5—0,8 мк. Дыхальцевые шипики по сравнению с краевыми шире и крупнее, длина 5,2 мк, средние шипики несколько крупнее боковых. Вдоль края тела расположены краевые шипики, они тонкие, несколько изогнуты в конце, длина 3,5 мк. Расстояние между шипиками в 2—4 раза превышает длину шипиков. На нижней стороне тела находятся различные шипики и волоски. Анальное кольцо округлое с расположенными на ней тремя парами щетинок длиной до 19 мк. Анальные пластинки удлиненные, 20,9 мк. На конце пластинок имеются хвостатые щетинки до 79 мк. На дорзальной стороне тела находятся двуячечные железы длиной 3,5 мк, расположены в ряд ближе к центру (рис. 1, б).

Личинка II стадии самки имеет овально-округлую форму, светло-

бурого цвета. Длина тела 1,5 мм, ширина—0,8 мм. Усики 7-члениковые, третий и четвертый слиты. Длина члеников усиков: I—7, II—8,5; III и IV—15; V—8,7; VI—7,8, VII—13 мк. Ноги средней толщины, хорошо развиты. Длина отделов задних ног: таз—15,7; бедро с вертлугом—31,8; голень—26,1; ланка без коготка—16,3 мк. Коготковые пальчики, разные, один толще другого. На ногах имеются щетинки различной дли-

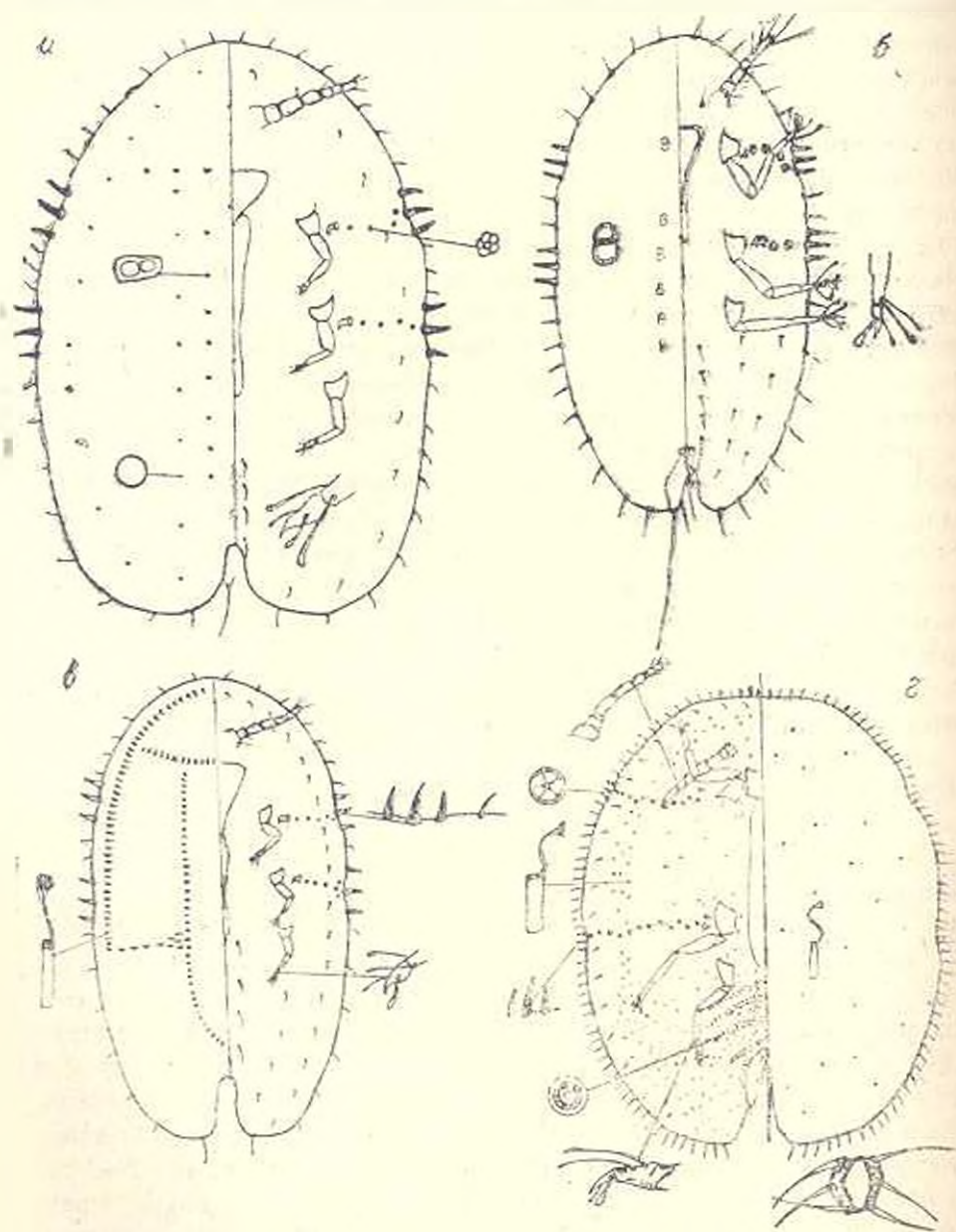


Рис 1 а. Личинка II стадии самки *Palaeolecanium bituberculatum* (Targ.)
б. личинка I стадии; в. личинка II стадии самца; г. молодая оплодотворенная самка.

и голщины. Длина перитрем задних дыхалец 7 мк. Дыхальцевые бороздки узкие, усеяны пятяченстыми железами диаметром 0,85 мк. Дыхальцевых шипиков в каждой группе по трн. По сравнению с крае-

ыми они шире и крупнее, длина среднего шипика 6,1 мк, боковых—3,6 мк. Длина краевых шипиков—2,9 мк. По периферии нижней стороны тела расположены волоски длиной 2,5 мк. В брюшной части имеются также волоски длиной 2,9 мк. На дорзальной стороне тела по периферии и в середине имеются одноклетчатые железы диаметром 0,7 мк. В средней части расположены двухклетчатые железы диаметром 3,1 мк. Анальное кольцо округлое с расположенными на нем тремя парами щетинок длиной 3,1 мк. Анальные пластинки удлиненные, 27 мк, на конце имеется хвостовая щетинка длиной 72,5 мк (рис. 1, а).

Личинка II стадии самца овальной формы, светло-желтого цвета, достигает в длину 1,45 мм, ширину—0,76 мм. Усики 6-члениковые, длина члеников: I—5; II—12; III—10; IV—9,5; V—7,8; VI—14 мк. На усиках имеются различной длины волоски. Ноги средней толщины. Длина отделов задних ног: тазик—17, бедро с пертлугом—43,5, голень—29,6, лапка без коготка—20,9 мк. Коготковые пальчики разные. Имеются различные волоски и шипики. Дыхальца округлые. Перитрема длиной 5,2 мк. Дыхальцевая бороздка узкая, с 10—13 дыхальцевыми железами диаметром 0,8 мк. Дыхальцевые шипики по сравнению с краевыми широкие, слегка притупленные, длиной 5,2 мк. Краевые шипики более острые и толстые, несколько загнуты на конце, длина 4,3 мк. Расстояние между краевыми шипиками в 6—7 раз превышает длину шипиков. На заднем конце тела шипики чуть крупнее, чем в верхнем. Анальное кольцо округлое с 6-ю щетинками. По периферии анального кольца расположены анальные поры. Анальные пластинки удлиненные, 26,1 мк. На конце каждой пластинки имеется по щетинке, 7,8 мк. На нижней стороне тела по краям и ближе к центру находятся шипики различных размеров. На верхней стороне упорядоченно расположены цилиндрические железы. Диаметр—1,2 мк, длина—3,5 мк, длина отростка—1,7 мк (рис. 1, в).



Рис. 2. Щиток нимф самца *Palaeolecanium bituberculatum* (Targ.).

Яйцо овальное, светло-оранжевое, цвета мяса. Покрыто тонким мучнистым налетом белого цвета, длина—0,5 мм, ширина—0,15 мм.

Щиток нимфы самца имеет овально-выпуклую форму, состоит из пластинок, покрытых маленькими кусочками прозрачного воска. Длина—1.56 ширина—0.74 мм. (рис. 2).

Самец красно-коричневого цвета, передние крылья хорошо развиты, задние—редуцированы. Глаз 3 пары.

ЛИТЕРАТУРА

1. Борхсениус Н. Г. Фауна СССР. Насекомые хоботные, 9, М.—Л., 1957.
2. Хаджибеян З. К. Кокиды субтропической зоны Грузии. Тбилиси, 1983.

Поступило 5/II 1987 г.

ДРЕВНИЙ «ФИЗИОЛОГ» в «КНИГЕ ПРОПОВЕДЕЙ» ВАРФОЛОМЕЯ БОЛОНСКОГО (XIV в.)

Н. Н. МАНУКЯН

Институт древних рукописей им. М. Маштоца, Матенадаран, Ереван

В начале XIV в. в Армению со специальной миссией Ватикана приехал епископ Варфоломей из Болоньи. В Нахичеванском округе в местечке Крна он основал католический монастырь и развил бурную деятельность для привлечения армян к католической церкви.

Однако Варфоломей Болонский (он же Марагаш, Марагинский) был не только церковным деятелем, но и выдающимся ученым и писателем. Творчеством Варфоломея в последние десятилетия интенсивно занимаются медиэвисты. С. С. Аревшатином исследованы его труды по философии и логике [1]. В 1331 г. Варфоломеем была написана «Книга проповедей», которая существенно отличается от всех предыдущих его трудов. Она представляет собой как бы «союз художественной литературы с теологией и натурфилософией». В своих проповедях Варфоломей использовал сотни притч и бесед, которые впоследствии полюбил армянский народ и включил в свой фольклор, в «Сборники притч Вардана» («Անկառն գիրք») и армянскую литературу.

Знаменитый сборник притч и бесед был одним из основных источников, которым пользовался Варфоломей при написании своей «Книги проповедей». «Физиолог» был составлен во II—III вв н. э. на греческом языке. В дальнейшем он был переведен на многие языки мира. В V—VII вв «Физиолог» перевели на армянский язык и многие древнеармянские авторы—Агатаңгелос, Езник Кохбаш, Давид Анахт, Ованес Ерзнкаци, Вардан Айгекци и др.—использовали его тексты в своих трудах. Тем самым он стал неделимой частью древнеармянской книжности. Варфоломей Болонский использовал латинский вариант «Физиолога», но при написании своих проповедей с помощью своего помощника и редактора Акопа Крнеци пользовался текстами армянского «Физиолога», дабы не проделывать двойную работу, и с латинского языка перевел только те притчи и беседы, которые отсутствовали в армянском переводе, тем самым внося свой вклад в армянский перевод «Физиолога». Притчи «Тщеславный павлин», «Салфир», «Обезьяна и охот-

ники», «Как поймать медведя», «Об орлах», «Свойства алмаза», «Голубь и коршун» и др. впервые стали известны в Армении из «Книги проповедей» Варфоломея Болонского.

Притчи о животных он использовал в своих проповедях с поучительной целью, снабдив их своими нравоучениями. Таким образом, притчи, взятые из армянского «Физиолога», совпадают с притчами его «Книги проповедей» по содержанию, но отличаются моралью.

В притчах «Физиолога» рассказывается о жизни пернатых и насекомых: голубях, коршунах, орлах, зимородке, пеликане, павлине, пчелах и т. д.; о домашних и диких животных: собаках, серне, волке, еже, льве, пантере и т. д.; рыбах и пресмыкающихся: акуле, форели, рыба-прилипала, рыба-миле, раковине, змеях и т. д. [4]; использованы фантастические рассказы о животных и растениях: сиренах, каладрионе, перидексии, фениксе, алтione, василиске (*שרשור*), аваласане, экинесе и т. д. [5]*; иносказательные басни: «Торговец рыбой и лесом», «Птенцы аиста», «Тщеславный павлин», «Целомудрие аиста» [6] и т. д.

Содержание притчи Варфоломей трактует очень своеобразно, иногда даже вразрез с ее основным смыслом, так, как ему необходимо в данном контексте. К примеру, в притчах о голубях, где рассказывается об их повадках в природе, в одном случае он сравнивает его со святой Богородицей, в другом — с библейским Ионатаном, подчеркивая чистоту, невинность, беззащитность Марии и умение скрыться вовремя от преследований сатаны, Ионатана: «Ионатан в переводе означает голубь или милосердный. Говорят мудрецы, что у голубей есть (такое) свойство, (что) они, сидя на берегу реки, могут в речной воде увидеть (отражение) хищного ястреба. И (если) за рекой в скале есть расселина, то (голубь) залетает в эту расселину и прячется там от хищного ястреба» [7].

Рассказывая об орлах, автор описывает их умение высоко парить в небесах, проводя аналогию с вознесением Богородицы, а обычай орлов делиться добычей с другими птицами сравнивает с тем, что Мария отдала своего сына на заклание во спасение человечества. В ином примере свойство орла защищать грудью птенцов от охотников он сравнивает с тем, как защищает Мария истинных христиан от великого божественного гнева. Благородные орлы сравниваются также с женами мироносицами, которые делятся с верующими святой миррой. Рассказывая о том, как орел откладывает яйца и выводит птенцов, Варфоломей сравнивает орла с Богом-отцом, его гнездо — с церковью, а птенцов — с верующими, собирающимися в ней. Содержание притчи очень интересно: «Говорят мудрецы, что орел, желавший сесть на яйца, чтобы вывести птенцов, имеет два недостатка, из-за которых птенцы вылупляются с трудом. Во-первых, по натуре он очень горяч, из-за чего яички сторают, и во-вторых, (он) с большим трудом откармливает (своих) птенцов. Говорят, по этой причине, орел улетает (в дальние края) в поисках драгоценного камня, в котором есть капелька крови

* Сирена — мифическая птица, каладрион (греч.) — дикая птица, перидексий — священное дерево в Индии; феникс — мифическая птица, алтione — зимородок, василиск — царь змей; аваласан — пеликан, экинсе — прилипала.

и другого, (также) драгоценного, камня и кладет эти два святых камня, прохладных по природе, в (свое) гнездо. Их прохладность не допускает, чтобы орел и яички спеклись, и птенцы вылупляются» [8].

Повадки коршунов, которые вылавливают голубей, то высоко парят и небе, то низко спускаясь к земле, Варфоломей сравнивает с деятельностью сатаны, который ловит в свои сети доверчивых людей.

В притче «Тщеславный павлин» Варфоломей в назидание обращается к священникам, гордящимся многочисленной паствой, призывая почаще оглядываться на свои поступки и в них находить погрешности, как поступает павлин: «Павлин распускает свои перья и не парадуется их красотой, но страшно горюет, когда смотрит на свои ноги, которые очень уродливы» [9].

Раконину, в которой рождается прекрасная жемчужина, Варфоломей сравнивает то с добрыми деяниями, то с Марией, родившей изумительный перл—Христа, то с великим учением, созданным Христом [10].

Свойства форели метать икру в речной воде, поднимаясь из моря вверх по течению, сравниваются с теми христианами, которые живут в грехе, но, совершая добрые дела, искупают их [11].

Описывая природу змей, проповедник отмечает, что голова змеи—самое слабое место, за которое можно ее поймать и убить. Змею он сравнивает с недобрыми советами, которые ведут к маленьким грехам, и необходимо изъять их из себя в самом начале, т. е. размокнуть голову змеи, не то, в противном случае, упругое тело ее ускользнет, т. е. грехи умножатся. Поэтому необходимо с самого начала не принимать недобрые советы близко к сердцу [12].

К притче о львице, которая приносит одного детеныша, но льва, Варфоломей добавляет объяснение, что львица—это Мария, которая родила одно дитя, но сына Бога. Тема рождения львенка затронута в другой притче «Физиолога», где говорится, что он рождается бездыханным, затем лев своим рыком пробуждает его. Варфоломей этот символ сравнивает с воскресением Христа при помощи Бога-отца: «Учителя приводят пример о том, что у льва детеныш рождается мертвым. Но отец рычит над своим детенышем и возрождает его. Но иные говорят, что детеныш льва рождается не совсем мертвым, а как бы мертвым, в котором не чувствуется печати жизни. Но когда отец рычит, то он тогда приходит в сознание и воскресает» [13].

В Средиземном море водится маленькая рыбка, называемая прилипалой (в «Физиологе» ее называют—зклиес). Варфоломей рассказывает случай, происшедший на самом деле: «Говорят мудрецы, что в море водится рыбка (размером) в половину ладони и очень мягонькая. Случается, что рыбка прилипает в пути (ко днищу) корабля и тот тотчас же останавливается. Об этом рассказывают, что римский кесарь спешно отправил посла по морю к другому государю, но в пути к днищу корабля прилипла рыбка и он перестал продвигаться. Не зная причины, все недоумевали. Но был на корабле некий мудрец, который нырнул и, вытащив рыбку, показал ее всем. А корабль в то же мгновение полетел в путь. А любомудры очень удивились свойству этой рыбки и не могли объяснить, почему она такая» [14].

Из другой притчи мы узнаем о существовании маленькой бесстрашной птички-зимородке (Алтионе), которая откладывает яички и выводит птенцов посреди зимы. Варфоломей заимствовал этот рассказ у Аристотеля, а в переводе использовал текст армянского «Физиолога» и «Шестоднева» Василия Кесарийского [15].

Варфоломей вводит в свои проповеди также фантастические рассказы о животных и птицах. В притче «О василиске» (*serpens*) яд в голове змеи от сияния некоей звезды превращается в драгоценный камень [16], в притче о птице-волшебнице Каладрионе ей приписывается умение взглядом излечивать больных [17], в другой притче птица аваласан, расцарапывая грудь когтями, своею кровью воскрешает птенцов, убитых ее врагом — змеем.

В своей «Книге проповедей» Варфоломей использовал армянский вариант этой притчи «Физиолога». В наизидание он сравнивает аваласана с Христом, который своей кровью искупил человеческие грехи.

Рассказ «О сиренах» заимствован им из «Одиссеи» Гомера: «Говорят в море есть животные, имеющие выше пояса обличье красивой женщины, а внизу — орлиные когти. И (они) обладают сладким голосом, ибо мореплаватели, услышав их, засыпают в нетомя. И животные, увидев, что (все) заснуло, приходят и похищают людей с корабля. А унеся, разрывают их и съедают. Но мудрецы (находят) выход. Они затыкают свои уши и привязывают себя к мачте и тем самым спасаются» [18].

В своем нравоучении автор сравнивает сирен с блудницами, привлекавшими к себе мужчин сладкой речью и красотой.

Сказка «О Фениксе», погибавшем в огне и возрождающемся из пепла, который в древней Индии нес в себе идею бога-солнца, использована Варфоломеем для описания воскрешения Христа [19], а индийское волшебное дерево в сказке «О перидекии» он называет спасителем душ христиан, преследуемых сатаной: «Говорят учителя, что в Индии есть дерево, называемое перидекией, очень любимое голубями. Причиной этого является, вытекающий из него, крылатый вишай — враг голубей. А дерево враждует с вишайем, избегаящем его тени. Если тень от дерева (падает) на запад, то (вишай) убегает) на восток, а если на восток, то (убегает) на запад. По этой причине голуби садятся на ствол (дерева), едят его плоды и отдыхают в его тени. (Но если они отлетают), то вишай ловит их» [20].

Животный мир нашел отражение также и в баснях, взятых Варфоломеем из «Физиолога» и приводимых им в наущение людям. К примеру, в басне «Птенцы анста» рассказывается о гуманном отношении подросших птенцов анста к состарившимся родителям. Вместо морали Варфоломей восклицает: «А как было бы хорошо, если бы и дети людей поступали бы так же!» [21].

Анст по природе невероятно целомудрен не только по отношению к родителям, но и в супружеской жизни. Автор проповедей записал басню «Целомудрие анста», где рассказывается о невероятном случае безвишней измены анстихи и жестокой расправе с ней всей стаей анстов, и поучает людей побивать блудниц камнями [22].

Неизвестно когда прибывшая на землю Армении и всем нам с детства знакомая басня «Рыболов и лиса» встречается и в «Книге проповедей»: «Говорят, что некий торговец купил поклажу рыбы и, погрузив (на телегу), пошел ее продавать. Лиса же, увидев, возжелала поесть рыбы. Найдя решение, она распростерлась на дороге, как мертвая, чтобы рыботорговец поднял ее и забросил на поклажу. Но торговец проехал (мимо). Вдохнув, лиса снова распростерлась на дороге, как и в первый раз. Теперь же рыботорговец поднял ее и, не предполагая, что это та же самая лиса, вернулся подобрать первую, чтобы потом содрать с обеих шкуру. А лиса (тем временем, быстро) начала есть рыбу, насколько успела, а увидев, что человек возвращается, спустилась (с поклажи) и сбежала. А рыботорговец утратил и лис и рыбу». А в нравоучении Варфоломей пишет: «Таковы некоторые люди, возжелавшие епископской славы. Перед людскими очами (они) смиренны и добродетельны, пока не удостоится почестей и должности. А потом начинают беспорядочно есть и пить». [23].

Итак, мы видим, что Варфоломей Болонский использовал в своих проповедях притчи знаменитого «Физиолога» в наизидание людям, и благодаря ему начиная с XIV в. интерес к этому изумительному древнему сборнику притч и басен возродился, тем более что он был значительно исполнен притчами, переведенными автором «Книги проповедей» с латинского языка, которые впоследствии были включены и в армянский «Физиолог» и в «Сборники притч Вардана» и стали достоянием армянского народа.

ЛИТЕРАТУРА

1. С. С. Аревинянц. К истории философских школ средневековой Армении (XIV в.), с. 5—78, Ереван, 1980.
2. Ереванский Матенадаран, рук. № 2184, сс. 25а, 134а, 252б, 176б, № 2185, с. 158б. См. также: рук. № 2233, с. 92б, № 2260, с. 10а, 112а, № 5097, сс. 135б, 133а.
3. Ер. М., рук. № 2184, сс. 204б, 207б, 206а, 162б, 231б, 95б, 94б. См. также: рук. № 2185, сс. 302б, 225б, № 2260, сс. 221а, 235б.
4. Ер. М., рук. № 2184, сс. 133а, 139б, 133а, 156а, 156б, 55а, 134б, 135б, 204б, 221а, 221б. См. также: рук. № 2260, сс. 236а, 236б.
5. Ер. М., рук. № 2184, сс. 140а, 176б, 133б, 252б, 552б, 158б, 552б, 158б, 138б. См. также: рук. № 2260, с. 318а.
6. Ер. М., рук. № 2184, сс. 222б, 212б, 10а, 53б.
7. Там же, с. 134а.
8. Там же, с. 252а.
9. Там же, с. 10а.
10. Там же, с. 156а.
11. Ер. М., рук. № 2260, с. 236а.
12. Ер. М., рук. № 2184, с. 55а.
13. Там же, с. 141б.
14. Там же, с. 139б. См. также: Василий Кесарийский. Беседы на Шестоднев. М., 1891, ч. I, с. 112.
15. Ер. М., рук. № 2184, с. 252б. См. также: Василий Кесарийский. Беседы... М., 1891, ч. I, с. 123; Н. Марр. Сборники притч Вардана, СПб., 1895, ч. II, с. 28б, прилож. 5, с. 16б.
16. Ер. М., рук. № 2184, с. 72а.
17. Там же, с. 241а.

18. Там же, с. 140а.
19. Ер. М., рук. № 2260, с. 318а.
20. Ер. М., рук. № 2185, с. 185б.
21. Ер. М., рук. № 2184, с. 212б. См. также: Н. Марр. Сборники. СПб., ч. II, с. 229.
Василий Кесарийский. Беседы. М., 1891, ч. I, с. 114.
22. Ер. М., рук. № 2184, с. 53б.
23. Там же, с. 222б.

Поступило 17.XI 1986 г.

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКОГО ПОЛЯ НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ МЕМБРАН МИТОХОНДРИЙ КРЫС

Г. Г. АРЦРУНИ, А. С. ТЕР-МАРКОСЯН, К. Г. КИРАКОСЯН

Ереванский медицинский институт, ЦНИЛ, лаборатория биофизики и
молекулярной биологии

Изучались осмотические свойства (показатели проницаемости) и содержание свободных жирных кислот (СЖК)—маркера активности фосфолипазы в митохондриях печени крыс, подвергшихся воздействию электростатического поля (ЭСП) напряженностью 2000 В/см, длительно—стью 1 ч, сутки и 6 суток по 6 ч ежедневно, а также интактных митохондрий, находящихся во время исследований в ЭСП напряженностью 250, 500, 1000, 2000, 3000 и 3500 В/см.

Полученные данные показывают, что суточное воздействие ЭСП приводит к достоверному повышению скорости набухания митохондрий. Тот же показатель после недельного дробного воздействия имеет тенденцию к повышению, а после часового—практически не изменяется. Эти результаты коррелируют с данными о функциональном и структурном состоянии митохондрий после воздействия ЭСП идентичных параметров и дают основания полагать, что выявленные нами ранее сдвиги в какой-то мере являются следствием нарушения проницаемости митохондриальных мембран.

При исследовании осмотических свойств митохондрий в условиях непосредственного действия ЭСП в указанном диапазоне напряженностей не было зарегистрировано статистически достоверной разницы между опытом и контролем. Эти результаты, а также факт неизменчивости проницаемости мембран после кратковременного (часового) воздействия свидетельствуют о том, что влияние ЭСП на осмотические свойства митохондрий является опосредованным.

С целью выявления причин изменения проницаемости мембран митохондрий нами исследовано содержание СЖК в органеллах, что может дать информацию об активности фосфолипазы, локализованной в их мембранах. Результаты этих экспериментов свидетельствуют о повышении содержания СЖК после воздействия ЭСП, при этом прослеживается та же зависимость от длительности воздействия, что и в отношении осмотических свойств. Вероятнее всего, повышение содержания СЖК в митохондриях обусловлено активацией фосфолипазы A_2 . В

пользу этого предположения свидетельствуют результаты экспериментов по определению СЖК после инкубации митохондрий с ионами Ca^{2+} -активатора фосфолипазы A_2 , приводящей к повышению уровня СЖК как в контрольных, так и в опытных пробах, но более значительное повышение имеет место в пробах митохондрий крыс, подвергшихся воздействию ЭСП.

Резюмируя вышесказанное, можно заключить, что воздействие ЭСП приводит к повышению проницаемости митохондриальных мембран, одной из причин которого является активация локализованной в них фосфолипазы.

7 с., 2 табл., библиогр. 16 назв.

Полный текст статьи деп. в ВИННИТИ, № 1014-В87, от 11.11 1987 г.

Поступило 5.I 1987 г.

Биолог. ж. Армении, т. 40, № 5, 424, 1987

УДК 577.154+577.150.5+578.085.23

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ РЕГУЛЯТОРНЫХ ФЕРМЕНТОВ ГЛИКОЛИЗА В ЛИМФОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭСТРАДИОЛОМ

М. С. КАГРАМАНЯН, Л. Г. ЕРОЯН, К. Б. НАЗАРЯН, Б. А. КАЗАРЯН

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР, г. Ереван

Исследовали изменение активности регуляторных ферментов гликолиза при воздействии эстрадиолом 17β на нестимулированные и делящиеся лимфоциты периферической крови человека.

Полученные результаты указывают на повышение активности гликолиза в целом (на 70—80%) в культуре стимулированных фитогемагглютинином лимфоцитов по сравнению с дифференцированными. При этом значение митотического индекса повышается от 16 в контроле до 20 и 33 митозов при концентрации эстрадиола 25 и 50 мкг/мл соответственно, что позволяет сделать вывод о его роли в качестве стимулятора деления.

7 с., библиогр. 5 назв.

Полный текст статьи деп. в ВИННИТИ, № 1015-В87 от 11.11 1987 г.

Поступило 2.XI 1986 г.

ВЛИЯНИЕ НЕЙРОТРОПНЫХ ПРОТИВОЯЗВЕННЫХ СРЕДСТВ НА РАЗЛИЧНЫЕ ВИДЫ ПОРАЖЕНИЙ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Т. Л. ВИРАБЯН

Ереванский медицинский институт, кафедра технологии лекарств

Установлено, что в условиях применения нейрорефлекторных, химических и комбинированных моделей нейродистрофии желудка и его слизистой возникают и развиваются различные морфологические дефекты. Изученные модели различаются не только по степени поражения слизистой, но и соотношением отдельных видов дефектов. Так, сосудистые изменения более выражены проявляются при сочетании карбахолина и резерпина с травматизацией пилорoduоденальной области и генеральной электризацией иммобилизованных животных. Наибольшее количество эрозийных дефектов обнаруживается при пересязке пилоруса и использовании химических методов нейродистрофии. Язвенные поражения больше всего развиваются в условиях сочетания химических и нейрорефлекторных методов.

Путем фармакологического анализа установлено, что в механизмах формирования язвенных дефектов существенную роль играют М-холинореактивные структуры, а в патогенезе сосудистых поражений—Н-холинорецепторы. В патогенезе эрозий, по-видимому, участвуют как М-, так и Н-холинергические образования.

22 с., библиогр. 33 назв.

Полный текст статьи деп. в ВИНТИН, № 1013-В87 от 11.11 1987 г.

Поступило 11.11 1985 г.

ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ЖЕВАТЕЛЬНОЙ МУСКУЛАТУРЫ НЕКОТОРЫХ ХОМЯКООБРАЗНЫХ

Л. Е. ОГАНЕСЯН, Р. С. ПОЛЯКОВА

Ереванский государственный университет, кафедра зоологии,
Зоологический институт АН СССР

Исследованы особенности строения жевательной мускулатуры у представителей подсемейств песчанок, семейства хомякообразных, отряда грызунов в связи с приспособлением к питанию.

Исследованы особенности, форма и размеры мускулатуры 6-ти видов песчанок фауны СССР (4—10 взрослых экземпляров каждого вида), а также двух представителей подсемейства полевок: обыкновенной и водяной. В работе мы отметили те особенности строения жевательной

мускулатуры песчанок, которые специфичны для отдельных видов и могут быть связаны с характером питания.

Выявлены общий характер строения жевательной мускулатуры у видов, относящихся к разным подсемействам одного семейства хомякообразных. В основу описания жевательных мышц положено таковое большой песчанки, для остальных видов приведены имеющиеся различия. Установлено, что при общем плане строения жевательной мускулатуры, свойственном всему надсемейству мышиных, каждый из изученных видов имеет особенности, которые отчасти можно объяснить различиями в функционировании их жевательного аппарата.

Изучение особенностей строения жевательной мускулатуры у видов, принадлежащих к разным подсемействам одного семейства, различающихся характером пищи, даст возможность выявить приспособительные черты в их строении.

Результаты нашего исследования могут служить дополнительным материалом для изучения эволюции данных видов мышевидных грызунов.

с. 14, библиогр. 4 извл.

Подпись текст статьи депонирован в ВИНТИ, № 1223-В87 от 23 II 1987 г. ..

Поступило 11. V 1985 г.

Биолог ж. Армении, т. 40, № 3, 426—427, 1987

УДК 633.11:575.24:631.523

ОБ ИЗМЕНЕНИЯХ В РЕКОМБИНОГЕНЕЗЕ У ГИБРИДОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ МУТАГЕННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ НА МАТЕРИНСКИЙ КОМПОНЕНТ

А. А. ГУЛЯН, Ж. Г. ХАЧАТРЯН

Институт земледелия Госагропрома Армянской ССР

Изучалось влияние предпосевного облучения семян материнского компонента на характер наследования и изменчивости некоторых количественных признаков у мягкой пшеницы в F_1 и F_2 . Материнскими компонентами служили раннеспелый сорт Русалка (Болгария), позднеспелые Норин 2 (Япония) и Флишман (Венгрия), семена которых осенью перед посевом облучались рентгеновскими лучами в дозе 100 Гр. Отцовскими компонентами служили полученные нами среднеспелые мутанты М-922 (исходный сорт Церрос 66) и М-408 (Гейлес). Они различались также по высоте растений, длине колоса и другим признакам.

В F_1 изучалось наследование раннего колошения и некоторых других количественных признаков, а в F_2 —влияние мутагенного воздействия на фенотипическое проявление этих признаков. Контролем служили комбинации, где материнские компоненты не подверглись мутагенному воздействию.

Предварительное облучение семян материнского компонента существенно снижало показатели длины и числа зерен колоса у гибридов

Г₁ и незначительно — высоты растений, а на дату колошения не влияло. В комбинациях раннеспелый × среднеспелый и в ряде комбинаций позднеспелый × среднеспелый наблюдалось промежуточное наследование, а в отдельных случаях — доминирование сроков колошения среднеспелого родителя.

В F₂ за исключением комбинации Русалка × 922, во всех остальных случаях обнаруживалось трансгрессивное расщепление по времени колошения. Мутагенное воздействие почти не изменило эту общую картину, однако замечено существенное влияние облучения на количественное распределение растений по изучаемому признаку и на направленность и степень доминирования. В этом процессе немалую роль играет и специфичность участвующих и скрещиваемых генотипов. Так, в комбинации Норин 2 × М-922 изменилась направленность доминирования в сторону позднеспелости. Достоверность полученных результатов доказана по критерию χ^2 . Установлено, что признак даты колошения во всех комбинациях имеет дигенную детерминацию. Мутагенное воздействие изменяет характер взаимодействия этих генов и фенотипическое проявление раннеспелости. Предварительное облучение лишь в редких случаях изменяло границы изменчивости и средние показатели по высоте растений, длине и продуктивности колоса. Оно привело также к разрыву сцепленности между генами скверхедности колоса и короткостебельности, выявленному в комбинации Норин 2 × М-408.

Таким образом, мутагенное воздействие на материнский компонент оказывает существенное влияние на проявление генов, контролирующих количественные признаки, устраняет сцепленность между отдельными генами, а в ряде случаев изменяет степень и направление доминирования.

9 с., ил., библиогр. 7 назв.

Полный текст статьи деп. в ВИНТИН, № 1012-В87 от 11.11.1987 г.

Поступило 20.X.1986 г.

Биолог. ж. Армения, т. 40, № 5, 427—428, 1987

УДК 633.11:631.524

КОРРЕЛЯЦИИ МЕЖДУ ПРОДУКТИВНОСТЬЮ КОЛОСА И ОПРЕДЕЛЯЮЩИМИ ЕЕ ЭЛЕМЕНТАМИ У ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Г. А. СААКЯН

НИИ земледелия Госагропрома Армянской ССР

На модельной гетерогенной популяции изучена сопряженность между продуктивностью колоса и его отдельными структурными элементами у низко- и высокорослых сортов при различных способах посева (совместный и раздельный посев каждый с площадью питания растений 20×10 см и 20×1,2 см).

Площадь питания растений как сильный фактор внешней среды по-разному влияет на формирование и развитие продуктивности колоса

и определяющие ее отдельные элементы. При густом посеве в результате внутри- и межгенотипической конкуренции, особенно у низкостебельных образцов, наблюдалось существенное снижение показателей массы и числа зерен в колосе (до 38,9 и 32,6% соответственно).

Вычисленные коэффициенты корреляции между указанными признаками показывают, что у всех сортов независимо от площади питания растения и способа посева (совместного или раздельного) наиболее тесно взаимосвязаны масса и число зерен в колосе (от 0,81 до 0,98). Можно полагать, что полученные довольно высокие и стабильные коэффициенты корреляции являются следствием сходного или почти сходного действия и взаимодействия генов, ответственных за формирование и развитие указанных признаков, имеющих почти одинаковую норму реакции к внешним факторам среды.

В отличие от озерненности колоса крупность зерна в различных условиях среды проявляется сравнительно стабильно. Однако теснота и направленность корреляционных связей между продуктивностью колоса и массой 1000 зерен в зависимости от вариантов опыта и генотипа сортов сильно изменчивы (от 0,71 до 0,16). Высокая изменчивость корреляционных связей выявлена и между числом зерен в колосе и массой 1000 зерен (0,55 до —0,39). Подобная картина, по всей вероятности, является результатом различий в ответной реакции коррелирующих признаков на такой важный фактор среды, как площадь питания растений.

Приведенные параметры корреляционной изменчивости выявлены внутри отдельных константных сортов, выращенных раздельно или совместно при различной густоте посева. Довольно высокая изменчивость наблюдалась и при вычислении корреляции между изученными признаками для смешанной гетерогенной популяции. В данном случае изменчивость параметров корреляции связана не с индивидуальной изменчивостью отдельных сортов, а их взаимным, межгенотипическим отношением в популяции.

Анализ сопряженности продуктивности колоса и определяющих ее элементов позволяет заключить, что степень взаимосвязи в большей мере зависит от конкретной пары коррелирующих признаков, чем от генотипа и условий их выращивания. Теснота и направление этих связей могут изменяться в зависимости от генотипа сорта, гетерогенности популяции, способа посева и условий выращивания. В условиях Араратской равнины установлены высокие положительные и довольно стабильные коэффициенты корреляции между массой и числом зерен в колосе (до 0,98) как внутри различных сортов, так и внутри гетерогенной популяции с участием этих же сортов. Рекомендуется это обстоятельство учитывать в селекции на продуктивность, при отборе желательных хозяйственно-ценных образцов.

Вс. библиогр. 20 изв.

Полный текст статьи деп. в ВИНИТИ, № 1221-В87 от 23.11.1987 г.

Поступило 27.VIII.1985 г.