

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ
ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ
ՀԱՆԴԵՍ

БИОЛОГИЧЕСКИЙ
ЖУРНАЛ
АРМЕНИИ

«Հայաստանի կենսաբանական հանդեսը» հրատարակվում է Հայկական ՍՍՀ Գիտությունների ակադեմիայի կողմից և տպագրում է հոգովածներ թատարանության, կենդանաբանության, ֆիզիոլոգիայի, կենսաֆիզիայի, մոլեկուլարանության, զինվորական և բնագետության կենսաբանության ավելի քան 100-ի փոփոխության համար և ունենում է լուսանկարներ:

Տարեկան չափ է տեսնում հանդեսի 12 համար: Բաժանորդարին 1 ծ. 10 կ.: Բաժանորդարությունը լինում է և Սոցիալիստի բյուրո բաժանումներում:

«Биологический журнал Армянской ССР» - научный журнал, издаваемый Академией наук Армянской ССР, публикует оригинальные статьи по ботанике, зоологии, физиологии, биохимии, микробиологии, генетике и другим отраслям жизни 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 представить по всем отделам биологических

Խմբագրական կոլեկտիվ՝ Է. Գ. Աֆրիկյան (գլխավոր խմբագիր), Ս. Մ. Ավագյան, Վ. Խ. Ավետիսյան, Հ. Գ. Բակրաբադյան, Ա. Ե. Կալաշյան (գլխավոր խմբագրի տեղակալ), Մ. Ա. Գալսթյան, Փ. Ի. Հակոբյան, Ե. Ս. Հարությունյան (սպասարկականության ծառայության), Բ. Մ. Հարությունյան, Վ. Հ. Կարաբաբյան, Ս. Հ. Մանուկյան:

Խմբագրական խորհուրդ՝ Է. Գ. Աֆրիկյան (նախագահ), Ե. Ե. Ակրաժեպեթի, Վ. Ե. Աղաջարյան, Հ. Ս. Ավետիսյան, Գ. Ե. Բարսեղյան, Է. Ս. Կարաբաբյան, Ա. Ա. Կալաշյան, Ա. Է. Կալաշյան, Փ. Ա. Կարաբաբյան, Ս. Ի. Կարաբաբյան, Մ. Ի. Հակոբյան, Է. Հ. Հակոբյան, Է. Ս. Կարաբաբյան, Ա. Ա. Կարաբաբյան, Ս. Ե. Կարաբաբյան, Ե. Ս. Կարաբաբյան:

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

Редакционный совет: Э. К. Африкян (председатель), А. С. Аветилян, В. И. Атабасян, Н. И. Акрамовский, Л. И. Бабян, Э. Ц. Габриелян, А. А. Галоян, Л. С. Гамбарян, С. К. Карапетян, А. А. Матешко, М. Г. Оганесян, Л. Л. Ошлян, К. С. Никосян, А. Л. Тахтаджян, П. А. Хуршудян, М. Х. Чайлахян.

Հաղվածներ

- Քաղաքացիական Ս. Ն., Սոյնհարկեցկայա Ս. Ն., Ռիմակով Մ. Կ. Միջատակերների և զիշատիչների ուղեղի ինտեգրատիվ գործունեության մեջ հիպոկամպի գերի համեմատական-ֆիզիոլոգիական ուսումնասիրությունը. 521
- Խուլավերյան Գ. Ն., Հաջաբյան Հ. Ա., Սաֆարյան Լ. Ա. Կատուների ողնուղեղի հետադարձ արգելակումը փորձարարական թերկալցիումարյունության պայմաններում 533
- Պարոնյան Բ. Ա., Աղունց Է. Գ., Ապրիկյան Գ. Վ., Հախվերդյան Է. Ա. Մերագման բեթադրոմ սաթաթթվի և օ-կետոգլուտարաթթվի օքսիդացումը ուղեղի որոշ մասերում և ճեղքաբջջին տարրերում. 537
- Նևսիսյան Ի. Ի., Աղունց Գ. Բ. Թթու ֆոսֆատազաները և անօրգանական պիրոֆոսֆատազան առնետների զիշուղեղի հեթարջային գոյացություններում. 542
- Լևոնյան Կ. Լ., Մանուկյան Կ. Հ. Առնետների սրտից անջատված պրոտեոլիպիդների ֆոսֆոլիպիդային կազմը. 546
- Սարկիսովա Գ. Մ., Սաֆարյան Լ. Վ., Սոզկի Ս. Պ., Պողոսյան Գ. Յ., Չուխաբյան Գ. Ա. Ցերեբրոգիդների երկարատև ներարկման ազդեցությունը սուկցինատդեհորոգենազայի ակտիվության վրա առնետների լյարդում և սրտամկանում. 550
- Կալիբանյան Մ. Ա. Վերապամիի ազդեցությունը միոկարդի միոֆիբրիլյար սպիտակուցի ֆիզիկա-քիմիական հատկությունների վրա. 554
- Բալունգյան Լ. Բ., Հարությունյան Ա. Վ., Սովսեյան Ն. Հ., Ուլանովյան Մ. Գ. Առնետների հյուսվածքներում մալատդեհորոգենազայի ակտիվության հորմոնալ կարգավորումը. 559
- Սալիսյան Է. Գ., Պետրոսյան Ռ. Ա., Սեմաևովա Լ. Պ., Ալավերդյան Ա. Ս. Լիմֆոցիտիկ վերարտադրումը սպիտակ առնետների վրա. 565
- Աղաբաբյան Մ. Լ., Բաբեղյան Լ. Ա., Իրիգարյան Վ. Ս., Ղազարյան Ն. Հ. Նոր էֆեկտիվ սինթետիկ հակաօքսիդանտների հայտնաբերումը. 571
- Սիլայանյան Է. Գ., Աֆրիկյան Ա. Բ. Էլեուտերոկոկի ազդեցությունը խոլեստերինի մակարդակի վրա արյան և էրիթրոցիտների թաղանթներում սուրսի մասնակ. 575
- Սաղոսաբյան Ե. Գ., Իսկանյան Մ. Ա., Վալինի և լեյցինի D- և L- ստերեոիզոմերների փոխհարաբերությունը *Candida guilliermonau* BKM Y-42 խմորասնկերի կողմից յուրացման ժամանակ. 579
- Գյուլբաբյան Բ. Ա., Ավարիմյան Է. Ա., Ասլամազյան Վ. Ս., Գամալյան Ռ. Գ. Բիոգեն ամինների քանակական տեղաշարժերը՝ պայմանավորված էթանոլի, էթանոլամի և ալետամիդոէթանոլի ներարկումով. 583
- Համատուտ հաղորդումներ
- Սուպիդեյան Ռ. Մ., Պապովա Տ. Վ., Գալսյան Ա. Ա. Կարդիոակտիվ սպիտակուցային համալիրների քաղցումը՝ արտեր կենդանիների սրտում. 588
- Ավաբյան Է. Ա., Հովսեփյան Լ. Մ., Ղազարյան Կ. Գ. Լիպիդների գերօքսիդացումը երկկողմաձիկ էնթաստոմանային վազոտոմիայի ֆոնի վրա. 590
- Անտոնյան Օ. Ա. Պաշտպանիչ աննշանությունների ազդեցությունը լիպիդային փոխանակության ցուցանիշների վրա էքսպիրիմենտալ դիֆերոթեթևային թունավորման ժամանակ. 593
- Ասաբյան Մ. Ա., Դեմոսյան Փ. Ս. Առանձին L-ամինաթթուների դեգամինացման կարգավորումը երկամանների կենդանիների միտոքոնդրիաներում և կտրվածքներում. 596
- Ապիսկոպոսյան Լ. Մ., Համբարձումյան Գ. Ռ., Հակոբյան Ս. Բ. Մարմնի կազմվածքի զորանների միոֆիլականոթային զենեակակալան գեոմորֆիկացիան աղբիկների օնտոգենեզի պերիպրերտառային գեոլում. 598
- Կուրբեևա Գ. Ի. Բույսերի աճի կարգավորիչների մոտագենային ակտիվությունը կաթնասունների սոմատիկ յոթնետում. 600
- Ուկրաինական
- Մովսեսյան Ա. Ս., Հարությունյան Բ. Գ., Իսկանյան Մ. Ա. Արգինազայի իզոլեզիմային սպեկտրը առնետների լյարդի ռեգեներացիայի պրոցեսում. 603
- Կուրբեևա Գ. Ի., Հարությունյան Ռ. Մ., Հալիսյան Գ. Գ. Բույսերի աճի կարգավորիչների ցիտոգենետիկական ակտիվությունը մարդու լիմֆոցիտների կուլտուրայում. 604
- Մեխակյան Լ. Կ. *Senecio* L. *Ligularia* Cass. ցեղերի պայինոմորֆոգիայի շուրջ. 605
- Կովալյան Ս. Գ., Ռեզարյան Ն. Պ., Սուրբյան Ս. Հ. Պոմիդորի ծաղկափռու ծյունակությունը գիբբելաթթվի ապոկոթային դեպքում. 606
- Ալեկսանյան Ջ. Ս. Լյուիսի և պոպոկի բույսերի ֆիզիոլոգիական առանձնահատկությունները բացթթյա հիդրոպոնիկայի պայմաններում. 606
- Ավաբյան Ա. Գ., Գևորգյան Լ. Ա., Ավետիսյան Ս. Վ., Տարսովա Խ. Օ. Վ խմորի վիտամինները պոպոկի և պոմիդորի պտուղներում. 607

СОДЕРЖАНИЕ

Статьи

Карамян А. Н., Соллертинская Т. Н., Рыжаков М. К. Сравнительно-физиологическое изучение роли глутамата в интегративной деятельности мозга у насекомых и хищных	521
Худавердян Т. Н., Асратян А. А., Сафарян Л. А. Возвратное торможение в спинном мозге кошек с экспериментальной гипокальциемией	533
Паронян Ж. А., Адуц Э. Г., Априкян Г. В., Ахвердян Э. С. Окисление янтарной и α -кетоглутаровой кислот в некоторых частях и субклеточных частях мозга при старении	537
Нерсисян Р. Р., Адуц Э. Г. Кислые фосфатазы и неорганическая пирофосфатаза субклеточных образований головного мозга крыс	542
Левонян К. Л., Манукян К. Г. Фосфолипидный состав протеолипидов из сердца крысы	546
Сиркисова Г. М., Сукиасян Л. В., Соцкин О. П., Погосян Д. Ш., Чухаджян Г. А. Влияние длительного введения церебролизина на активность сукцинатдегидрогеназы печени и миокарда крыс	550
Кайфаджян М. А. Действие верапамила на физико-химические свойства миофибриллярных белков миокарда	554
Бурназян Л. Б., Арутюнян А. В., Мовсесян Н. О., Урганджян М. Г. Гормональная регуляция малатдегидрогеназной активности в тканях крыс	559
Степанян Э. Л., Петросян Р. А., Биджанова Л. Н., Ахвердян А. С. Моделирование лимфолейкоза на белых крысах	565
Агаджанов М. Н., Барсегян Л. А., Григорян В. С., Казарян Ш. А. Выявление новых эффективных синтетических антиоксидантов	571
Микаелян Э. М., Африкян А. Б. Влияние леутороккока на уровень холестерина в крови и эритроцитарных мембранах при стрессе	575
Багдасарян Е. Г., Дзелян М. А. Взаимоотношения D- и L-стереоизомеров валина и лейцина при их усвоении дрожжами <i>Candida guilliermondii</i> ВКМ У-42	579
Гюльбазян Т. А., Авагян Э. А., Асламзян В. С., Камалян Р. Г. Количественные сдвиги в биогенных аминах, индуцируемые введением этанола, этаноламина и его ацетамидов	583
Краткие сообщения	
Срапционян Р. М., Попов Т. В., Галоян А. А. Распределение кардиоактивных белковых комплексов в сердце различных животных	588
Авищян Э. А., Овсисян Л. И., Карагезян К. Г. Перекисное окисление липидов на фоне даусторонней поддиафрагмальной ваготомии	590
Антонян О. А. Влияние защитных нутриентов на показатели липидного обмена при экспериментальной диалорбутеновой интоксикации	593
Захарян М. С., Геворкян Ж. С. Регуляция дезаминирования отдельных L-аминокислот в срезах и митохондриях коркового слоя почек	596
Епископосян Л. М., Амбарцумян Г. Р., Акопян С. Б. Генетическая детерминация изменчивости факторов телосложения в крипубертатной стадии онтогенеза девочек	598
Конобеева Г. И. Мутагенная активность регуляторов роста растений в соматических клетках млекопитающих	601
Рефераты	
Мовсесян А. С., Арутюнян Т. Г., Давтян М. А. Изoenзимный спектр аргиназы в процессе регенерации печени крыс	603
Конобеева Г. И., Арутюнян Р. М., Залинян Г. Г. Цитогенетическая активность регуляторов роста растений в культуре лимфоцитов человека	604
Мехакян А. К. К палиноморфологии родов <i>Senecio</i> L. и <i>Ligularia</i> Cass.	605
Ервандян С. Г., Бегларян Н. П., Саркисян Э. Г. Прорастание пыльцы томата при действии гибберелловой кислоты	606
Аджанян Дж. С. Физиологические особенности растений помидора и перца в условиях открытой гидропонии	606
Авакян А. Г., Геворкян Л. А., Аветисян С. В., Гарсцова Е. О. Витамины группы В в плодах перца и томата	607

CONTENTS

Articles

<i>Karamian A. I., Sollertinskaya T. N., Rizhakov M. K.</i> Comparative—Physiological Study of Hippocampal Role in Brain Integrative Activity of Insectivores and Carnivores	521
<i>Khudaverdian D. N., Hasratian H. A., Safarian L. A.</i> Recurrent Inhibition in the Spinal Cord of Cats with Experimental [Hypocalcemia	533
<i>Paronian J. A., Aduntz E. G., Aprikian G. V., Hakhverdian E. S.</i> Oxidation of Succinate and α -Ketoglutarate in Some Parts and Subcellular Fractions of Rat Brain during Ageing]	537
<i>Nersesian R. R., Aduntz G. T.</i> Acidic Phosphatases and Inorganic Pyrophosphatase in Subcellular Fractions—of Rat Brain	542
<i>Levonian K. L., Manukian K. H.</i> Phospholipid Composition of Proteolipids from Rat Heart	546
<i>Sarkisova G. M., Sukiasian L. V., Sotsky O. P., Pogosian D. Ts., Chukhadjian G. A.</i> Effect of Chronic Cerebroside Injections on the Succinatehydrogenase Activity in the Rats Liver and Myocardium	550
<i>Kaifadjyan M. A.</i> Influence of Verapamil of Physico-Chemical Properties of Myocardium Myofibrillar Proteins	554
<i>Burnazyun L. B., Haroutyunyan A. V., Mousesyan N. O., Urganjyan M. G.</i> Hormonal Regulation of Malate—Dehydrogenase Activity in Rats Tissues	559
<i>Stepanyan E. D., Petrosyan R. A., Bedjanova L. P., Achverdyan A. S.</i> Lymphoid Leukemia Modelling on White [Rats	565
<i>Agadjanov M. I., Barsegian L. A., Grigorian V. S., Kazarian Sh. H.</i> Revelation of New Effective Synthetic Antioxidants	571
<i>Micaellian E. M., Afrikian A. B.</i> Eleuterococc Effect on the Cholesterol Level in the Blood Plasma and Erythrocyte Membranes at the Stress	575
<i>Pagdasarian E. G., Davtian M. A.</i> Interrelation of D- and L-Stereoisomers of Valine and Leucine at Their Assimilation by Yeasts <i>Candida guilliermondii</i> BKM Y—42	579
<i>Gjulbajazian T. A., Avagimian E. A., Aslamazian V. S., Kamalian R. G.</i> Quantitative Changes of Biogenic Amines [Induced by the Introduction of Ethanol, Ethanolamine and Acetamidoehtanol	583
Short Communications	
<i>Shaptonian R. M., Popova T. V., Galoyan A. A.</i> Distribution of Cradioactive Protein Complexes in the Heart of Various Animals	588
<i>Avakian E. A., Hovsepien L. M., Karaguezian K. G.</i> Lipid Peroxidation under Conditions of Bilateral Subdiaphragmal Vagotomy	590
<i>Antonian O. A.</i> Influence of Protecting Nutrients on the Indices of Lipid Exchange in Case of Experimental Dichlorbutene Intoxication	593
<i>Zakarian M. S., Grvorkian Zh. S.</i> Desamination Regulation of Separate L-Amino Acids in the Slices and Mitochondria of Renal Cortex	596
<i>Yepiskoposian L. M., Hambartsumian G. R., Hakobian S. B.</i> Genetic Determination of Variability of Build Factors in the Peripuberiate Stage of Girls Ontogenesis	598
<i>Konobeeva G. I.</i> Mutagenic Activity of Regulators of Plants Growth in Somatic Cells of Mammals	600
Abstracts	
<i>Mousesian A. S., Arutunian T. G., Davtian M. A.</i> Isoenzymic Spectrum of Arginase in the Process of Rats Liver Regeneration	603
<i>Konobeeva G. I., Harutunian R. M., Zalintan G. G.</i> Cytogenetic Activity of Regulators of Plants Growth in the Culture of Human Lymphocytes	604
<i>Mekhakian A. K.</i> To the Palynomorphology of the Genera <i>Senecio</i> L. and <i>Ligularia</i> Cass.	605
<i>Jervandian S. G., Beglarian N. P., Sarkisjan Z. G.</i> Action of Gibberellie Acid on the Tomato Pollen Germination	606
<i>Alexanian J. S.</i> Physiological Characteristics of Tomato and Capsicum Plants under Conditions of Open-Air Hydroponics	606
<i>Avakian A. G., Gevorkian L. A., Avetislan S. V., Tarosova E. O.</i> Vitamins of the V Group in the Fruits of Tomato and Pepper	607

ՀԱՂՈՐԴԱԿԱՆ ՍՏԱՏՅԵՐ

Биол. ж. Армении, г. 40, № 7, 521—532, 1987

УДК 612.821.6+612.822.6:599.365+599.742.1

СРАВНИТЕЛЬНО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ГИППОКАМПА В ИНТЕГРАТИВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ МОЗГА У НАСЕКОМОЯДНЫХ И ХИЩНЫХ

А. И. КАРАМЯН, Т. Н. СОЛЛЕРТИНСКАЯ, М. К. РЫЖАКОВ

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. Н. М. Сеченова

АН СССР, Ленинград

Аннотация — Сравнительное изучение характера влияния гиппокампа (поля СА1) на становление условнорефлекторной деятельности мозга у насекомоядных (ежи) и хищных (собаки) показало следующее. У ежей с выработанными условными рефлексиями деструкция поля СА1 оказывает кратковременное облегчающее влияние на условнорефлекторную деятельность. После предварительного разрушения гиппокампа на стадии формирования положительных УР и процессов внутреннего торможения наблюдается облегчение. На стадии упрочения снижаются величина УР и показатель их выполнения. У хищных гиппокамп оказывает более выраженное влияние на формирование УР, чем на их сохранение. Деструкция гиппокампа у собак оказывает более значительное, чем у ежей, влияние на формирование процессов внутреннего торможения. Таким образом, по мере эволюции наблюдается специализация регулирующего влияния гиппокампа, направленная преимущественно на регуляцию процессов внутреннего торможения.

Անոտացիա — Եղբայրականների (ոգնիներ) և գիշատիչների (շներ) մոտ ուղեղի պայմանական ռեֆլեկտոր զորոհունեության կազմավորման տարրեր էտապների վրա հիպոկամպի ազդեցության քննարկի համեմատական ուսումնասիրությունը ցույց է տվել հետևյալը. մշակված պայմանական ռեֆլեքսներով ոգնիների մոտ СА1-ից հետո դեստրուկցիան ունենում է կարճատև թթվահանող ազդեցություն պայմանական ռեֆլեկտոր զորոհունեության վրա: Հիպոկամպի լրացուցիչ վնասումից հետո թթվահանում է դիտվում դրական պայմանական ռեֆլեքսների և ներքին արգելափակման պրոցեսների կազմավորման էտապում: Ամրապնդման փուլում նվազում են պայմանական ռեֆլեքսների չափը և նրանց իրականացման ցուցանիշը: Գիշատիչների մոտ հիպոկամպը առավել արտահայտված ազդեցություն է ունենում պայմանական ռեֆլեքսների կազմավորման վրա, քան նրանց պահպանման վրա: Հիպոկամպի դեստրուկցիան շներին մոտ ավելի մեծ ազդեցություն է ունենում ներքին արգելափակման պրոցեսների կազմավորման վրա, քան ոգնիների մոտ: Այսպիսով, բնույթի տարբերությամբ չափի դիտվում է հիպոկամպի կարգավորիչ ազդեցության մասնագիտացում՝ ուղղված առավելագույնս ներքին արգելափակման պրոցեսների կարգավորմանը:

abstract — The comparative study of the character of hippocampal influence (CAI field) on conditional reflex activity foundation in insectivores (hedgehogs) and carnivores (dogs), showed the next. In hedgehogs with worked out conditional reflexes the destruction of CAI field causes the short latency facilitative influence on conditional reflex activity. After previous hippocampal lesion on the stage of conditional reflexes foundation and the processes of inside inhibition the facilitation is to be seen. On the consolidation stage the decrease of conditional reflexes activity is observed. In carnivores hippocamp has more obvious influence on the conditional reflex formation, than on its preservation. In dogs hippocampal destruction causes greater influence on inside inhibition formation than in hedgehogs, during evolution there is a specialization of hippocampal regulating influence, aimed mainly on inside inhibition processes.

Ключевые слова: млекопитающие (насекомоядные и хищные), гиппокамп, условные рефлексы.

Несмотря на то, что в настоящее время имеется большое количество работ [2—16, 18—23, 25] о роли гиппокампа в регуляции высших функций мозга у различных представителей позвоночных, они в подавляющем большинстве случаев содержат противоречивые данные, не позволяющие сделать каких-либо сравнительно-физиологических обобщений. Причиной этого является, с одной стороны, отсутствие унифицированных методических приемов исследований. С другой стороны, имеющиеся сравнительно-физиологические данные получены либо на филогенетически очень близких видах (крысы, кролики), либо на животных различных таксономических групп, не связанных сходной экологией, общим родством и т. д. Между тем сравнительно-физиологическими исследованиями нашей лаборатории было установлено, что тормозящее влияние гиппокампа на гипоталамические образования и условнорефлекторную деятельность в ряду рептилии—грызуны формируется постепенно и отчетливо выражено лишь у млекопитающих [8, 16]. Для более полного представления об эволюционных особенностях формирования характера влияния гиппокампа на деятельность новой коры представлялось интересным изучить его у двух представителей млекопитающих: насекомоядных (ежи) и хищных (собаки). Это тем более интересно, что исследований в таком аспекте на начальном этапе эволюции млекопитающих (насекомоядные) в литературе не имеется.

Материал и методика. Опыты проведены на 18 европейских ежей (*Erinaceus europaeus* L.) и 9 беспородных собаках. С целью унификации исследований нами была создана общая для обоих видов модель оборонительной методики, основывающаяся на классической методике В. И. Протопопова (1909). Животное (еж или собака) помещалось в звукоизолирующую камеру и жестко фиксировалось. Левая передняя конечность посредством системы рычагов присоединялась к потенциометрическому датчику, позволяющему регистрировать величину и характер двигательной реакции. К этой же конечности прикреплялись электроды для электрокожного раздражения. Помимо двигательных, у животных регистрировали и вегетативные компоненты: частоту сердечных сокращений и дыхание. Электрокардиограмму (ЭКГ) регистрировали в грудном отведении с помощью пластинчатых электродов, линейнограмму у ежей с помощью угольного датчика, у собак—при помощи капсулы Марей, соединенной с электроэнцефалографом через емкостный преобразователь. В опыте производилась автоматическая регистрация латентных периодов (ЛП) двигательных реакций и межсигнальной активности. У ежей регистрировали также суммарную электрическую актив-

ность сенсомоторной и лимбической коры. Все показатели регистрировали с помощью чернилопишущего электроэнцефалографа «San'ei» (Япония), или приборе УСЧ 8-03. Условными раздражителями служили: для собак—звонок интенсивностью 75 дБ, метроном—120 уд. мин., тон 1000 Гц и дифференцировочный к нему—тон 500 Гц интенсивностью 55—60 дБ, а также свет лампы мощностью 100 Вт, установленной на расстоянии 1 м от головы животного; для ежей—тон 1000 Гц и дифференцировочный к нему—тон 200 Гц интенсивностью 60 дБ. Продолжительность изолированного действия условных раздражителей для ежей составляла 6 с, а интервалы отставлений—15, 20, 25 и 30 с, для собак—10 с и 20, 30 и 40 с соответственно. Безусловное раздражение наносили от стимулятора ЭСП-2, продолжительность его составляла 0,15 с для ежей и 1,8 с для собак, сила в 2 раза превышала пороговую величину. Собакам предъявлялось 12 сочетаний за опыт (по 3, разных модальностей), ежам—по 6—8 сочетаний. Межстимульные интервалы составляли 1—3 минуты. Гиппокамп разрушали стереотаксически: у ежей по координатам атласа Штарка [17], у собак—по координатам атласов Лима с соавт. [24] и Адрианова, Меринг [1]. Для ежей использовали электролитический способ разрушения с помощью электростимулятора фирмы «Альвар» следующими параметрами тока: 100 Гц, 0,5 мс, 5 мА, в течение 20 с. через биполярные никромовые электроды диаметром 0,15 мм, в заводской изоляции с активным кончиком—0,5 мм. Разрушение аналогичных полюс гиппокампа у собак производили путем коагулирования хирургическим коагулятором ЭХВЧ 30-01, монополярно, через никромовые электроды диаметром 0,15 мм в усиленной изоляции с активным кончиком—1 мм, током частотой 1,76 МГц, при экспозиции—10 с. После окончания экспериментов под нембуталовым наркозом животным производили инъекцию эфира или аминала в сердце, мозг извлекали и фиксировали в 10%-ном формалине. Затем на замораживающем микротоме изготовляли срезы толщиной 90—120 мкм для ежей и 900 мкм для собак с последующим фотографированием. Срезы мозга ежей окрашивали предварительно по Нисслю. Все показатели обрабатывали статистически: вычисляли среднегрупповые $\bar{M}$, m и дисперсии, достоверности различий устанавливали по Т-критерию Стьюдента и F-критерию Фишера.

Результаты и обсуждение. 1. *Влияние гиппокампальных структур на условнорефлекторную деятельность ежей.* Изучение последовательности формирования условных реакций по различным показателям их у насекомыхных выявило следующее. У нитактичных ежей сначала формируются вегетативные условные рефлексы (УР) в виде урежения частоты сердечных сокращений (ЧСС) на $1,7 \pm 0,15\%$ по сравнению с фоном и учащения дыхания до $64,0 \pm 7,7\%$ с одновременным уменьшением амплитуды дыхательных движений. Двигательный компонент УР появлялся позже, к $15,3 \pm 5,2$ сочетанию условного стимула с безусловным, а 75% критерия упрочения достигал лишь после $37,2 \pm 6,9$ опытных дней. В начальном периоде формирования двигательная реакция носила диффузный характер, являясь, по-видимому, частью обще двигательной реакции на болевое воздействие и характеризовалась нестабильностью латентных периодов, малой величиной и низким показателем осуществления. Электроэнцефалографические (ЭЭГ) корреляты УР в виде высокоамплитудного тета-ритма формировались параллельно двигательному компоненту и были лучше выражены в сенсомоторной, чем в лимбической коре. Было обнаружено, что угашение положительных УР у ежей возможно и характеризуется определенной последовательностью. Так, после $4,5 \pm 0,9$ неподкреплений условного стимула исчезали двигательные ответы, а затем после $11,4 \pm 1,0$ неподкреплений происходила полная редукция сердечных и дыхательных реакций. ЭЭГ УР угасали последними.

Изучение особенностей формирования дифференцировочного торможения показало, что несмотря на длительное применение дифференцировочного сигнала без подкрепления, выработать у ежей абсолютную дифференцировку не удается, ее уровень не превышает у ежей 75%. В особенности это правомерно в отношении ЭКГ, ЭЭГ и дыхательных компонентов оборонительного УР. Следует отметить, что образование у ежей запаздывающих условных реакций также возможно, но сопровождается значительными трудностями, вероятно, вследствие низкой организации ЦНС насекомых. Так, если при интервалах отставления 15, 20, 25 и 30 с среднegrupповые показатели недействительной фазы двигательной реакции составляли $5,1 \pm 0,4$, $5,7 \pm 0,6$, $7,5 \pm 1,2$ и $8,8 \pm 0,7$ с соответственно, то при дальнейшем увеличении времени отставления эта фаза увеличивалась незначительно, часто растормаживалась, появлялись невротические реакции: гиперактивность, сменяющаяся полной арефлексией, повышение фоновых ЧСС и частоты дыхания, нарушения сердечного ритма, дефекация и уриция и т. д.

Изучение роли гиппокампа в условнорефлекторной деятельности у ежей проводилось в двух сериях опытов. В 1-й серии экспериментов исследовали влияние двустороннего разрушения полей СА1 гиппокампа на выработанные положительные и отрицательные УР. Во 2-й серии изучали это влияние на процессы формирования условнорефлекторной деятельности на начальных этапах обучения и на стадии ее упрочения. Было установлено, что у ежей с выработанными УР двустороннее разрушение гиппокампа не вызывает отчетливых нарушений условнореф-

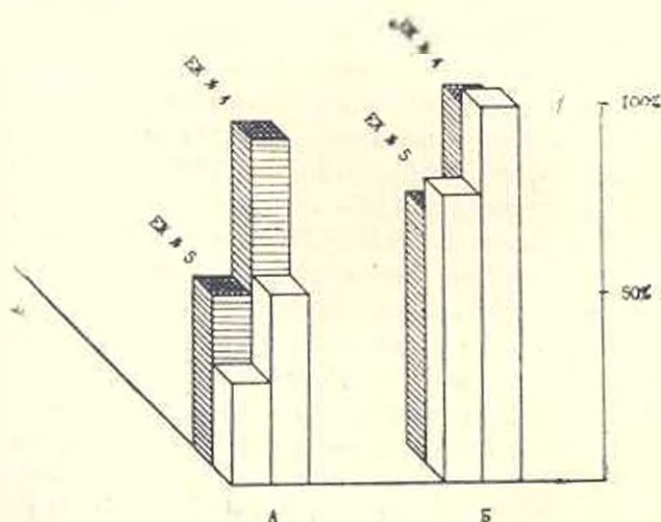


Рис. 1. Влияние разрушения гиппокампа у ежей № 4 и № 5 на сохранение положительных УР (А) и дифференцировочного торможения (Б). По оси ординат—процент правильных ответов. Чистые столбики—до операции, заштрихованные—после разрушения гиппокампа.

лекторной деятельности. Более того, наблюдалось значительное улучшение осуществляемости и увеличение силы двигательного и дыхательного компонентов УР с одновременным увеличением с $2,3 \pm 0,3$ до $2,9 \pm 0,3$ с латентных периодов двигательных УР (рис. 1). Помимо этого,

отмечалось также снятие невротических явлений, снижение числа межсигнальных реакций. Дифференцировочное торможение после операции незначительно ослаблялось. Однако скорость и последовательность угашения всех компонентов УР у оперированных животных существенно не отличались от таковых у контрольных. Следует отметить, что вышеописанные изменения условнорефлекторной деятельности носили кратковременный характер и наблюдались до 2-х недель после операции. Таким образом, можно предположить, что гиппокамп не оказывает существенного влияния на сохранение условных рефлексов на уровне насекомых.

Во 2-й серии опытов было установлено, что у ежей с предварительно разрушенным гиппокампом положительные условные рефлексы появляются и достигают максимальной выраженности уже к 3—5 блоку, тогда как у интактных—лишь к 7—9 блоку. Особенно ярко этот эффект можно было наблюдать при изучении динамики вегетативных показателей УР. Так, сердечный и дыхательный компоненты УР в виде брадикардии и тахипноэ появлялись раньше двигательного компонента и достигали максимальной выраженности уже после первого блока (рис. 2). Однако эффект облегчения, обнаруженный у оперированных

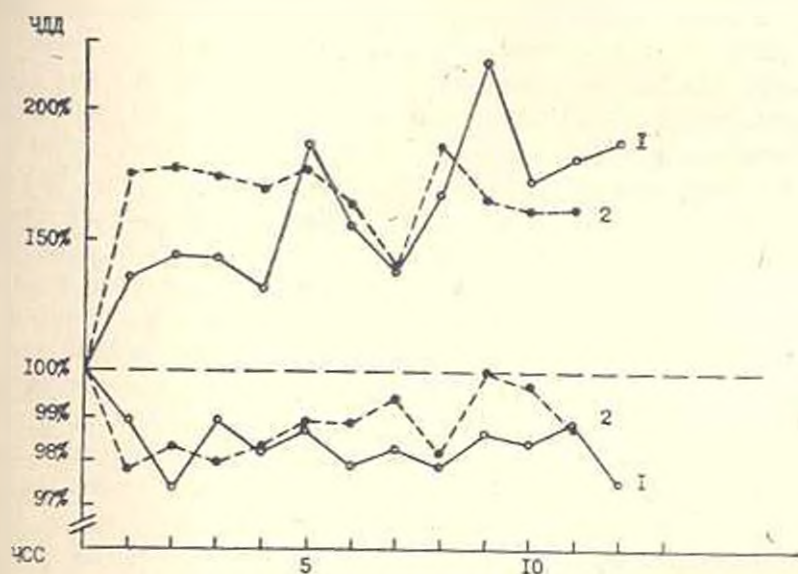


Рис. 2. Динамика вегетативных компонентов УР у ежей. А—частота дыхания, Б—ЧСС у интактных (1) и оперированных (2) животных. По оси абсцисс—блоки опытов. По оси ординат—процент показателя к фону.

животных на этапе становления УР, исчезал на стадии их стабилизации. Более того, при изучении динамики стабилизации вегетативных компонентов четко намечалась тенденция к редукции выраженности сердечной (с пятого блока) и дыхательной (с восьмого блока) реакций на условный стимул. Данная закономерность наблюдалась нами и при изучении динамики двигательного компонента оборонительного рефлекса. Более высокий показатель осуществленных двигательных УР наблюдался именно на протяжении первых двенадцати опытов ($21,3 \pm 2,5\%$

против $10,7 \pm 0,4\%$ у интактных ежей, $P < 0,01$. Величина двигательного компонента УР у оперированных животных достоверно ($P < 0,05$) превышала таковую у интактных на протяжении первых 7 блоков. После разрушения гиппокампа отчетливо проявлялся эффект увеличения латентных периодов двигательной реакции животных — до $2,8 \pm 0,1$ с ($P < 0,01$) по сравнению с контролем ($2,2 \pm 0,1$ с). После разрушения полей СА1 гиппокампа электрографические реакции в виде появления ритмической активности в тета-диапазоне при предъявлении животным условного стимула исчезали во всех отделах коры. Изучение формирования процессов внутреннего торможения установило следующее. Сердечные и дыхательные УР у ежей с разрушенным гиппокампом угасали после $15,4 \pm 3,3$ и $17,8 \pm 3,1$ неподкреплений соответственно, т. е. медленнее, чем у интактных. Угашенные реакции в последующих опытах легко восстанавливались. Дифференцировочное торможение у ежей с разрушенным гиппокампом вырабатывалось «с места» и уже через 6 предъявлений достигало 96% критерия сформированности как по двигательному, так и по вегетативным показателям условнорефлекторной деятельности. Опыты по выработке запаздывающих условных рефлексов показали, что оперированные животные по такому показателю, как величина недействительной фазы УР, гораздо успешнее, чем контрольные, справлялись с этой задачей. Так, при отставлении безусловного подкрепления 20 с величина недействительной фазы составляла у них $7,8 \pm 0,8$ с ($P < 0,05$); при 25 с — $10,8 \pm 1,0$ с ($P < 0,05$), при 30 с — $9,2 \pm 0,9$. Более того, на фоне разрушения запаздывающие УР были более специализированными, приуроченными к моменту болевого подкрепления, при их выработке у животных не наблюдалось невротических реакций даже при отставлении более 25 с, как это имело место у интактных ежей. Однако на протяжении всего периода выработки запаздывания показатель осуществленных двигательных реакций у оперированных животных был достоверно ниже, чем у интактных. При увеличении времени отставления до 15 с и выше у ежей с разрушенным гиппокампом величина двигательной реакции практически не изменялась, в то время как у интактных она значительно возрастала. Таким образом, изложенные данные свидетельствуют о том, что разрушение гиппокампа у ежей различно влияет на основные этапы условнорефлекторной деятельности. У ежей с выработанными условными рефлексами деструкция полей СА1 оказывает кратковременное облегчающее влияние на условнорефлекторную деятельность. После предварительного разрушения гиппокампа на стадии формирования положительных УР и процессов внутреннего торможения наблюдается облегчение. В то же время на стадии упрочения выявляется снижение величины УР и показателя их выполнения.

2. *Влияние гиппокампальных структур на условнорефлекторную деятельность у собак.* У интактных собак положительные условные рефлексы на стимулы всех использованных модальностей появлялись к $9,8 \pm 1,7$ сочетанию, а упрочались до 80% критерия выработки после $18,6 \pm 1,4$ сочетания условного раздражителя с безусловным. Среднегрупповой показатель осуществленных двигательных рефлексов на этапе стабилизации условнорефлекторной деятельности составлял 0,86,

число межсигнальных реакций не превышало $16,1 \pm 2,6$ за один опыт. У интактных животных угасательное торможение вырабатывалось легко, двигательные ответы угасались после $4,7 \pm 0,3$ неподкреплений, а вегетативные компоненты — после $7,3 \pm 0,8$ неподкреплений. Отсутствие выраженного угашения по двигательному компоненту отмечалось лишь у одной собаки (Микрон), отличавшейся слабостью тормозных процессов. Следует отметить, что при последующих угашениях интактным собакам требовалось гораздо меньшее число неподкреплений, чем в первом опыте по изучению этого вида внутреннего торможения. Эта закономерность наблюдалась у всех животных без исключения. Дифференцировочное торможение достигало 80% уровня сформированности в среднем после 20 неподкреплений, а после 30 предъявлений дифференцировочного раздражителя оно становилось абсолютным. Интересно отметить, что у интактных животных мы не наблюдали растормаживания дифференцировок, достигших 100% критерия выработки, несмотря на то, что им было предъявлено более 100 неподкрепляемых раздражителей. При выработке дифференцировки у собак наблюдались значительные индивидуальные различия в скорости ее упрочения. Запавдывательное торможение вырабатывалось у интактных животных при интервалах задержки от 15 до 40 с. Недеятельная фаза запаздывания при максимальном отставлении составляла $18,8 \pm 3,3$ с. Однако в процессе выработки запаздывания, тестируемого по таким показателям, как длительность недействующей фазы двигательного УР и его величина, у некоторых животных наблюдалось снижение показателя осуществленных двигательных реакций, хотя сдвиги ЧСС и дыхания при этом оставались приуроченными к моменту подкрепления.

Изучение роли поля СА1 гиппокампа у собак проводилось также в двух сериях опытов: в 1-й — на фоне выработанных УР, во 2-й — в период их формирования и стабилизации.

В 1-й серии опытов было обнаружено, что разрушение гиппокампа оказывает кратковременное подавляющее влияние на условнорефлекторную деятельность мозга. Так, в первые три дня УР были слабо выражены или отсутствовали, однако к 5—6-му опытному дню они восстанавливались и в основном достигали дооперационного уровня. После разрушения гиппокампа тормозные УР у собак не нарушались: дифференцировки сохранялись, угашение происходило после 2—3-х неподкреплений. Таким образом, изложенные данные свидетельствуют о том, что двустороннее разрушение поля СА1 дорсального гиппокампа у собак с упроченными положительными и отрицательными УР не приводит к существенным нарушениям условнорефлекторной деятельности.

Результаты исследований 2-й серии, проведенные на собаках с предварительно разрушенными аналогичными полями гиппокампа, выявили достоверное замедление процессов образования ($P < 0,01$) и, особенно, упрочения ($P < 0,001$) положительных УР на стимулы всех использованных модальностей. Двигательные ответы появились лишь к $19,3 \pm 3,9$ сочетанию, а упрочились после $46,4 \pm 8,0$ сочетаний условного стимула с безусловным. Общим эффектом повреждения гиппокампа было увеличение ЛП двигательной оборонительной реакции, особенно на этапе

формирования. Так, к 60 применению тона 1000 Гц ЛП у оперированных животных составляли 2.98 ± 0.25 с, в то время как у интактных — 1.66 ± 0.18 с ($P < 0.05$). Величина двигательных УР на стимулы всех модальностей у оперированных животных была достоверно более низкой, особенно на стадии формирования. Следует отметить, что к 3-му месяцу происходила заметная компенсация нарушенных функций по всем изученным показателям. Так, к 270 применению условного стимула величина рефлекса и ЛП у оперированных и контрольных животных достоверно не различались (рис. 3). Одним из наиболее характерных

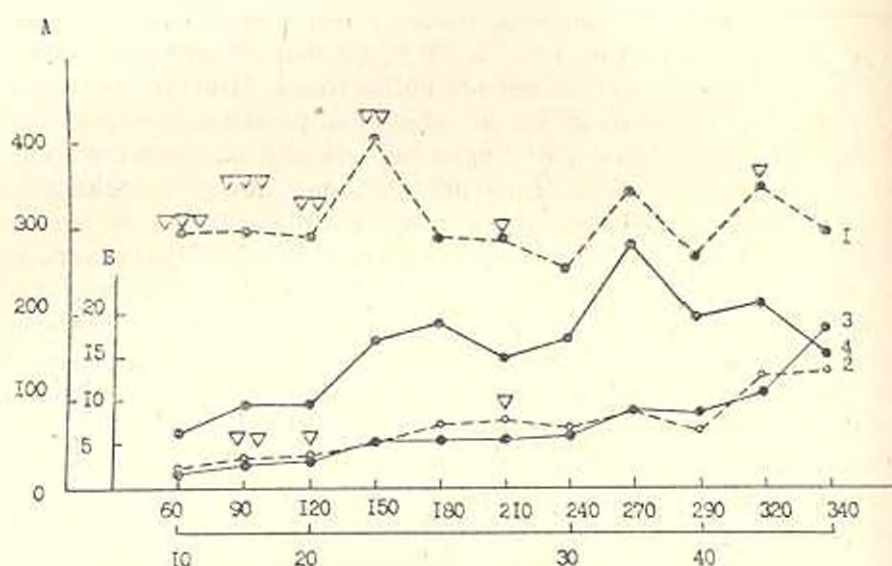


Рис. 3. Динамика выработки запаздывающих оборонительных УР на звонок у интактных собак (1, 3) и собак с разрушенным гиппокампом (2, 4). По оси абсцисс — количество отставлений (верхняя ось) и интервалы отставления в секундах (нижняя ось). По оси ординат — величина двигательного УР в условных единицах (А) и недействительная фаза запаздывающих УР в секундах (Б). Достоверности различий: τ — $p < 0.05$, $\tau\tau$ — $p < 0.01$, $\tau\tau\tau$ — $p < 0.001$.

нарушений, имеющих место после операции, было также снижение показателя осуществленных двигательных УР (в среднем до 0,75) на этапе упрочения, что ниже, чем в контроле ($P < 0.01$). Несмотря на более низкий фон условнорефлекторной деятельности у животных с разрушенным гиппокампом, двигательная активность, выражавшаяся в числе сигнальных реакций за опыт, достигала у них 53.1 ± 10.6 ($P < 0.001$). Тем не менее, вегетативные показатели условнорефлекторной деятельности у них были достоверно ($P < 0.05$) менее выражены и медленнее возвращались к исходному уровню после применения безусловного раздражителя. Отмечена также меньшая изменчивость сердечной реакции в ответ на безусловный стимул ($F = 8.33$), (рис. 4).

После разрушения гиппокампа у собак значительно нарушался процесс образования и упрочения тормозных реакций. Дифференцировочное торможение в среднем лишь к 35 предъявлению достигало 80%-ного уровня сформированности, а 100%-ного уровня выработки достиг-

нуть не удалось, несмотря на большое количество (более 100) предъявлений дифференцировочного раздражителя. У трех животных этой группы соотношение между положительными и дифференцировочными рефлексамии носило ультрапарадоксальный характер. Оперированные собаки начинали реагировать на дифференцировочный раздражитель лишь спустя некоторое время после его введения, в то время как у ин-

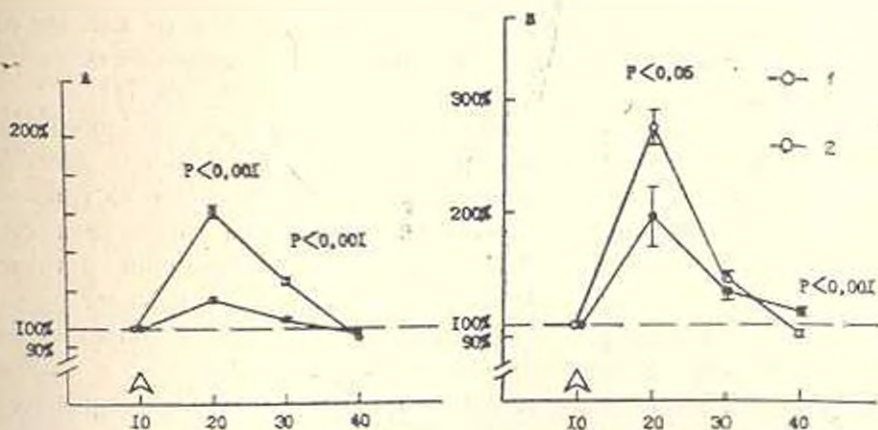


Рис. 4. Динамика изменений ЧСС (А) и дыхания (В) в ответ на предъявление условного стимула (стрелка) у intactных собак (1) и собак с разрушенным гиппокампом (2) с однотипным характером вегетативных реакций. По оси абсцисс — время (в с). По оси ординат — процент показателя к фону.

тактных животных подобных нарушений феномена генерализации не наблюдалось. Угасательное торможение после разрушения гиппокампа вырабатывалось с трудом, в особенности по вегетативным показателям. При повторном угашении скорость угасания либо не изменялась, либо возрастала. Интересные закономерности обнаружены нами в процессе выработки у оперированных собак запаздывающих УР. Так, скорость формирования и величина недействительной фазы запаздывания при отставлении до 20 с у них была выше, чем у intactных животных. Однако при увеличении времени отставления до 30—40 с наблюдалась обратная картина: недействительная фаза запаздывания составляла у оперированных собак лишь $13,6 \pm 1,5$ с. Во время изолированного действия условного стимула при выработке запаздывающих УР с временем отставления свыше 30 с у трех собак с разрушенным гиппокампом имели место двигательное беспокойство, вокализация, тремор, в то время как у двух других — сонливость, зевательные движения. Эти явления рассматривались нами как невротические реакции.

Таким образом, изложенные данные свидетельствуют о том, что на уровне хищных гиппокамп оказывает более выраженное влияние на формирование УР, чем на их сохранение. В отличие от насекомоядных, деструкция гиппокампа у собак оказывает более значительное влияние на формирование процессов внутреннего торможения. Компенсаторные реакции мозга заметно выражены лишь у хищных.

Полученные нами данные свидетельствуют о формировании опреде-

ленного характера регулирующего влияния гиппокампа на основные этапы условнорефлекторной деятельности у насекомоядных и хищных. Установлено, что на стадии стабилизации (на фоне выработанных и упроченных УР) разрушение полей СА1 дорсального гиппокампа оказывает незначительное кратковременное влияние на условнорефлекторную деятельность ежей и собак. Следует подчеркнуть, что у насекомоядных влияние гиппокампа носило выраженный облегчающий характер. У собак деструкция гиппокампа оказывала кратковременное подавляющее влияние на формирование УР. Аналогичное подавляющее влияние разрушения гиппокампа на условнорефлекторную деятельность хищных было показано ранее многими авторами [2, 4, 5, 10—12, 14].

К сожалению, в литературе отсутствуют данные об особенностях влияния гиппокампа на условнорефлекторную деятельность насекомоядных. Подавляющее большинство работ, выполненных на грызунах, свидетельствует о том, что разрушение гиппокампа у крыс, кроликов и морских свинок вызывает облегчение выполнения реакций активного двустороннего избегания [4, 11, 21] и значительно нарушает реакции пассивного избегания [10, 11, 21, 22]. Исследованиями нашей лаборатории было установлено, что после разрушения полей СА3 у кроликов наблюдается кратковременное усиление ЭЭГ показателей оборонительных УР в корковых и подкорковых структурах мозга [8]. К сожалению, провести полную аналогию полученных на насекомоядных данных с таковыми, полученными на грызунах, несколько затруднительно, так как последние обладают более высокоорганизованными формациями новой коры. В сравнительно-физиологических исследованиях на рептилиях было обнаружено, что гиппокамп осуществляет специализированное активирующее влияние на гипоталамические образования и высшие нервные функции [8, 16]. Полученные нами во 2-й серии опытов данные наиболее сложно интерпретировать. Обнаружено, что после предварительного разрушения гиппокампа у ежей на стадии формирования положительных УР наблюдается значительное их облегчение. В особенности это касается вегетативных показателей УР. На стадии же упрочения выявляется снижение величины УР и показателя их осуществления. Несколько иная картина обнаруживается у собак. Предварительная деструкция гиппокампа выявила у них достоверное замедление процесса формирования УР на стимулы всех использованных модальностей, снижение выраженности и осуществимости вегетативных компонентов оборонительных УР. Аналогичный характер влияния гиппокампа мог быть прослежен у собак и на стадии упрочения УР, хотя по истечении 2—3 месяцев у хищных, в отличие от насекомоядных, имели место выраженные процессы компенсации.

Таким образом, можно предположить, что у хищных предварительное разрушение гиппокампа замедляет и ухудшает выработку УР на всех этапах условнорефлекторной деятельности мозга. Что же касается насекомоядных, то деструкция гиппокампа у них оказывает двойное влияние: на стадии формирования оно, вероятно, носит неспециализированный облегчающий характер, в то время как на стадии упрочения УР приобретает тормозный характер.

Хорошо известно, что одним из дискуссионных и наиболее интересных вопросов является вопрос об отношении гиппокампа к процессам внутреннего торможения. Согласно представлениям Граштыяна, Дугласа, Кимбла, функции гиппокампа млекопитающих тесно связаны с регуляцией процессов внутреннего торможения [19, 20, 23]. При этом ряд авторов указывает на то, что наиболее значительные нарушения выработки отрицательных УР наблюдались у животных с предварительно разрушенным гиппокампом [6, 9, 13, 15]. В наших экспериментах было установлено, что на фоне выработанных УР деструкция гиппокампа у ежей приводит к незначительному ослаблению дифференцировочного торможения, в то время как угасательное торможение практически не меняется. У собак с упроченными положительными и отрицательными УР после разрушения гиппокампа существенных нарушений со стороны тормозных реакций не наблюдаются. Иной характер нарушений процессов внутреннего торможения имел место во 2-й серии опытов. Обнаружено, что у ежей на фоне деструкции гиппокампа образование и упрочение дифференцировочного и запаздывательного торможения происходят быстрее. В то же время угашение УР замедляется. У собак же во 2-й серии опытов изменения формирования всех изученных видов внутреннего торможения на фоне деструкции поля СА1 гиппокампа носили сложный характер с чертами явной специализации. Наиболее трудно вырабатывалось и упрочивалось дифференцирование чистых тонов, при этом резко снижалась адекватность реакций (явление ультрапарадоксальности). Ухудшалось формирование запаздывающих УР с временем отставления свыше 30 с, у животных появлялись признаки невротических реакций. Нарушения внутреннего торможения наблюдались также при повторных попытках угашения УР. Анализ динамики повторных серий угашения показал, что наибольшие изменения имели место со стороны процессов памяти. Таким образом, если рассматривать роль гиппокампа в регуляции процессов внутреннего торможения как проявление его специфической функции, то можно предположить, что она формируется лишь на этапе высших млекопитающих. У низших же ее представителей, очевидно, возможно сосуществование 2-х форм регулирующего влияния гиппокампа на процессы внутреннего торможения: более древней неспециализированной активирующей формы регуляции, присущей еще рептилиям [8, 16], и более молодой, но также неспециализированной, тормозной функции. Но если рептилии являются тем этапом эволюции, на котором неспециализированные формы влияния гиппокампа на положительные и отрицательные УР являются доминирующими, то несколько иные закономерности обнаруживаются у насекомых. На этом этапе эволюции млекопитающих преобладающей формой влияния гиппокампа на положительные и отрицательные УР являются тормозные эффекты, хотя в целом черты диффузности в характере влияния гиппокампа на высшие нервные функции еще сохраняются. У более высокоорганизованных млекопитающих (хищных) гиппокамп осуществляет более специализированное регулирующее влияние на процессы формирования и упрочения УР, преимущественно тормозного характера. При этом деструкция гиппокам-

пальных структур сопровождается максимальными изменениями со стороны эволюционно более поздно сформировавшихся видов внутреннего торможения. Однако этот вопрос намного сложнее, чем может показаться на первый взгляд, и требует поэтому специальных исследований как с учетом функциональной гетерогенности полей гиппокампа, так и с учетом филогенетического возраста различных видов внутреннего торможения, различных этапов становления ВНД и, наконец, адекватности методических подходов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адрианов О. С., Меринг Т. А. Атлас мозга собаки. 238, М., 1959.
2. Вавилова И. М. Журн. высш. нервн. деят., 24, 4, 720—727, 1974.
3. Викоградова О. С. Гиппокамп и память. 333, М., 1975.
4. Гамбарян Л. С., Коваль Н. Н. Гиппокамп. 103, Ереван, 1973.
5. Гамбарян Л. С., К. Гехт, Саркисов Г. Т., Коваль Н. Н., Казарян Г. М., Гарибян А. А., Саркисян Ж. С. Журн. высш. нервн. деят., 29, 1, 56—63, 1979.
6. Гарибян А. А., Судаков К. В., Гамбарян Л. С. Глубинные структуры мозга и поведение. 7—31, Ереван, 1985.
7. Гасанов Г. Г., Меликов Э. М. Нейрохимические механизмы гиппокампа, тета-ритм и поведение. 184, М., 1986.
8. Карамян А. И., Соллертинская Т. Н. Глубинные структуры мозга и поведение. 32—58, Ереван, 1985.
9. Коваль Н. Н., Саркисов Г. Т., Казарян Л. Г. Биолог. ж. Армении, 34, 5, 451—456, 1981.
10. Коваль Н. Н., Саркисов Г. Т. Журн. высш. нервн. деят., 53, 1, 10—25, 1983.
11. Коваль Н. Н., Саркисов Г. Т., Гамбарян Л. С. Септо-гиппокампаальная система и организация поведения. 127, Ереван, 1986.
12. Меринг Т. А. Журн. высш. нервн. деят., 20, 1, 219—223, 1970.
13. Меринг Т. А., Мухин Е. И., Писарева М. Л. Журн. высш. нервн. деят., 22, 5, 917—923, 1972.
14. Ониани Т. Н. Интегративная функция лимбической системы. 302, Тбилиси, 1980.
15. Поливанова М. Ф., Липецкая А. И., Рытикова Л. С., Макаречук И. Е., Чайченко Г. М., Ганжа Б. Л., Зима Н. Г. XIV съезд Всесоюз. физиол. об-ва им. П. Павлова, Баку, 90, Л., 1983.
16. Соллертинская Т. Н., Сафаров Х. М., Устова М. Б. Журн. эвол. биохим. и физиол., 20, 3, 313—317, 1984.
17. Штурк М. Б. Мозг эмиссии, 240, Новосибирск, 1970.
18. Buzsaki G., Vanderwolf G. H. (Eds.) Electrical activity of the archicortex, 404; Budapest, Academic Press, 1985.
19. Douglas R. J. Psychol. Bull., 67, 416—442, 1967.
20. Grastyan E., Karmos G. Physiologie de l'Hippocampe. 225—239, Paris, Montpelier, 1962.
21. Gray J. A., McNaughton N. Neurosci. and Biobehav. Rev., 7, 2, 113—188, 1983.
22. Isaacson R. L., Pribram K. H. (Eds.) The hippocampus. 2. Neurophysiology and Behaviour. 445, New-York, Plenum Press, 1975.
23. Kimble D. P. Psychol. Bull., 70, 5, 285—295, 1968.
24. Lim P. K. S., Liu Ch.-N., Moffitt R. L. A stereotaxic atlas of the dog's brain/ Ed. by Ch. S. Thomas, 93, Springfield, 1960.
25. Selfert G. W. (Ed.) Neurobiology of the hippocampus. 627, London, Academic Press, 1983.

Поступило 14.IV 1987 г.

Материал и методика. Опыты проведены на 10 контрольных и 8 паратиреопривных кошках, паротизированных смесью уретана и хлоралозы (150 и 35 мг/кг внутривенно). Животных брали в опыт на 2—6 сутки после оперативного удаления околощитовидных желез при обязательном развитии у них двигательных расстройств и понижении уровня кальция в крови, определяемого по методу Де-Варда. У таких животных наблюдалось понижение кальция и в спинномозговой жидкости. Описанным ранее способом [7, 8] перерезали спинной мозг на уровне Th_{11} — Th_{12} , отпрепаровывали и пересекали задние корешки L_6 — S_1 , а также нервы одноименной задней конечности. Моноспинальный ответ от п. *gastrocnemius* (G) получали раздражением перерезанного заднего корешка L_7 . В качестве кондиционирующего раздражения использовали антидромную стимуляцию л. *soleus* (Sol.) силой 1,5 порога. Амплитуду антидромного злпа регистрировали монополярным электродом, установленным на переднем корешке соответствующей стороны. Одноточные кондиционирующие стимулы предшествовали проверочным, наносимым на дорсальный корешок с интервалами от 1 до 100 мс. Количественной оценкой торможения служила разница между величинами ответов на иррибные раздражения до и в различные интервалы времени после кондиционирующего, выраженная в % по отношению к исходной амплитуде моноспинального ответа, принимаемого за 100%.

Химически индуцированную гипокальциемию вызывали внутривенным введением оксалата натрия из расчета 10 мл/кг веса 0,4%-ного раствора, что, по нашим данным и данным других авторов [1, 10], вызывает гипокальциемию в течение 6 ч с максимумом на 45—90 мин; при этом уровень кальция понижается с 9—11 мг% до 5—6 мг%. Для внутриаортального введения хлористого кальция вставляли канюлю в сонную артерию.

Статистическую обработку материала производили по Стьуденту.

Результаты и обсуждение. Как показали эксперименты, у контрольных кошек антидромная стимуляция Sol. вызывает угнетение моноспинальных ответов с G, причем тормозные эффекты начинаются с 1,5—2 мс, достигают максимума на 10—20 мс ($47.1 \pm 10.9\%$), затем постепенно ослабевают. Такой ход течения возвратного торможения у контрольных кошек обнаружен и другими исследователями [5, 9]. На фоне гипокальциемии, вызванной введением оксалата натрия, в интервале времени от 5 до 30 мс отмечается ослабление возвратного торможения ($P < 0.005$), а между 1—3 и 40—100 мс наблюдается реверсия тормозной кривой в облегчающую. Заслуживает внимания факт сокращения времени возвратного торможения. И на 45, и в особенности на 90 мин после введения оксалата натрия кривая возвратного торможения сдвигается влево по оси абсцисс (рис. 1, кр. 2 и 3).

Регистрация возвратного торможения у паратиреопривных кошек показала значительное ослабление его (рис. 2, кр. 2). Причем особый интерес представляют данные, указывающие на ослабление возвратного торможения в интервале от 10 до 20 мс ($P < 0.001$), т. е. в момент наибольшей его выраженности в норме. С 20 мс и далее отмечается замена усредненной кривой возвратного торможения облегчением. В ранние сроки (1—5 мс) кривая торможения особым изменениям не подвергается. Таким образом, у животных с паратиреопривной гипокальциемией происходит не только ослабление, но и резкое сокращение времени течения возвратного торможения. При этом в ряде опытов отмечалось полное отсутствие торможения во все интервалы времени. Перфузия спинного мозга путем внутриаортального введения хлористого кальция животным с паратиреопривной гипокальциемией приводила к повыше-

нию содержания кальция в крови с 5—6 до 16—18 мг%. На этом фоне отмечалась тенденция к восстановлению торможения (рис. 2, кр. 3).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют об ослаблении возвратного торможения как при специфической гипокальциемии, вызванной удалением околощитовидных желез, так и при гипокальциемии, индуцированной внутривенным введением оксалата натрия. Более вы-

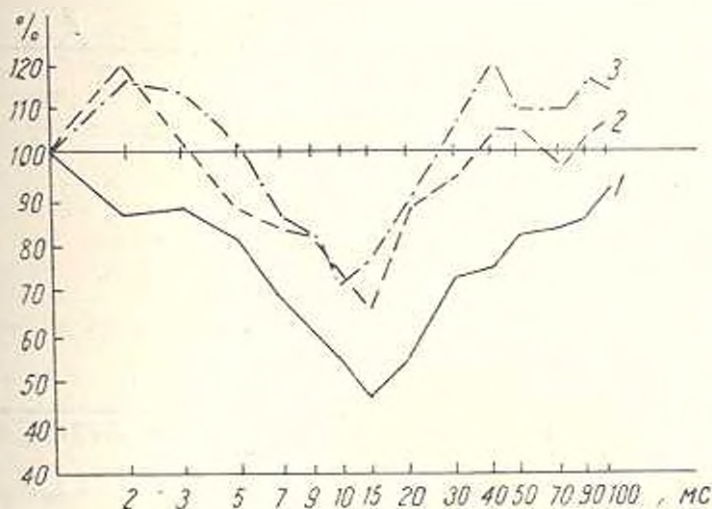


Рис. 1. Усредненные кривые времени течения возвратного торможения моносинаптических ответов антидромного раздражения у контрольных кошек до (1) и спустя 45 (2) и 90 мин (3) после введения оксалата натрия. По оси абсцисс—время между раздражениями; по оси ординат—усредненные амплитуды моносинаптических ответов (в % от исходной величины).

раженные эффекты, наблюдаемые в условиях паратиреопривной гипокальциемии, объясняются, по-видимому, тем, что при тетании сдвиги в содержании кальция ограничиваются не только кровью. Они наблюдаются и на уровне тканей [2, 11], что маловероятно при искусственном блокировании кальция крови хелатами. Полученные данные можно объяснить с позиции деполаризующего влияния паратиреопривной гипокальциемии [3] на структурные элементы тормозных путей, обеспечивающих возвратное торможение. Деполаризация окончаний аксональных терминалей на мотонейронах может привести к уменьшению количества выделяемого ими медиатора с соответствующим ослаблением их действия. При гипопаратиреозе, наряду с затруднением выброса [6, 7], по-видимому, подавляются также процессы синтеза тормозных медиаторов, что подтверждается достоверным уменьшением в спинном мозге ГАМК [8].

Уменьшение продолжительности течения возвратного торможения при паратиреопривной гипокальциемии может свидетельствовать о блокаде синаптической передачи между возвратными коллатеральными клетками Реншоу, так как известно, что в условиях фармакологической блокады холинэргических синапсов на уровне возвратных коллатера-

лей время течения возвратной тормозной реакции значительно сокращается [9]. То обстоятельство, что при тетании ослабляется и сила возвратной тормозной реакции, указывает на повреждение при этом ра-

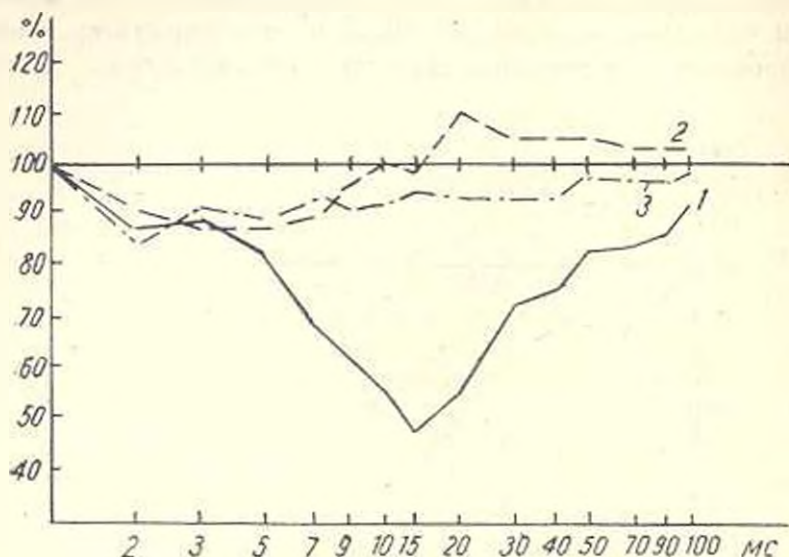


Рис. 2. Усредненные кривые времени течения возвратного торможения ответов в различные интервалы времени после антидромного раздражения у контрольных (1) и парагипопривных кошек до (2) и после введения хлористого кальция (3). Обозначения те же, что и на рис. 1.

боты и тормозных синапсов между аксонами клеток Рэншоу и мотонейронами. Это находит подтверждение в аналогичных данных, полученных при введении стрихнина и столбнячного токсина, блокирующих функцию тормозных синапсов [4].

Анализ полученных данных позволяет сделать вывод о важной роли гомеостаза кальция в обеспечении возвратного торможения и необходимости учета нарушенных при гипокальциемии возвратных тормозных механизмов для объяснения патогенеза нейромоторных расстройств при тетании.

ЛИТЕРАТУРА

1. Асратян А. А., Григорян В. З. Журн. exper. и клин. мед., 19, 3, 23—28, 1979.
2. Кахана М. С. Патологическая эндокринная система. М., 1968.
3. Келлг П., Келлг А. Гормоны, клетки, организм. М., 1971.
4. Круглов Н. А. Докт. дисс., М., 1970.
5. Крыжановский Г. Д., Дьяконова М. Р. Бюлл. exper. и клин. биол., 54, 9, 12—17, 1964.
6. Худавердян Д. Н. Бюлл. exper. и клин. мед., 83, 6, 654—656, 1977.
7. Худавердян Д. Н. Бюлл. exper. и клин. мед., 86, 12, 659—662, 1978.
8. Худавердян Д. Н., Татевосян А. Т. Журн. exper. и клин. мед., 18, 2, 23—28, 1978.
9. Eccles J. C., Eccles R. M., Iggo A., Lundberg A. J. Physiol. (Lond.), 159, 3, 461—478, 1961.
10. Morri, Fujita T., Orimo H., Okinaka S., Naka O. F. Endocrinol., 76, 1, 58—62, 1965.
11. Mulryan B. J., Neuman M. W., Neuman M. P., Toribara T. V. Amer. J. Physiol., 207, 4, 947—952, 1964.

Поступило 16.I 1987 г.

ОКИСЛЕНИЕ ЯНТАРНОЙ И α -КЕТОГЛУТАРОВОЙ КИСЛОТ В НЕКОТОРЫХ ЧАСТЯХ И СУБКЛЕТОЧНЫХ ЧАСТИЦАХ МОЗГА ПРИ СТАРЕНИИ

Ж. А. ПАРОНЯН, Э. Г. АДМИЦ, Г. В. АПРИКЯН, Э. С. АХВЕРДЯН

Институт биохимии АН Армянской ССР, Ереван

Аннотация — Показано, что по мере фракционирования мозговой ткани усиливается окисление янтарной кислоты, достигающее максимума в очищенной митохондриальной фракции. Наблюдаемое в гомогенатах (особенно ствола мозга) снижение интенсивности окисления янтарной кислоты при старении не улавливается во фракциях мозга и печени. Янтарная кислота по сравнению с α -кетоглутаровой является более эффективным субстратом окисления. В синапсомной фракции окисление α -кетоглутаровой кислоты при старении заметно усиливается, а в очищенной митохондриальной изменении выражены слабо.

Անոտացիա — Համեմատական ուսումնասիրությունը պարզել է, որ ուղեղից ստացված ֆրակցիաների զտմանը զուգընթաց ավելանում է ՍԲ օքսիդացման աստիճանը, Հեմագլոբինատներում, եւ, հատկապես, ցողունի հոմոգենատում ՍԲ-ի օքսիդացման հասակային թուլացում չի նկատվում ուղեղի և լյարդի զտված ֆրակցիաներում: Հետազոտված բոլոր ֆրակցիաներում ՍԲ-ի α -ԿԳ-ի հետ համեմատած օքսիդացման դերադասելի հիմնանրթ է:

α -ԿԳ-ն խթանում է հատուկ և մեր կենդանիների ուղեղի զտված միտոքոնդրիալ ֆրակցիայի նյութությունը, մեր կենդանիների դեպքում՝ որոշ շափով պակաս: Մեր կենդանիների ուղեղի նյարդային վերույթների ֆրակցիայում α -ԿԳ-ն ավելի լավ է օքսիդանում, քան երիտասարդների:

Abstract — The rate of succinate oxidation increased in the course of purification of rat brain subcellular particles.

The intensity of succinate oxidation in the cerebral cortex and especially in the brain stem homogenates decreased significantly, while in brain crude and purified mitochondrial and synaptosomal fractions and in liver mitochondrial fraction it did not change during ageing.

Oxidation of α -ketoglutarate in synaptosomal fraction was enhanced, while in mitochondrial fraction the changes with age were negligible.

Ключевые слова: мозг, старение, янтарная, α -кетоглутаровая кислоты

Глюкоза является основным источником энергии, необходимой для функционирования мозга. Однако в процессе старения ослабляется продукция энергии за счет глюкозы как в целом мозге [9], так и в его субклеточных частях [2], снижается уровень макроэргов [9] и полумакроэргов [5]. Дыхание мозга обеспечивается также окислением конечных продуктов гликолиза [12]. Из субстратов окисления, добавленных к очищенной митохондриальной фракции мозга (ОМФ), максимальное поглощение кислорода вызывает пировиноградная кислота (ПВ) — основной конечный продукт гликолиза. Сопоставимое с ПВ поглощение кислорода дает янтарная кислота (ЯК) [12], которой отводится особая роль в регулировании энергетических процессов организма. Она в значительной степени покрывает энергетические потребности миокарда при

старении, сердечной недостаточности [11]. Однако до сих пор остается не полностью выясненной роль ЯК в энергетическом обеспечении мозга, в особенности его субклеточных частиц, при старении. Цель нашего исследования состояла в выяснении возрастных изменений в интенсивности окисления ЯК и теснейшим образом связанной с нею в обменных процессах α -кетоглутаровой кислоты (α -КГ) в мозге и в некоторых субклеточных частицах его.

Материал и методика. Опыты были поставлены на белых крысах линии Вистар двух возрастных групп: половозрелых (5—6-месячных) и старых (24-месячных).

Животных обезглавливали, извлеченные большие полушария мозга помещали в 0,154 М раствор KCl. Мозг очищали от оболочек и кровеносных сосудов, отделяли кору и ствол мозга и готовили 20%-ный гомогенат на 0,32 М растворе сахарозы. На каждую пробу брали 1 мл гомогената коры или ствола мозга, что соответствовало 200 мг свежего веса. Все процедуры проводили при температуре, близкой к 0°.

Для получения митохондриальной (очищенной и неочищенной) и синапсомной фракций (СФ) из мозга готовили 10%-ный гомогенат на 0,32 М растворе сахарозы, содержащем 1 ммоль ЭДТА, pH 7,4. Неочищенную, очищенную и синапсомную фракции получали из целого мозга (без мозжечка) по ранее описанному методу [6, 11, 13]. На пробу брали 1 мл суспензии, приготовленной на 0,32 М растворе сахарозы, соответствующей 2,6—3,6 мг белка фракции.

Окисление ЯК при старении изучали и в митохондриальной фракции печени, которую выделяли по уже описанной нами методике [4]. На пробу брали 1 мл митохондриальной суспензии, соответствующей 500 мг свежего веса печени. Объем пикубатционной смеси во всех случаях доводили до двух мл К-фосфатным буфером, pH 7,4 [3].

Пробы ликубировали в течение 40 мин при 37°. Дыхание определяли манометрическим методом Варбурга, белок—по Лоури [14]. В качестве субстратов окисления использованы ЯК и α -КГ (Sigma, США) в конечных концентрациях 10 ммоль.

Результаты и обсуждение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что во всех исследованных нами фракциях, независимо от возраста животных, ЯК является эффективным субстратом окисления (табл. 1, 2). Однако в различных тканевых препаратах ЯК окисляется

Таблица 1. Интенсивность окисления янтарной кислоты в гомогенатах коры и ствола головного мозга белых крыс при старении (мкмоль O_2 /г свежей ткани/30 мин)

Возраст животных	Контроль	Янтарная кислота	
		количество	разница
К о р а м о з г а			
Половозрелые	28.94±0.69 (9)	55.82±0.71 (11)	26.88
Старые	29.0±0.89 (9) P>0.5	49.81±0.49 (12) P<0.001	20.81
С т в о л м о з г а			
Половозрелые	27.19±0.66 (6)	51.76±0.51 (9)	24.57
Старые	21.58±1.44 (6) P<0.005	36.69±0.79 (9) P<0.001	15.11

с разной интенсивностью. Так, если в гомогенатах коры и ствола мозга поглощение кислорода в присутствии ЯК усиливается приблизительно в два раза (табл. 1), в неочищенной митохондриальной фракции мозга—более чем в два раза, в СФ—почти в три раза (2,81 и 2,99), то в ОМФ—7,2 и 8,2 (табл. 2), а в митохондриальной фракции печени—в 9,08 и 9,5 раза (табл. 3) соответственно у половозрелых и старых животных. Сопоставление приведенных данных показывает, что по мере возрастания степени очищенности препаратов повышается интенсивность окисления ЯК, достигая максимума в чистых митохондриальных фракциях.

Таблица 2. Интенсивность окисления янтарной кислоты во фракциях головного мозга белых крыс при старении (экмоль O_2 /100 мг белка/30 мин)

Возраст животных	Контроль	Янтарная кислота	
		количество	разница
Неочищенная митохондриальная фракция			
Половозрелые	30.78±0.64 (9)	62.54±1.03 (9)	38.76
Старые	28.17±0.49 (9) P<0.005	73.39±2.05 (9) P>0.1	45.22
Очищенная митохондриальная фракция			
Половозрелые	22.51±1.38 (8)	162.34±3.65 (9)	139.80
Старые	18.79±0.63 (9) P<0.025	154.96±5.23 (9) P>0.2	136.17
Синапсомная фракция			
Половозрелые	42.77±2.33 (8)	120.36±3.95 (9)	77.59
Старые	37.29±3.29 (6) P>0.1	111.5±5.48 (9) P>0.2	74.21

Возрастные сдвиги в интенсивности окисления ЯК отчетливо выражены в гомогенатах коры и ствола мозга. По сравнению с половозрелыми в гомогенатах коры мозга старых животных окисление ЯК снижается на 22,6%, а в гомогенатах ствола—на 38,5%. Как и в случае с ГК [1], возрастное снижение интенсивности окисления ЯК отчетливо в стволе—более древнем отделе мозга. В остальных исследованных нами фракциях возрастная разница в степени окисления ЯК незначительна. Так, в неочищенной митохондриальной фракции старых животных намечается тенденция к усилению его (16,66%), а в ОМФ и СФ, наоборот, выявлено статистически недостоверное ослабление этого процесса ($P>0,2$ и $P>0,2$) (табл. 2).

В митохондриальной фракции печени ЯК усиленно окисляется как у молодых, так и у старых животных (табл. 3). У старых животных окисление ЯК протекает несколько интенсивнее ($P>0,05$).

Таблица 3. Окисление янтарной кислоты в митохондриальной фракции печени крыс при старении (мкмоль O_2 /100 мг белка/30 мин)

Возраст животных	Контроль	Янтарная кислота	
		количество	разница
Половозрелые	6.6±0.24 (23)	59.98±1.35 (25)	53.38
Старые	6.67±0.38 (18) $P > 0.5$	63.75±1.23 (21) $P > 0.05$	57.08

α -КГ по сравнению с ЯК является менее эффективным субстратом окисления, хотя хорошо окисляется в ОМФ и СФ мозга (табл. 2, 4). У животных обеих возрастных групп α -КГ стимулирует дыхание ОМФ мозга более чем в два раза. Окисление α -КГ у старых животных снижается на 15,06% (табл. 4).

Таблица 4. Интенсивность окисления α -КГ в очищенной митохондриальной и синапсомной фракциях головного мозга крыс при старении (мкмоль O_2 /100 мг белка/30 мин)

Возраст животных	Контроль	α -Кетоглутаровая кислота	
		количество	разница
Очищенная митохондриальная фракция			
Половозрелые	21.16 $\pm$ 0.63 (6)	46.43 $\pm$ 0.52 (8)	25.77
Старые	18.32 $\pm$ 2.04 (5) $P > 0.2$	40.21 $\pm$ 1.33 (6) $P < 0.01$	21.89
Синапсомная фракция			
Половозрелые	36.77 $\pm$ 1.21 (12)	49.51 $\pm$ 1.27 (8)	12.74
Старые	30.75 $\pm$ 0.86 (11) $P < 0.01$	57.35 $\pm$ 1.05 (7) $P < 0.01$	26.6

Как видно из данных, приведенных в табл. 4, эндогенное дыхание СФ мозга при старении снижается на 16,4%. При добавлении α -КГ в инкубационную среду поглощение кислорода стимулируется в зависимости от возраста в разной степени: у молодых дыхание СФ стимулируется на 34,65%, у старых — на 86,5%, т. е. у старых окисление α -КГ протекает значительно интенсивнее. Таким образом, в СФ в отличие от ОМФ к старости окисление α -КГ не только не снижается, а, наоборот, усиливается. Подобные данные о возрастном повышении интенсивности окисления глюкозы получены и в отношении миокарда [7].

Свободные и синапсомные митохондрии не только гетерогенны [15], но и при инкубировании находятся в разных условиях функцио-

пирования [11], что, по-видимому, и составляет основу разнонаправленных изменений в интенсивности окисления α -КГ в ОМФ и СФ при старении. Усиление окисления α -КГ и сравнительно небольшие изменения в эндогенном дыхании свидетельствуют о сохранности функции инкла трикарбоновых кислот СФ в старости. Усиление окисления α -КГ, возможно, имеет и компенсаторное значение. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что α -КГ по сравнению с ЯК является менее эффективным субстратом окисления (табл. 2 и 4), что совпадает с литературными данными [12].

Проведенные исследования заметных возрастных изменений в окислении ЯК на уровне ОМФ и СФ не выявили. Возрастные сдвиги отчетливее выражены в гомогенатах, и в особенности в гомогенатах ствола, что совпадает с полученными ранее результатами опытов с глутаминовой кислотой [1]. Данные о степени возрастных изменений в процессе окисления ЯК и α -КГ позволяют допустить, что при старении появляются ингибиторы изученных процессов, которые по мере фракционирования мозга удаляются, вследствие чего в очищенных фракциях не удастся выявить возрастных сдвигов. О существовании ингибиторов метаболических процессов имеются литературные данные [8].

ЛИТЕРАТУРА

1. Адуни Э. Г., Паронян Ж. А., Априкян Г. В. Биол. ж. Армения, 22, 110—115, 1979.
2. Адуни Э. Г., Паронян Ж. А., Априкян Г. В., Ахвердиан Э. С. Нейрохимия, 4, 428—431, 1985.
3. Априкян Г. В., Шагинян В. А. Вopr биохим. мозга, 5, 17—26, Ереван, 1969.
4. Априкян Г. В., Мкртчян Г. А., Бунятыян Г. Х. Ж. эвол. биохим. и физиол., 7, 5, 467—473, 1971.
5. Априкян Г. В., Паронян Ж. А., Мкртчян Г. А. Нейрохимия, 1, 243—248, 1982.
6. Априкян Г. В., Паронян Ж. А., Мкртчян Г. А., Адуни Э. Г., Мусагян С. С. ДАН АрмССР, 62, 50—53, 1976.
7. Богацкая Л. Н., Вержиковская Н. В. В кн.: Кровообращение и старость, 121—125, Киев, 1965.
8. Дамбинова С. А., Городицкий А. И. Биохимия, 49, 67—74, 1984.
9. Потапенко Р. И. 9-й междунар. конгр. геронт. Тезисы докл., 3, 375, 1972.
10. Фролькис В. В. В кн.: Старение и биологические возможности организма, 116—185, М., 1975.
11. Bradford H. F. J. Neurochem., 16, 675—684, 1969.
12. Clark J. B., Nicklas W. J. J. Biol. Chem., 245, 4724—4731, 1970.
13. Gray E. G., Whittaker V. P. J. Anat. (London), 96, 79—88, 1962.
14. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. J. Biol. Chem., 193, 265—275, 1951.
15. Neldle A., Van Den Berg C. J., Grinbaum Q. A. J. Neurochem., 16, 225—234, 1969.

Поступило 23.I 1986 г.

КИСЛЫЕ ФОСФАТАЗЫ И НЕОРГАНИЧЕСКАЯ ПИРОФОСФАТАЗА СУБКЛЕТОЧНЫХ ОБРАЗОВАНИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

Р. Р. НЕРСЕСЯН, Г. Т. АДУНИ

Институт биохимии АН Армянской ССР, Ереван

Аннотация — Исследовали активность кислой фосфатазы в субклеточных образованиях, выделенных из целого мозга крысы. Показано, что в зависимости от локализации, они различаются по своим максимальным активностям и некоторым свойствам.

Высокая активность кислой фосфатазы в отношении карбамил-, ацетилфосфатов в микросомах и синапосомах мозга подтверждает экстрализосомальную локализацию фермента.

Անոտացիա — Ուսումնասիրվել է թթու ֆոսֆատազայի ակտիվությունը ամենաբազիլիզիդից անջատված բլբի տարրեր զոյացութիւններում:

Յույց է տրվել, որ կախված տեղակայումից, նրանք տարբերվում են իրենց առաջնային ակտիվություններով և որոշ հատկություններով:

Թթու ֆոսֆատազայի բարձր ակտիվությունը կարբամիլ-, ազետիլֆոսֆատների նկատմամբ ուղեղի միկրոսոմներում և սինապտոսոմներում ապացուցում է ներմեմբրանի էքստրալիզոսոմալ տեղակայումը:

Abstract — Activity of acidic phosphatase in subcellular particles, isolated from rat brain, has been studied.

It has been shown that in dependence on their localization they differ in their maximum activity and some properties.

High activity of acidic phosphatase with reference to carbamyl-, acetylphosphates in brain microsomes and synaptosomes confirm extralysosomal localization of this enzyme.

Ключевые слова: мозг, субклеточные образования, карбамил-, ацетилфосфатаза, неорганическая пирофосфатаза.

Кислые фосфатазы (КФ 3.1.3.2) являются ферментами с низкой субстратной специфичностью, которые гидролизуют однозамещенные сложные эфиры ортофосфата. Установлено, что они отличаются друг от друга рядом физико-химических свойств [5, 15]. Физиологическое значение некоторых форм этих ферментов пока неизвестно. Хотя кислые фосфатазы относятся к группе гидролаз, они также катализуют реакции трансфосфорилирования, играющие, как известно, важную роль во многих биохимических процессах.

В настоящем сообщении приводятся результаты сравнительного исследования некоторых форм кислых фосфатаз в субклеточных образованиях мозга белых крыс.

Материал и методика. Исследования проводили на субклеточных частях, выделенных из головного мозга белых крыс. Ткань гомогенизировали в 0,32 М растворе сахарозы (1:10), фракционировали путем центрифугирования в градиенте плотностей сахарозы по схеме, описанной Манукян и сотр. [1].

Активность ферилфосфатазы определяли по методу Брая и Торне [5]. Реакционная смесь содержала 0,1 М ацетатный буфер, pH 5,0; 50 мМ фенолфосфатинатриевой соли (Sigma Chem. Co), исследуемые субклеточные фракции в количестве, соответствующем 20—40 мг исходной массы ткани. Реакцию останавливали добавлением

2 мл раствора Фолли-Чикалтеу. Удельную активность фермента вычисляли в микролях образованного фенола за 1 мин на мг белка. Для других кислых фосфатаз в качестве субстрата использовали карбамилфосфатдилитиевую (Sigma Chem. Co), ацетилфосфат-К-литиевую соль (Sigma Chem. Co) и пирофосфат (отечественного производства). Инкубационная смесь содержала: 0,08 М ацетатный буфер (рН 5,0), в зависимости от определяемой фосфатазы—6,0 мМ карбамилфосфата или 2,0 мМ ацетилфосфата, или 6,0 мМ пирофосфата (для неорганической пирофосфатазы) и исследуемые субклеточные фракции в количестве, соответствующем 20—40 мг исходной массы ткани. Кроме того, в зависимости от условий опыта, добавляли также следующие реагенты: Mg^{++} — 10^{-2} М, этилендиаминтетраацетат (ЭДТА)— 10^{-3} М. Общий объем реакционной смеси составлял 1 мл. Реакцию останавливали добавлением 30% трихлоруксусной кислоты. Об активности ферментов судили по простоте неорганического фосфата после 30-минутной инкубации при 37°. Неорганический фосфат определяли по Лоури-Нолесу [9], белок — по Лоури [10]. Удельную активность фермента вычисляли в микролях образованного фосфата за 1 мин на мг белка.

Результаты и обсуждение. Результаты определения активности изученных кислых фосфатаз в различных субклеточных образованиях мозга приведены в таблице. Видно, что активность кислой фенилфосфатазы проявлялась во всех исследованных субклеточных образованиях. Наиболее высокой она была в микросомах—75,5 мкМ фенола/мг белка, значительно ниже в митохондриях—3,8 мкМ фенола/мг белка и особенно низкой в синаптосомах—1,13 мкМ фенола/мг белка. Ионы магния, а также ЭДТА не влияли на активность митохондриального и синапсоматального фермента, но активировали микросомальный фермент.

Ранее нами было показано, что в мозге белых крыс функционирует высокоактивная фосфатаза, расщепляющая карбамилфосфат и относящаяся к классу низкомолекулярных фосфатаз. Данные настоящего исследования показали, что активность карбамилфосфатазы в митохондриях довольно высокая—15,5 мкМ Р/мг белка, но значительно ниже, чем в микросомальной фракции, где она проявляет наивысшую активность—141,1 мкМ Р/мг белка. Синаптосомы занимают промежуточное положение. В митохондриальной и синапсоматальной фракциях мозга Mg^{++} и ЭДТА никакого влияния на активность карбамилфосфатазы не оказывают. Только микросомальный фермент несколько стимулируется ионами магния.

В таблице представлены данные об активности еще одной кислой фосфатазы, субстратом для которой служит ацетилфосфат. Наиболее высокой активностью фермента обладает микросомальная фракция—120 мкМ Р/мг белка, хотя в митохондриях и синаптосомах он достаточно высокоактивен—41,1 и 24,0 мкМ Р/мг белка соответственно. Mg^{++} стимулирует активность микросомального фермента, тогда как ЭДТА и совместное добавление ЭДТА и Mg^{++} не оказывают никакого влияния.

Изучение механизмов превращений фосфорных эфиров и родственных им соединений представляет значительный интерес. Многочисленные представители этих соединений являются, с одной стороны, элементами биологических структур, с другой—промежуточными продуктами обмена. К последним относится пирофосфат, образующийся во всех субклеточных образованиях органов и тканей живых организмов. Неорганическая пирофосфатаза (КФ 3.6.1.1), расщепляющая пирофосфат,

Субклеточные частицы	Фенилфосфодинариевая соль, мкМ/мг белка			
	норма	Mg ⁺⁺	Mg ⁺⁺ + ЭДТА	ЭДТА
Митохондрии	3.8±0.16	3.88±1.16	3.84±0.18	3.8±0.16
Микросомы	75.0±1.80	89.80±1.37 P<0.001	90.00±1.40 P<0.001	85.0±1.30 P<0.01
Синапсомы	1.13±0.14	1.14±0.2	1.13±0.11	1.13±1.15
Карбамилфосфат, мкМ Р/мг белка				
Митохондрии	15.1±0.33	15.16±0.28	15.14±0.35	15.1±0.33
Микросомы	140.1±2.00	158.10±1.60 P<0.001	150.1±1.8 P<0.01	140.6±2.20
Синапсомы	45.0±3.0	45.4±3.10	45.2±3.0	45.0±3.1
Ацетилфосфат, мкМ Р/мг белка				
Митохондрии	41.2±2.3	45.5±2.9 P<0.5	41.0±2.0	41.1±2.34
Микросомы	120.3±1.5	131.9±2.4 P<0.01	129.0±2.6 P<0.01	120.6±2.0
Синапсомы	24.0±0.56	26.0±0.82 P<0.1	26.8±1.4 P<0.1	24.0±1.8
Неорганический пирофосфат, мкМ Р/мг белка				
Митохондрии	19.3±1.2	20.4±1.6	41.2±2.1 P<0.001	19.3±1.2
Микросомы	16.0±1.9	16.3±0.9	16.2±1.2	16.3±0.88
Синапсомы	0.97±0.17	1.1±0.11 P>0.5	1.16±0.12 P>0.5	0.97±0.07

играет важную роль в метаболических процессах и предотвращает его накопление, регулируя интенсивность этих реакций.

Изучение активности неорганической пирофосфатазы в различных субклеточных образованиях головного мозга белых крыс при кислом значении pH показало, что наиболее высокую активность фермент проявляет в митохондриальной фракции мозга—19,3 мкМ Р/мг белка. Ионы магния не повышают активности митохондриального фермента, а совместное добавление Mg⁺⁺ и ЭДТА приводит к удваиванию ее—44,2 мкМ Р/мг белка. В микросомах она ниже, чем в митохондриях, 16,3 мкМ Р/мг белка. Но особенно низка активность фермента в синапсоме, 0,97 мкМ Р/мг белка. Mg⁺⁺ с ЭДТА никакого воздействия на активность микросомального и синапсомального ферментов не оказывают.

В литературе имеются данные о том, что в печени крыс неорганическая пирофосфатаза преимущественно сосредоточена в митохондриях, где фермент имеет мембранную локализацию и участвует в синтезе АТФ [8].

По данным ряда авторов, кислые фосфатазы локализованы в тканях, богатых ретикулоэндоплазматическими элементами с высоким содержанием лизосом [4]. Однако результаты наших исследований показали, что в различных субклеточных образованиях мозга белых крыс в кислой зоне pH действуют кислые фосфатазы, расщепляющие различ-

ные фосфорные эфиры. Эти ферменты, судя по внутриклеточной локализации и эффектам специфических ингибиторов и активаторов, по всей вероятности, относятся к различным классам кислых фосфатаз [2]: высокомолекулярным и низкомолекулярным. Последние отличаются друг от друга субстратной специфичностью и различной чувствительностью к эффекторам [19]. Полученные нами данные о высокой активности кислой фосфатазы в микросомальной фракции мозга говорят о том, что этот фермент активен не только в лизосомах, но и в других субклеточных структурах, где, по всей вероятности, может иметь отличную от лизосомальных фосфатаз функцию. Сравнительно высокая активность кислой фосфатазы по отношению к карбамил- и ацилфосфатам в синаптических также подтверждает экстрализосомальную локализацию фермента.

В ряде работ показано [15], что карбамилфосфатаза действует совместно с K^+ -зависимыми фосфатазами, п-нитрофенилфосфатазой и ацилфосфатазой, которые стимулируются ионами калия и являются частью энзиматического комплекса Na^+ , K^+ -зависимой АТФазы.

Известно, что исследованные нами субстраты и соответствующие ферменты участвуют в гидролазной и трансферазной реакциях в микросомальной фракции. Карбамилфосфатаза и неорганическая пирофосфатаза гидролизуют глюкозо-6-фосфат [7], но являются разными фосфогидролазами. В микросомальной фракции карбамилфосфат ингибирует пирофосфат-фосфогидролазную активность, а в митохондриальной фракции этого не наблюдается.

Проведенные нами исследования показали, что кислая неорганическая пирофосфатаза высокоактивна в митохондриальной фракции мозга. Митохондриальный фермент активируется Mg^{++} . ЭДТА никакого действия не оказывает, но совместное добавление Mg^{++} и ЭДТА повышает активность фермента в два раза. Такого эффекта не наблюдается в других субклеточных образованиях. По данным Нордалис [11], неорганические пирофосфатазы в зависимости от локализации—в микросомах, митохондриях и растворимой фракции—отличаются друг от друга рядом свойств и оптимумом pH. Следует отметить также, что очень активная высокоспецифическая неорганическая пирофосфатаза, присутствующая в растворимой фракции печени крыс, дает острый максимум при pH 7.5. Стимуляция этого фермента зависит от удаления эндогенного высоконигбирующего Ca^{++} хелатными агентами. А в наших экспериментах при кислом значении pH ЭДТА (10^{-2} , 10^{-4}) не оказывал никакого воздействия на митохондриальный и микросомальный ферменты.

В литературе имеются данные о других ферментах, отличающихся друг от друга в зависимости от локализации своими свойствами, но являющихся различными формами одного и того же фермента, например, растворимая и митохондриальная формы аспаратаминотрансферазы (КФ 2.6.1.1) [14] и растворимая и лизосомальная формы фосфопротенилфосфатазы (КФ 3.1.3.16) [12].

По данным ряда авторов [6], в мозговой ткани отсутствуют процессы начального этапа синтеза мочевины, в том числе и карбамилфосфата. Возможно, функция фермента, расщепляющего карбамилфосфат в

мозговой ткани, связана не с циклом мочевины, а с каким-то другим обменным процессом.

Проведенные нами исследования дают основание предположить, что митохондриальный и микросомальный ферменты являются различными молекулярными формами кислых фосфатаз.

ЛИТЕРАТУРА

1. Манукян К. Г., Левонян К. М., Степанян А. А., Киракосян Л. Г., Казарян Т. Н. *Вопр. биохимии мозга*, 12, 68, Ереван, 1977.
2. Норкесян Р. Р., Аюрян Г. Т. *Биолог. ж. Армении*, 35, 3, 1982.
3. Baidijac C. K. M., Guira E., Bilezikian H. M. S., Chaimovich H. *Biochim. Biophys. Acta*, 391, 316, 1975.
4. Bowers W. E., De Dure C. J. *Cell. Biol.*, 32, 2, 333, 1976.
5. Bray H. G., Thorpe W. V. *Methods of Biochem. Analysis*, 1, 27, 1961.
6. Buntiatian H. Ch., Davtian M. A. *J. Neurochem.*, 13, 743, 1966.
7. Herman J. L., Nordin R. C. *Arch. Biochem. Biophys.*, 152, 180, 1976.
8. Jabuta J. M., Kimura R., Shindo J., Tomia K. I. *Biol. Chem.*, 67, 47, 1970.
9. Lowry O. H., Lopez J. A. *J. Biol. Chem.*, 162, 3421, 1946.
10. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. *J. Biol. Chem.*, 193, 265, 1951.
11. Nordlie R. C., Lardy H. L. *Biochim. Biophys. Acta*, 53, 309, 1961.
12. Paigen K., Griffiths S. K. *J. Biol. Chem.*, 234, 259, 1959.
13. Pedro Soares de Araujo, Miles V., Miranda O. *Biochim. Biophys. Acta*, 452, 121, 1976.
14. Sheid B., Morris H. P., Roth I. S. *J. Biol. Chem.*, 240, 3016, 1965.
15. Tanizaki M. U., Bittencourt H. M. S., Chaimovich H. *Biochim. Biophys. Acta*, 485, 116, 1977.

Получено 13 VI 1986 г.

Биолог. ж. Армении, т. 40, № 7, 546—550, 1987

УДК 577.112:547.915.5:591.412

ФОСФОЛИПИДНЫЙ СОСТАВ ПРОТЕОЛИПИДОВ ИЗ СЕРДЦА КРЫСЫ

К. Л. ЛЕВОНЯН, К. Г. МАНУКЯН

Институт биохимии АН Армянской ССР, г. Ереван

Аннотация — Изучен фосфолипидный состав протеолипидов из сердца крысы, «очищенных» в разной степени от липидов. Фосфолипиды составляют 41,4% от массы неочищенных ПЛ и 18—13% от массы очищенных в зависимости от условий очистки. По мере очистки в протеолипидах сердечной мышцы снижается содержание менее прочно связанных с белком нейтральных фосфолипидов и возрастает содержание более прочно связанных кислых, особенно дифосфатидилглицеринов. Последние являются преобладающими фосфолипидами очищенных ПЛ, составляя более половины всех связанных фосфолипидов.

Անոտացիա — Առամեմասխրվել է առեւտները սրտից անջատված լիպիդներից տարբեր աստիճանի մաքրված պրոտեոլիպիդների ֆոսֆոլիպիդային կազմը: Ֆոսֆոլիպիդները կազմում են ընթացված ՊԼ-ների մասսայի 41,4%, իսկ մաքրվածների՝ 18—13%, կախված մաքրման պայմաններից: Մաքրման ընթացքում սրտամկանի ՊԼ-ներում պակասում է ավիտակուցի հետ աղիքի թույլ կապված ընդոր ֆոսֆոլիպիդների քանակը, իսկ ազելի ամուր կապված թթու ֆոսֆոլիպիդների, հատկապես դիֆոսֆատիդիլգլցերինի քանակը աճելանում է: Վերջինները հանդիսանում են մաքրված ՊԼ-ների գերակշռող ֆոսֆոլիպիդները, որոնք կազմում են բոլոր կապված ֆոսֆոլիպիդների կեսից ավելին:

Abstract — Phospholipid composition of rat heart proteolipids, „purified“ to various degree from lipids has been studied. Crude PL contain 41,4% of phospholipids and purified — 18-13%, depending on conditions of purification. During purification in PL decreased the concentration of less tightly bound with PL protein neutral phospholipids and increased the content of more tightly bound acidic phospholipids. The latter predominate in purified PL, making up more than the half of all the connected phospholipids.

Ключевые слова: сердце, протеолипиды, фосфолипидный состав.

Протеолипиды (ПЛ), выделенные впервые Фолчем и Лис в 1951 г. [9], являются гидрофобными липопротеинами, которым отводится определенная роль в структуре и функциях различных мембран, в частности, митохондриальных. После мозга из всех органов наиболее богато ПЛ сердце [1, 9], где они локализованы в основном в митохондриях [14], и, как полагают, могут участвовать в процессах трансформации энергии [7, 15]. В связи с предполагаемой важной функцией ПЛ исследование строения и свойств этих липидно-белковых комплексов в сердечной мышце представляет значительный интерес. В литературе имеются некоторые данные относительно белковой части ПЛ [11], липидный компонент изучен меньше.

В настоящей работе представлены результаты исследования качественного состава и количественных соотношений фосфолипидов (ФЛ), связанных с ПЛ и выделенных в виде растворимых, «очищенных» в разной степени от липидов липидно-белковых комплексов из сердца крысы. Параллельно определяли фосфолипидный состав суммарных липидных экстрактов.

Материал и методика. Опыты проводили на беспородных белых крысах массой 180 г. Крыс декапитировали. Сердце из льду очищали от крови и оболочек. Кашицу из сердечной мышцы промывали несколько раз охлажденным раствором 0,9%-ного NaCl. Липидные экстракты, содержащие ПЛ, получали и отмывали по методу Фолча и др. [10]. ПЛ выделяли из промытых липидных экстрактов методом эмульгирования—центрифугирования [3], с той разницей, что исключали последнее центрифугирование при 200 g, так как было замечено, что при этом утрачивается значительная часть ПЛ. Полученные препараты неочищенных ПЛ (НПЛ) после лиофилизации полностью растворялись в смесях хлороформ—метанол—вода (86:14:1 или 2:1 0,2). Следует отметить, что до сих пор не удавалось получить растворимые препараты ПЛ с помощью этого метода [8, 13], который применяется только для выделения ПЛ из мозга.

Лиофилизированные осадки НПЛ промывали 2 раза 250—300-кратным объемом смеси спирт—эфир (1:1) при -12° и $+23^{\circ}$. Полученные в результате «очищенные» ПЛ (ОПЛ) растворяли в смеси хлороформ—метанол—вода (2:1 0,2), определяли поглощение света при длине волны 278,5 нм, после чего пробы выпаривали досуха. Расщепление ОПЛ, экстракцию и отмывку липидного компонента производили по методике, описанной ранее [3]. ФЛ разделяли методом восходящей хроматографии на бумаге, пропитанной кремниевой кислотой [6]. Исследованию подвергали экстракты липидов, выделенных нейтральной и подкисленной HCl до 0,04 N хлороформ-метаноловой смесью из ОПЛ, а также спирт-эфирные отмывы НПЛ. О фосфолипидном составе НПЛ судили по сумме ФЛ спирт-эфирных отмывов + ФЛ ОПЛ. Белок ПЛ определяли по методу Лис и Максман [12].

Результаты и обсуждение. В табл. 1 представлены данные о содержании белка ПЛ в суммарных липидных экстрактах сердечной мыш-

цы, а также НПЛ и полученных после их промывания смесью спирт—эфир) (1:1) при разных температурах ОПЛ. Промывание НПЛ при -12° приводит к удалению 43% всего материала, а при $+23^{\circ}$ —48%. Коэффициент оптической плотности препаратов ОПЛ при λ 278,5 нм составляет 11,1—11,5, что совпадает с данными о таковых мозга [3, 4].

Таблица 1. Содержание ПЛ в сердце крысы

Белок общих липидных экстрактов	мг на 1 г влажной массы		$E_{1\%}^{1\text{см}}$ λ 278,5 нм			
	НПЛ	ОПЛ		ОПЛ		
		-12°	$+23^{\circ}$	-12°	$+23^{\circ}$	
$3,66 \pm 0,08$ (25)	$7,48 \pm 0,26$ (14)	4,24 (2)	$3,85 \pm 0,26$ (12)	11,14 (2)	$11,51 \pm 0,60$ (8)	

В связи с тем, что с ПЛ сердца связаны в основном ФЛ, а гликолипиды и холестерин не обнаруживаются или присутствуют в небольших количествах [2, 8, 14], нами был изучен подробно фосфолипидный состав «очищенных» в разной степени ПЛ. Как видно из табл. 2, ФЛ составляют 41,1% от массы НПЛ и 18 и 13% от массы ОПЛ, промытых при разных температурах. С НПЛ связано 14,5% всех ФЛ суммарного липидного экстракта сердечной мышцы, а с ОПЛ, полученными после отмывки НПЛ при -12° и $+23^{\circ}$, —3,6 и 2,4% соответственно.

Таблица 2. Содержание ФЛ, связанных с НПЛ и ОПЛ сердца крысы

Фосфолипиды					
НПЛ		ОПЛ			
		-12°		$+23^{\circ}$	
% от веса НПЛ	% от ФЛ суммарного ли- пидного эк- стракта	% от веса ОПЛ	% от ФЛ суммарного липидного экстракта	% от веса ОПЛ	% от ФЛ суммарного липидного экстракта
41,39	14,49	17,94	3,64	12,96	2,39

В табл. 3 представлен фосфолипидный состав суммарного липидного экстракта, НПЛ и полученных после промывания последних ОПЛ сердечной мышцы. Содержание каждого ФЛ приведено в процентах от суммы ФЛ. Видно, что НПЛ содержат значительные количества нейтральных ФЛ (фосфатидилхолинов и фосфатидилэтаноламинов), которые преобладают в НПЛ, а также сфингомиелинов и лизофосфатидилхолинов. Однако по сравнению с суммарным липидным экстрактом они характеризуются несколько более низким содержанием нейтральных ФЛ и более высоким кислых, особенно дифосфатидилглицеринов. Преобладание кислых ФЛ становится более выраженным по мере «очистки» ПЛ, которая приводит к почти полному удалению менее прочно связанных нейтральных ФЛ. ОПЛ, полученные после промывания НПЛ, содержат в основном кислые ФЛ, лизофосфатидилхолины и сфин-

гомиелины отсутствуют, а фосфатидилхолины и фосфатидилэтаноламины составляют в сумме 10—12%. Преобладающими ФЛ ОПЛ являются дифосфатидилглицерины, составляющие 54% от суммы всех связанных ФЛ, в меньших количествах содержатся фосфатидилсерины—8—11% и монофосфоинозитиды—8—10%. Кроме того, в составе ФЛ ОПЛ были обнаружены неидентифицированные пока кислые ФЛ (пять 4 и

Таблица 3. Фосфолипидный состав суммарных липидных экстрактов и ПЛ из сердца крысы, % от суммы Р липидов

Фосфолипиды	Суммарный липидный экстракт (11)	НПЛ (12)	ОПЛ	
			-12- (2)	+23 (9)
1. Линия старта	2.92	2.90	6.15	6.03
2. Неидентифицированные	0.36	0.51	4.57	2.40
3. Лизофосфатидилхолины	1.11	3.53	—	—
4. Неидентифицированные	—	0.65	3.09	3.63
5. Монофосфоинозитиды	3.94	4.31	9.83	7.79
6. Сфингомиелины	4.22	5.05	—	—
7. Фосфатидилхолины	42.65	36.79	7.29	5.13
8. Неидентифицированные	—	0.54	2.07	4.92
9. Фосфатидилсерины	5.05	6.32	8.22	10.73
10. Фосфатидилэтаноламины	30.04	21.54	4.70	5.23
11. Дифосфатидилглицерины	9.69	17.86	54.09	54.14
Кислые фосфолипиды 2+4+5+8+9+11	19.04	30.19	81.87	83.61
Нейтральные фосфолипиды 3+6+7+10	78.06	66.91	11.99	10.36
Сумма фосфолипидов (мкг Р в сухой массе)	835.04	121.03	30.43	18.73

Примечание: все приведенные в табл. проценты вычислены на основании статистически достоверных данных. В скобках число опытов

8), которые не удавалось выявить на хроматограммах ФЛ суммарного липидного экстракта и спиртэфирных отмывов НПЛ. В отличие от них неидентифицированные кислые ФЛ пять 2 обнаруживались как в суммарном липидном экстракте, так и в спирт-эфирных отмывах НПЛ.

Приведенные данные отчетливо показывают, что НПЛ и особенно ОПЛ по сравнению с суммарным липидным экстрактом, из которого они выделены, обогащены кислыми ФЛ: монофосфоинозитидами, фосфатидилсеринами, неидентифицированными кислыми ФЛ и особенно дифосфатидилглицеринами. Сумма кислых ФЛ в суммарном липидном экстракте сердца составляет 19, в НПЛ—30, а ОПЛ—82—84% (табл. 3).

Таким образом, ПЛ сердца, как и мозга [4, 5], имеют большое сходство к кислым ФЛ. По своему фосфолипидному составу они отличаются от ПЛ, выделенных из белого вещества мозга и миелина, где преобладающими ФЛ являются фосфатидилсерины, и приближаются к ПЛ серого вещества и митохондрий мозга, где основными ФЛ являются дифосфатидилглицерины, составляющие 33—46% от суммы ФЛ [4, 5]. Этим кислым ФЛ, как известно, отводится важная роль в структуре и функциях внутренней мембраны митохондрий.

Наши данные в отношении фосфолипидного состава ПЛ, выделенных из сердца с помощью метода эмульгирования-центрифугирования, в основном согласуются с данными Мураками и др. [14] и особенно

Эйхберга [8], которые выделили и очистили П.Л. сердечной мышцы другими методами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Киракосян Л. Г., Манукян К. Г., Левонян К. Л. Биолог. ж. Армении, 54, 789—794, 1981.
2. Левонян К. Л., Манукян К. Г., Казарян Т. И. Тез. докл. IV Всесоюзн. симп. по биохимии липидов, 68, Киев, 1983.
3. Манукян К. Г., Киракосян Л. Г., Левонян К. Л. В сб.: Вопр. биохимии мозга, 7, 140—149, Ереван, 1972.
4. Манукян К. Г. В сб.: Вопр. биохимии мозга, 13, 86—106, Ереван, 1979.
5. Манукян К. Г. Нейрохимия, 1, 51—65, 1982.
6. Смирнов А. А., Чирковская Е. В., Манукян К. Г. Биохимия, 26, 1027—1033, 1961.
7. Blondin G. A. Biochem. Biophys. Res. Commun., 87, 1057—1094, 1979.
8. Eichberg J. Biochim. Biophys. Acta, 167, 533—545, 1968.
9. Folch J., Lees M. J. Biol. Chem., 191, 807—817, 1951.
10. Folch J., Lees M. B., Sloane—Stanley G. H. J. Biol. Chem., 226, 497—509, 1957.
11. Folch—Pi J., Sakura D. J. Biochim. Biophys. Acta, 427, 410—427, 1976.
12. Lees M. R., Paxman S. Analyt. Biochem., 47, 184—192, 1972.
13. Murakami M., Sekine H., Funahashi S. J. Biochemistry (Japan), 51, 431—435, 1962.
14. Murakami M., Ozawa Y., Funahashi S. J. Biochemistry (Japan), 54, 166—172, 1963.
15. Racker E. Biochem. Soc. Trans., 3, 785—802, 1975.

Поступило 13.VI 1986 г.

Биолог. ж. Армении, т. 40, № 7, 550—554, 1987

УДК 577.15:547.952+546.18

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ЦЕРЕБРОЗИДОВ НА АКТИВНОСТЬ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ПЕЧЕНИ И МИОКАРДА КРЫС

Г. М. САРКИСОВА, Л. В. СУКНАСЯН, О. П. СОЦКИЯ,
Д. Ц. ПОГОСЯН, Г. А. ЧУХАДЖЯН

Ереванский государственный медицинский институт, кафедра
биоорганической и биофизической химии

Аннотация — Показано, что длительное введение цереброзидов (5 мг/кг массы животного) приводит к разнонаправленным сдвигам в активности сукцинатдегидрогеназы печени и миокарда. Обсуждается возможное влияние изменений в фосфолипидном спектре на активность указанного фермента.

Անոտացիա — Զույգ է տրված, որ ընդերքադրոնների երկարատև ներարկումը (5 մգ/կգ կենդանու մասսային) բերում է լյարդի և արտավանի ՍԴՀ-ի ակտիվության տարբեր ուղղություններով տեղաշարժի.

Վերարկում է ֆոսֆոլիպիդների սպեկտրի նախաձևը ազդեցությունը ՍԴՀ-ի ակտիվության վրա:

Abstract — It is demonstrated that chronic injection of cerebroside (5 mg/kg of animal body) brings to alterations in the succinate dehydrogenase activity in the rats liver and myocardium. A possible role of the changes in phospholipids spectrum on the succinate dehydrogenase activity is discussed.

Ранее было показано, что длительное введение цереброзидов (ЦБ) приводит к нарушениям в энергетическом обмене печени, выражающимся в уменьшении содержания макроэргов (АТФ, АДФ, АМФ), являющихся важнейшими регуляторами метаболических процессов в клетке [8].

Поскольку более 80% АТФ синтезируется в митохондриях, логично предположить, что одна из причин подавления синтеза адениннуклеотидов заключается во влиянии вводимых ЦБ или продуктов их распада на функциональное состояние ферментов дыхательной цепи, в том числе и сукцинатдегидрогеназы (СДГ), представляющей собой часть полиферментного комплекса сукцинатоксидазы, структурно и функционально связанной с внутренней мембраной митохондрий.

За последнее время выявлен ряд липидзависимых ферментов, в регуляции активности которых большое значение придается белок-липидным взаимодействиям [1]. Так как к указанным ферментам относится СДГ, целью настоящего исследования явилось изучение ее активности и фосфолипидного состава тканей печени и сердца в условиях длительного введения ЦБ.

Материал и методика. Опыты проведены на 40 белых беспородных крысах-самках массой 120—150 г, содержащихся на обычном лабораторном рационе. Животным ежедневно на протяжении трех месяцев внутрибрюшинно вводили смесь этанола с физиологическим раствором, взятых в соотношении 1:40 (в объемах)—контрольная группа и эмульсию ЦБ, приготовленную из указанной смеси из расчета 5 мг/кг массы—опытная группа.

Суммарную фракцию ЦБ выделяли из мозга крупного рогатого скота по методу Флауэрс [10] с последующей очисткой на колонке с силикагелем [15]. По истечении указанного срока животных забивали декапитацией под легким эфирным наркозом. Активность СДГ в митохондриальных фракциях печени и сердца изучали методом Кинга [12] и выражали в ммоль окисленного сукцината в 1 мин/мг белка митохондрий. Содержание белка в пробах определяли методом Лоури с соавт. [13]. Общие липиды экстрагировали из ацетоновых порошков печени и сердечной мышцы методом Карагеяна [3]. Фракционирование фосфолипидов осуществляли методом бумажной хроматографии с последующим определением в них содержания липидного фосфора [3].

Полученные данные обрабатывали общепринятым методом с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Как видно из данных, приведенных в табл. 1, активность СДГ в митохондриях печени животных, получавших ЦБ в течение трех месяцев, статистически достоверно снижается на 37%, и то время как в митохондриях сердечной мышцы наблюдается некоторая тенденция к активации. Следует отметить, что такую же разнонаправленность в действии эндогенных биологически активных веществ на СДГ митохондрий, выделенных из разных тканей, наблюдали другие исследователи. Так, было показано, что норадреналин и серотонин повышают активность СДГ в митохондриях и гомогенате мозга, но подавляют ее в соответствующих препаратах печени [2]. Причину этого явления автор усматривает, с одной стороны, в особенностях СДГ изучаемого объекта, с другой—в различных концентрациях используемых биологически активных соединений. Следовательно, обнаруженная нами

разнонаправленность во влиянии вводимых ЦБ на активность СДГ в печени и миокарде, по-видимому, объясняется тем, что первая является основным органом-мишенью для экзогенных ЦБ, а митохондрии второй обладают наиболее мощной окислительной системой—сукцинатоксидазной системой [11].

Таблица 1. Влияние цереброзидов на активность СДГ митохондрий печени и сердца крыс, имевших окисленного сукцината в 1 мин/мг белка митохондрий ($M \pm m$)

Группа	Вид ткани	
	печень n=9	сердце n=8
Контроль	4.47 ± 0.27	4.02 ± 0.10
Опыт	2.72 ± 0.23	4.22 ± 0.28
P	<0.001	>0.05

n—число опытов.

Согласно сложившимся представлениям, функционирование мембраносвязанных липидсодержащих и липидзависимых ферментных систем, обеспечивающих многие функциональные свойства биологических мембран, осуществляется в результате липид-липидных и липид-белковых взаимодействий в плазматических мембранах [5, 6]. В свете сказанного не исключается роль изменений в составе холестерина митохондриальных мембран в выявленных сдвигах в активности СДГ изученных тканей. На это указывают результаты наших предыдущих исследований [9], в которых было показано, что трехмесячное введение суммарной мозговой фракции ЦБ приводит к существенным нарушениям в обмене холестерина в печени и миокарде экспериментальных животных. Учитывая то обстоятельство, что фосфолипиды, наряду с холестерином, являются основным компонентом липидного матрикса мембран, мы сочли целесообразным изучение общего содержания фосфолипидов и их фракционного спектра в условиях эксперимента.

Установлено, что суммарное количество фосфолипидов в печени животных контрольной группы составляет $2310,00 \pm 43,20$ мкг $P_{\text{н}}$ /г сухого веса ткани и не претерпевает статистически достоверных изменений под влиянием ЦБ— $2365,20 \pm 9,93$ мкг $P_{\text{н}}$ /г ($P > 0,05$). Интересно, что содержание фосфолипидов не изменяется и в сердечной мышце животных опытной группы— $2318,40 \pm 8,50$ мкг $P_{\text{н}}$ /г сухого веса ткани против $2277,60 \pm 26,1$ мкг $P_{\text{н}}$ /г ($P > 0,05$) в контроле.

При сопоставлении спектров фосфолипидов печени и миокарда животных обеих групп выявляется межфракционное перераспределение среди фосфатидил-глицеридов, выражающееся в изменении процентного содержания отдельных фракций.

При анализе полученных данных наше внимание привлекли сдвиги в процентном содержании тех фракций фосфолипидов, участие которых в энергетическом обмене общепризнано, в частности, фосфатидилинозитов (ФИ), кардиолипидов (КЛ) и сфингомиелинов (СФМ). Дан-

ные, представленные в табл. 2, свидетельствуют о выраженных изменениях в уровне указанных фракций. Так, следует отметить увеличение в печени животных опытной группы по сравнению с контрольной относительного количества ФИ на 38% и в сердечной мышце — КЛ на 22%. Рядом авторов получены убедительные данные о высокой степени реактивности ФИ в обменных процессах при различных функциональных состояниях организма [4] и реактивирующем эффекте КЛ на некоторые ферментные системы дыхательной цепи митохондрий, в том числе и СДГ [14]. Это позволило предположить, что выявленные изменения в составе фосфолипидов носят компенсаторно-восстановительный характер и направлены на нормализацию энергетического обмена и указанных видах ткани.

Таблица 2. Влияние перекисидов на фракционный состав фосфолипидов печени и сердца крыс. % ($M \pm m$)

Вид ткани	Печень		Сердечная мышца	
	Контроль n=2	Опыт n=20	Контроль n=20	Опыт n=20
Фракции ФЛ				
ЛФХ	23.65 $\pm$ 0.44	13.73 $\pm$ 0.24*	7.75 $\pm$ 0.44	9.63 $\pm$ 0.24*
ФИ	9.10 $\pm$ 0.50	12.56 $\pm$ 0.24*	7.75 $\pm$ 0.44	8.13 $\pm$ 0.24
СФМ	20.00 $\pm$ 0.50	12.30 $\pm$ 0.24*	10.70 $\pm$ 0.50	14.20 $\pm$ 0.24*
ФХ	33.82 $\pm$ 0.44	37.82 $\pm$ 0.09*	38.78 $\pm$ 2.07	36.67 $\pm$ 0.07*
ФС	3.63 $\pm$ 0.00	5.93 $\pm$ 0.24*	6.25 $\pm$ 0.44	4.53 $\pm$ 0.14
ФЭ	9.80 $\pm$ 0.38	17.60 $\pm$ 0.14*	17.35 $\pm$ 0.44	12.53 $\pm$ 0.24*
КЛ	—	—	11.42 $\pm$ 0.50	14.31 $\pm$ 0.20*
НФЛ	87.30 $\pm$ 1.00	81.54 $\pm$ 0.75	74.60 $\pm$ 1.57	73.30 $\pm$ 0.55
КФЛ	12.70 $\pm$ 0.50	18.50 $\pm$ 0.00*	25.40 $\pm$ 1.38	26.70 $\pm$ 0.00
НФЛ КФЛ	6.87 $\pm$ 0.35	4.41 $\pm$ 0.01*	2.90 $\pm$ 0.09	2.70 $\pm$ 0.02
Сумма	100.00	100.00	100.00	100.00

* $P < 0.05$; в остальных случаях $P > 0.05$.

Другой причиной отсутствия сдвигов в активности СДГ в миокарде в условиях проводимого эксперимента, возможно, является статистически достоверное увеличение относительного содержания фракции СФМ на 33%, которой отводится коферментная роль в процессах окислительного фосфорилирования [7], в то время как в биоструктурах печени наблюдается снижение ее приблизительно на 39%.

Поскольку в настоящее время установлено существование двух отдельных категорий фосфолипидов — функционально активных — кислых (КФЛ) по своей природе и метаболически относительно более инертных — нейтральных (НФЛ), (поддерживающих структуру-функцию-нальную активность мембраносвязанных комплексов [1, 4], — нами было обращено внимание на сдвиги в суммарных количествах НФЛ и КФЛ.

Полученные данные свидетельствуют об определенных изменениях в содержании указанных представителей фосфолипидов как в тканях печени, так и сердца животных, получавших ЦБ. Так, в первой из них уровень НФЛ проявляет тенденцию к уменьшению, а КФЛ — к увеличению почти на 45%, что приводит к уменьшению соотношения НФЛ/

КФЛ на 32%, постоянство которого имеет существенное значение для поддержания нормального течения ряда физиологических функций клетки. Во второй не было выявлено заметных сдвигов в уровне НФЛ и КФЛ и величине коэффициента НФЛ/КФЛ.

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что длительное введение ЦБ приводит к выраженным изменениям соотношений между фосфолипидами, что чревато серьезными нарушениями в структурно-функциональных свойствах клеточных мембран и активности мембраносвязанных липидзависимых ферментов, в частности СДГ печени и сердца животных опытной группы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бурлакова Е. Б., Джалыбова М. И., Гвахария В. О. и др. В кн.: Биогенноокислятели в регуляции метаболизма в норме и патологии. 113—141, М., 1982.
2. Вдовиченко Л. М. Биохимия, 38, 1, 22—27, 1973.
3. Карагезян К. Г. Лаб. дело. 1, 23—27, 1969.
4. Карагезян К. Г. Фосфолипиды и их роль в жизнедеятельности организма. Ереван, 1972.
5. Крекс Е. М. Липиды клеточных мембран Л., 1981.
6. Саатов Т. С. Укр. биохим. ж., 53, 2, 44—51, 1981.
7. Скулачев В. П. Трансформация энергии в биомембранах. М., 1972.
8. Соцкий О. П., Саркисова Г. М., Чухаджян Г. А. Биол. ж. Армения, 38, 1, 25—28, 1985.
9. Соцкий О. П., Саркисова Г. М., Чухаджян Г. А. Ж. exper. и клинич. медицины, 25, 6, 541—546, 1985.
10. Флауэрс Г. М. В кн.: Методы исследования углеводов 344—348, М., 1975.
11. Kanfer J. J. Biol., Chem., 240, 2, 609—612, 1965.
12. King T. Methods in Enzymology, 10, 322—324, 1967.
13. Lowry O., Rosenbrought N., Farr O., Randall R. J. Biol. Chem., 193, 265—275, 1950.
14. Santiago E., Lopes—Worotulla N., Segovia J. J. Biochem. and Biophys. Res. Commun., 53, 2, 439—446, 1973.
15. Vance D., Sweeley Ch. J. Lipid Res., 5, 621—630, 1967.

Поступило 27.III 1986 г.

Биол. ж. Армения, т. 40, № 7, 554—559, 1987

УДК 612.171:612.741

ДЕЙСТВИЕ ВЕРАПАМИЛА НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МИОФИБРИЛЛЯРНЫХ БЕЛКОВ МИОКАРДА

М. А. КАПАДЖЯН

Институт кардиологии МЗ Армянской ССР им. Л. А. Оганесян, Ереван

Аннотация — Показано, что верапамил в присутствии ионов Ca^{2+} действует «разобщающе» на процесс комплексообразования актомиозина и его ферментативную способность: активирует суперрецептизацию и тормозит АТФ-азную реакцию. Неоднозначный характер модуляции верапамилем этих параметров на фоне различных pCa указывает на то, что ингибирование протекает по аллостерическому типу. Предполагается, что верапамил связывается на специфическом, отличном от Ca^{2+} -связывающего, участке белка.

Անալոգիա — Վերապամիլը Ca^{2+} ներկայությամբ ակտիվացնում է ակտոմիոզինի փոխազդեցությունը ԱՏՖ-ի հետ (սուպերպրեցիպիտացիայի էրեպթիզ) և արգելափակում է նրա ֆերմենտային ակտիվությունը (ԱՏՖ-ազային ակտիվությունը), Վերապամիլի ներգործության աստիճանը կախված է Ca^{2+} բանակից միջազայնում և ունի ալլոստերիկ բնույթ: Ենթադրվում է, որ վերապամիլը կապվում է ակտոմիոզինի կազմում գտնվող Ca^{2+} -կապող սպիտակուցների հետ, բայց նրանց մոլեկուլի այն տեղամասում, որտեղ չի կապվում Ca^{2+} -ը:

Abstract — It is shown that verapamil in the presence of Ca ions influences „disconnectively“ the process of actomyosin complex formation and its enzymatic capacity: It activates superprecipitation and inhibits ATPase reaction. Disparate character of modulation of these parameters by verapamil on the background of different pCa shows that inhibiting proceeds by allosteric type. It is supposed that verapamil is bound on the specific, different from Ca^{2+} —binding, protein site.

Ключевые слова: Ca^{2+} -антагонисты (верапамил), актомиозин, суперпреципитация, АТФаза, Ca^{2+} -связывающие белки.

Несмотря на широкое использование Ca^{2+} -антагонистов в кардиологической практике, молекулярный механизм их действия на миокард остается недостаточно изученным [8, 12]. Известно, что специфическим эффектом этих соединений является угнетение медленного входа ионов Ca^{2+} в кардиомиоциты через деполяризованную мембрану и уменьшение медленной фазы потенциала действия [6]. Благодаря липофильности, эти соединения, кроме мембраностабилизирующего действия [3], могут взаимодействовать также с внутриклеточными структурами, ответственными за регуляцию концентрации ионов Ca , а также с Ca^{2+} -связанными белками миофибрилл [5]. Однако сведения о взаимодействии Ca^{2+} -антагонистов с сократительными белками весьма малочисленны. На изолированных волокнах миокарда крыс было показано отсутствие влияния верапамила на величину развиваемого напряжения в присутствии излишка ионов Ca в среде [7]. С другой стороны, результаты, полученные в нашей лаборатории, свидетельствуют о том, что Ca^{2+} -антагонисты, а также β -блокаторы способны взаимодействовать с Ca^{2+} -связывающими компонентами комплекса миофибриллярных белков [14], причем показано отсутствие эффекта верапамила на АТФазу актомиозина при удалении Ca^{2+} -связывающих компонентов из его состава [1].

Таким образом, дальнейшее изучение возможности прямого влияния верапамила на сократительный аппарат может расширить наши представления, не только о внутриклеточных путях его действия, но также о специфичности его проявления на белково-липидные структуры, участвующие в транспорте ионов Ca через клеточную мембрану.

В настоящей работе представлены результаты исследования механизмов действия верапамила на структурно-функциональные параметры актомиозина, содержащего Ca^{2+} -связывающие регуляторные белки.

Материал и методика. Нативный актомиозин (НАМ) получали из левого желудочка миокарда белых крыс-самцов (200—230 г) по модифицированному методу [13]. Чистоту белковых препаратов проверяли электрофоретически в 10% ПАГ—ДСН [15]. Концентрацию белка определяли по Лоурис и спектрофотометрически.

Синхронную регистрацию параметров реакции суперреципитации (СПР) и Mg^{2+} -АТФазы производили на собранной в лаборатории установке [4]. Использовали состав инкубационной смеси: 1 мг/мл НАМ; 0,01 мМ $MgCl_2$; 0,1 мМ АТФ; 0,15 мМ KCl; 0,02 М Трис-HCl; 4 мМ 2-меркаптоэтанол; 0,01 мМ EGTA; pH 7,35; $t = 25^\circ C$. При использовании растворов Ca^{2+} в концентрации ниже 10^{-6} М применяли 1 мМ Ca^{2+} /EGTA буфер. Степень кооперативности АТФазной реакции рассчитывали по уравнению Хилла [10].

Результаты и обсуждение. В отсутствие ионов Са верапамил вызывает растормаживающий эффект как на скорость реакции СПР, так и на Mg^{2+} -АТФазу НАМ, т. е. действует подобно Ca^{2+} . Сходство это выражается также в положительной кооперативности изменения АТФазной реакции в зависимости от концентрации верапамила, что характеризуется ярко выраженной сигмовидной кривой (рис. 1а). Степень

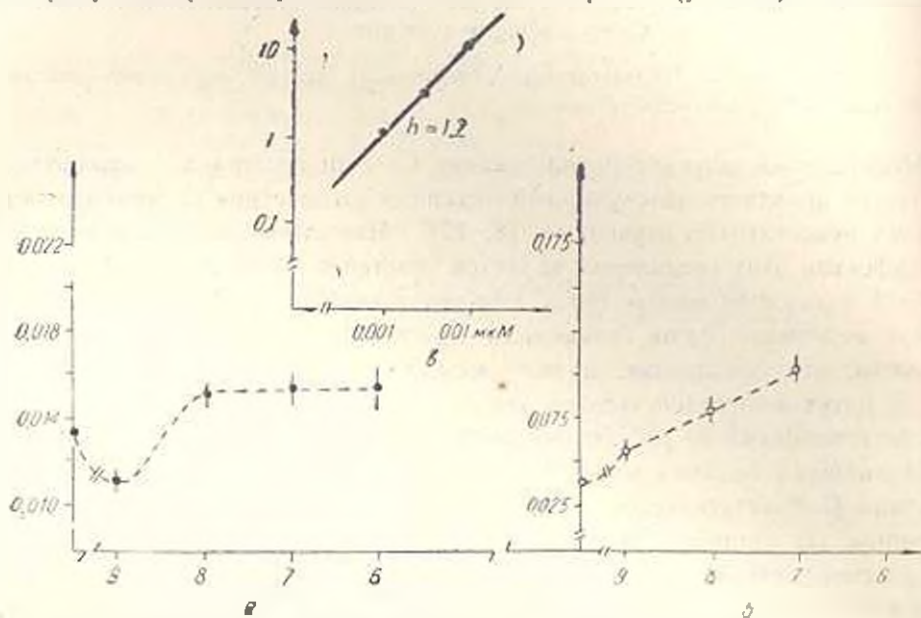


Рис. 1. Зависимость Mg^{2+} -АТФазы (а) и V_{sp} (б) НАМ миокарда белых крыс от различных концентраций верапамила. Степень кооперативности АТФазной реакции (в). По оси ординат — $mg^{-1} s^{-1}$ (а); $\Delta t / s$ (б);

V (в); по оси абсцисс — $lg \text{ м}^{-1}$ верапамила.

кооперативности реакции АТФазы НАМ в области $pCa \ 7 \div 4$, соответствующая $h = 1,5$ [1], в присутствии верапамила соответствует $h = 1,2$. Это свидетельствует о наличии по крайней мере одного специфического участка связывания верапамила на макромолекуле НАМ.

Способность комплексообразования миозина с актином возрастает при увеличении концентрации верапамила от 0,001 до 0,1 мМ в среде примерно в 4 раза (рис. 1 б). Такое значительное возрастание степени комплексообразования позволяет предположить, что верапамил, взаимодействуя с тропонин-тропомиозиновым комплексом, устраняет их тормозящий эффект.

Низкие концентрации ионов Са ($pCa 7$ и $pCa 6$) не изменяют степени положительной кооперативности протекания реакции гидролиза

АТФ актомиозином в присутствии различных концентраций верапамила (рис. 2а). Сигмоидная форма кривых АТФазы НАМ сохраняется при pCa 7 и pCa 6. Причем при изменении концентрации Ca^{2+} на порядок активация АТФазы возрастает в равной степени в пределах концентрации верапамила $10^{-9} \div 10^{-7}$ М. Однако при использовании насыщающих концентраций Ca^{2+} (pCa 5 и pCa 4) эффект верапамила резко изменяется (рис. 2б), т. е. наблюдается торможение АТФазы НАМ.

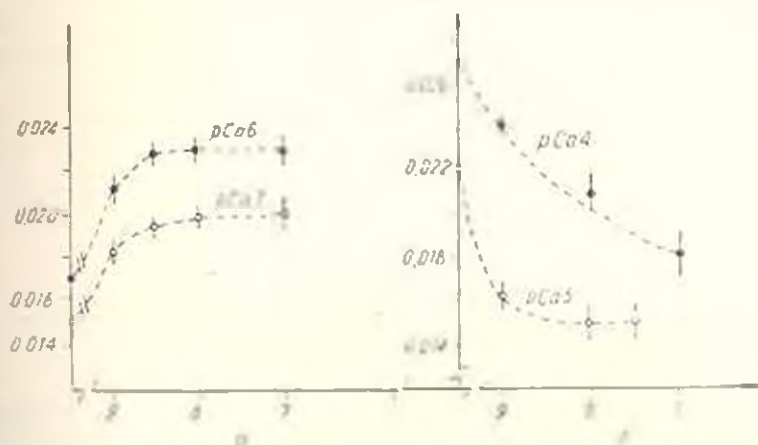


Рис. 2 Зависимость Mg^{2+} -АТФазы НАМ миокарда крысы от различных концентраций верапамила на фоне pCa 7÷6 (а) и pCa 5÷4 (б). По оси ординат — $\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, по оси абсцисс — $\lg M^{-1}$ верапамил.

Как известно, на регуляторном белковом комплексе сократительного аппарата, в частности, на тропонине С имеются два типа независимых друг от друга специфических участков связывания Ca^{2+} : характеризующиеся константой связывания $2 \cdot 10^7 M^{-1}$ участки первого класса и участки второго класса с константой связывания $2 \cdot 10^5 M^{-1}$ [11]. Возможно, верапамил, взаимодействуя с низкоаффинными участками связывания Ca^{2+} , способен в присутствии этого иона оказывать тормозящее действие. С другой стороны, специфически связываясь с тропонином, он может вызывать конформационные изменения, приводящие к стерической блокаде модуляторных белков и торможению процесса сокращения. Однако на основании полученных результатов допустимо предположение, что верапамил не конкурирует с Ca^{2+} за один и тот же участок, а связывается со специфическим участком макромолекулы.

Из рис. 3а видно, что эффект верапамила на комплексообразование актин-миозина сильно зависит от концентрации Са в среде. При низких концентрациях верапамила, $10^{-9} \div 10^{-8}$ М, наблюдается снижение скорости реакции СПП, тогда как более высокие концентрации его вызывают повышение скорости актин-миозинового взаимодействия. Такая концентрационная зависимость отмечается в присутствии pCa 7÷6, т. е. когда не насыщены низкоаффинные участки связывания Са. Насыщающие концентрации Ca^{2+} вызывают противоположный эффект, характеризующийся торможением скорости реакции СПП при увеличении в среде концентрации верапамила в пределах $10^{-9} \div 10^{-7}$ М (рис. 3б).

На основании полученных результатов можно заключить, что верапамил в присутствии ионов Ca действует на процесс комплексобразования актомиозина и его ферментативную активность противоположным образом: активирует суперпреципитацию и тормозит АТФазную реакцию. Таким образом, в случае проникновения в кардиомиоциты верапамил, связываясь с Ca -регуляторными белками комплекса тропони-

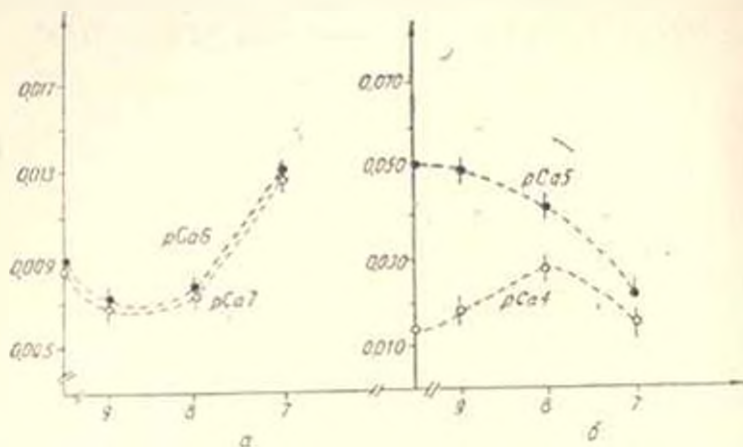


Рис. 3. Зависимость V_{max} НАМ миокарда крысы от различных концентраций верапамила на фоне $r\text{Ca } 7-6$ (а) и $r\text{Ca } 5-4$ (б). По оси ординат— $\Delta\text{OP}/\text{с}$; по оси абсцисс— $\lg M^{-1}$ верапамила.

тропомиозина, может взаимодействовать с низковольными участками связывания Ca^{2+} , выступая в роли аллостерического ингибитора актомиозиновой АТФазы. Снижение АТФазной реакции миофибрилл в данном случае может служить дополнительным фактором сохранения внутриклеточного уровня АТФ, что в свою очередь имеет значение и поддержания уровня внутриклеточного Ca [9] и регуляции обмена веществ. По всей вероятности, именно таким путем верапамил предотвращает изменения в генетическом аппарате кардиомиоцитов, устраняя замену изоформ миофибриллярных белков в условиях ишемии и компенсаторной гипертрофии миокарда [2].

Полученные результаты свидетельствуют о возможном существовании внутриклеточного пути действия верапамила—через модуляцию функции сократительного аппарата миокарда.

С другой стороны, полученные факты позволяют выявить эффект аллостерического регулирования верапамилем функции Ca^{2+} -связывающих белков в потенциалзависимых ионных каналах, участвующих в трансмембранном переносе этого важнейшего для кардиомиоцитов двухвалентного иона.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кайфаджян М. А. Автореф. канд. дисс., 24, Ереван, 1985.
2. Кайфаджян М. А., Джанполадян Е. Г., Замиян Т. С., Самвелян В. М., Оганесян С. С. Бюлл. экпер. биол. мед., 1, 46—48, 1986.
3. Мхитарян Л. С., Рожкова С. Тез. докл. III Сессии по изучению сердца, 177, Баку, 1986.

4. Тикуннов Б. А., Каифаджян М. А., Оганесян С. С. Косм. биол., 5, 60—64, 1985.
5. Boström B., Ljung S., Mordth S., et al. Nature, 292, 777—778, 1981.
6. Kothari M., Baner B., Krause H., Fleckenstein A. Pflug. Arch. Gen. Physiol., 335, 309—321, 1972.
7. Kentish J. C., Nayler W. J. Physiol., 284, 90, 1978.
8. Mc. Cluskey F. W., Fox A. P., Feldman D., Tslen R. W. J. Expt. Biol., 124, 177—190, 1986.
9. Nayler W., Pool—Wilson Ph. Basic Res. Cardiol., 76, 1—15, 1981.
10. Pash H. T., England P. J., Prys Roberts C. J. Mol. Cell. Cardiol., 293, 13, 301, 1981.
11. Potter J., Gergely J. J. Biol. Chem., 250, 4628—4633, 1975.
12. Rengasani A., Plasienski J., Hasey M. Biochem. and Biophys. Research Comm., 26, 1—7, 1985.
13. Shoub M., Hartshorne D., Perry S. Biochem. J., 144, 263, 1967.
14. Oganessyan S. S., Barinyan S. B., Gevorgyan R. A., Davtyan I. S., Kaifad-jan M. J. Advances in Myocardiology, 439—454, 1992.
15. Weber K., Osborn M. J. Biol. Chem., 244, 4406, 1969.

Поступило 20.11 1987 г.

Бiolог. ж. Армении, т. 40, № 7, 559—565, 1987

УДК 577.15+591.39

ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ В ТКАНЯХ КРЫС

Л. Б. БУРНАЗЯН, А. В. АРЗТЮНЯН, Н. О. МОЗЕСЯН,
М. Г. УРГАНДЖЯН

Институт биохимии АН Армянской ССР, лаборатория азотистого обмена, Ереван

Аннотация — Тиреоидные гормоны и кортикостероиды принимают участие в регуляции активности малатдегидрогеназы. Активность митохондриального фермента в печени и почках на 12-м ч после введения кортикостероидов возрастает в 2—3 раза и постепенно снижается к 48-му часу. Аналогичные изменения наблюдаются в активности митохондриальной малатдегидрогеназы в мозге. Тиреоидные гормоны ингибируют активность малатдегидрогеназы как в митохондриальной, так и растворимой фракции мозга, а в печени и почках наблюдается как повышение активности фермента, так и отсутствие эффекта. ТГ и КС влияют на содержание множественных форм МДГ в мозге и почках.

Անոտացիա — Թիրեոիդ հորմոնները և կորտիկոստերոիդները մասնակցում են մալատդեհիդրոգենազների ակտիվության կարգավորմանը: Կորտիկոստերոիդների ներարկումից 12 ժամ հետո առնետի լյարդում և երիկամներում միտոքոնդրիալ ՄԴՀ ակտիվությունը բարձրացել է 2—3 անգամ, իսկ միևնույն ժամը եկամտվել է ակտիվության աստիճանական նվազեցում: Նման փոփոխություններ տեղի են ունեցել նաև է-ՄԴՀ ակտիվության հետ ուղեղում: Առնետի ուղեղի լուծելի և միտոքոնդրիալ ֆրակցիաներում ՄԴՀ ակտիվությունը արգելակվել է Թիրեոիդ հորմոնների ներկայությամբ, իսկ երիկամներում և լյարդում կամ փոփոխության քի ենթարկվել, կամ էլ տեղի է ունեցել ֆերմենտի ակտիվության բարձրացում: Թիրեոիդ հորմոնները և կորտիկոստերոիդները ազդում են առնետի ուղեղի և երիկամների ՄԴՀ աարներ մոլեկուլյար ձևերի պարունակության վրա:

Abstract — Thyroid hormones and corticosteroids take part in the regulation of malate dehydrogenase activity. Administration of CS enhances to 2-3 fold mMDH activity in liver and kidney in 12 hours, the enzyme ac-

tivity dropping back to usual level in 48 hours. Analogous changes are observed in the activity of mitochondrial malate dehydrogenase in the brain.

TH inhibits both cMDH and mMDH in brain tissue the effect is variable in liver and kidney and depends on the experimental conditions. The effect of TH and CS on the ratio of multiple forms of MDH in brain and kidney is detected.

Ключевые слова: гормоны тиреоидные, кортикостероиды, малатдегидрогеназа.

ПАД-зависимая малатдегидрогеназа (МДГ, КФ 1.1.1.37), являющаяся одним из ключевых ферментов цикла трикарбоновых кислот, представлена в организме двумя формами: митохондриальной и цитоплазматической (м-МДГ и ц-МДГ соответственно) [9, 14]. Эти изоферменты отличаются по ряду кинетических, иммунологических, хроматографических свойств, а также электрофоретической подвижностью. [18]. Установлено также, что в ряде тканей млекопитающих (печень, сердечная мышца, мозг и т. д.) изоферменты МДГ отличаются друг от друга гетерогенностью. Как растворимая, так и митохондриальная МДГ представлены в организме несколькими формами, характеризующимися различной молекулярной массой [12] и в большинстве случаев неодинаковой электрофоретической подвижностью [14].

Выяснению роли цитоплазматической и митохондриальной МДГ, а также их различных молекулярных форм в клеточном метаболизме в значительной мере может способствовать изучение путей их гормональной регуляции.

В настоящем сообщении приводятся данные, касающиеся влияния тиреоидных гормонов (ТГ) и кортикостероидов (КС) на активность ц-МДГ и м-МДГ и их молекулярных форм в печени, почках и мозге.

Материал и методика. Исследования проводились на цитоплазматической и митохондриальной фракциях мозга, почек и печени крыс, которые выделяли, как указано ранее [2]. Была изучена общая активность и изоферментный спектр МДГ после однократного введения гидрокортизона и кортизон-21-ацетата (Sevcal, 5 мг на 100 г массы животного, в различные сроки после введения (2, 5, 12, 24 и 48 ч), а также тироксина (T_4) и 3,3'-5-трийодтиронина— T_3 (0,5—1,0 мг на 100 г массы животного после 7-дневного введения). Общую активность МДГ определяли спектрофотометрическим методом по убыли или образованию ПАД-Н (340 нм) [1].

В опытах *in vitro* КС и ТГ использовались в концентрации 10^{-5} М. Молекулярные формы МДГ разделяли на полиакриламидном геле (7,5%) [8], окрашивание проводили фенол-метасульфат-тетразоловым методом [5], гели денситометрировали на кристалке к Спекорду из 415 [3]. Белок определяли по методу Лоури и соавт [10].

Результаты и обсуждение. В табл. I приведены данные о влиянии T_4 и T_3 на катализируемую МДГ реакцию окисления малата и восстановления оксалоацетата в растворимой и митохондриальной фракциях печени, почек и мозга. Полученные результаты свидетельствуют о том, что ТГ неодинаково действуют на активность МДГ в исследуемых фракциях указанных органов. Обнаружено стимулирующее действие T_4 на активность МДГ в растворимой фракции печени и почек в прямой реакции и митохондриях печени в обратной реакции; T_4 же эффективен в отношении митондрий печени и почек в обратной реакции. Во всех этих случаях гормональный эффект не превышал 50%.

В ряде экспериментов как T_3 , так и T_4 оказывали выраженное ингибирующее влияние на активность МДГ как в прямой (митохондрии почек), так и в обратной реакции (митохондрии мозга). Причем характерно, что ингибирующий эффект T_4 был несколько выше по сравнению с T_3 и достигал 40—50%. В растворимой фракции мозга и митохондриях мозга и печени в прямой реакции, а также в растворимой фракции мозга и почек в обратной реакции T_4 несколько ингибировал активность фермента, тогда как T_3 был неэффективен. Наконец, в растворимой фракции печени T_4 ингибировал почти на 30% окисление малата, тогда как T_3 , как уже отмечалось, вызывал 50%-ное повышение активности МДГ во всех остальных случаях (табл. 1).

Таблица 1. Действие тиреоидных гормонов на активность МДГ (мкмоль кофермента/мг белка/мин) в опытах *in vitro*, $n = 10$

Органы	Фракции	Коферменты	Гормоны		
			контроль	T_3	T_4
Мозг	цитоплазма	НАД	0.41±0.01	0.39±0.01**	0.17±0.01***
		НАДН	3.20±0.04	2.92±0.01***	2.38±0.04***
	митохондрии	НАД	1.64±0.02	1.15±0.02***	1.16±0.02***
		НАДН	7.97±0.05	5.68±0.05***	4.98±0.05***
Печень	цитоплазма	НАД	0.63±0.01	0.94±0.02***	0.45±0.01***
		НАДН	2.06±0.04	1.74±0.04***	1.91±0.04***
	митохондрии	НАД	1.97±0.02	2.00±0.03	1.32±0.02**
		НАДН	4.02±0.05	4.86±0.05***	5.35±0.04***
Почки	цитоплазма	НАД	0.87±0.01	1.29±0.02***	0.97±0.03***
		НАДН	2.97±0.04	2.96±0.04	1.93±0.04***
	митохондрии	НАД	2.15±0.02	1.16±0.03**	1.11±0.04***
		НАДН	3.79±0.04	3.71±0.04	6.72±0.05***

** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

При исследовании влияния гидрокортизона на активность растворимой и митохондриальной МДГ в исследуемых органах животных было установлено, что активность митохондриального фермента в реакции окисления малата через 2 ч после введения гормона понижается на 10—60%, через 5 ч повышается, превышая в печени контрольный уровень, а в мозге и почках приближаясь к нему (рис. 1, а).

На 12-м часу после введения гормона наблюдается резкое повышение активности фермента в печени и почках (в 2,2 и почти в 3 раза по сравнению с контролем соответственно), в мозге она также возрастает, не превышая, однако, контрольного уровня. Через 24 ч активность МДГ в печени и почках снижается, но в почках все еще превышает норму. Несмотря на дальнейшее понижение активности фермента, она и через 24 ч после введения гормона оказывается на 25% выше по сравнению с контролем. Активность ц-МДГ в этих условиях не претерпевает существенных изменений (рис. 1, б).

В активности МДГ, катализирующей реакцию восстановления оксалоацетата, происходят изменения, в основном сходные с теми, которые были обнаружены при окислении малата. Здесь наибольшее пониже-

ние активности фермента наблюдается через 5 ч после введения гидрокортизона, причем оно особенно проявляется в митохондриях мозга, где активность МДГ падает более чем в 3 раза (рис. 1, б). 12-й час после введения, так же как и в случае прямой реакции, является оптимальным сроком стимулирующего действия гормона на активность митохондриальной МДГ, она возрастает в почках, печени, мозге соответственно в

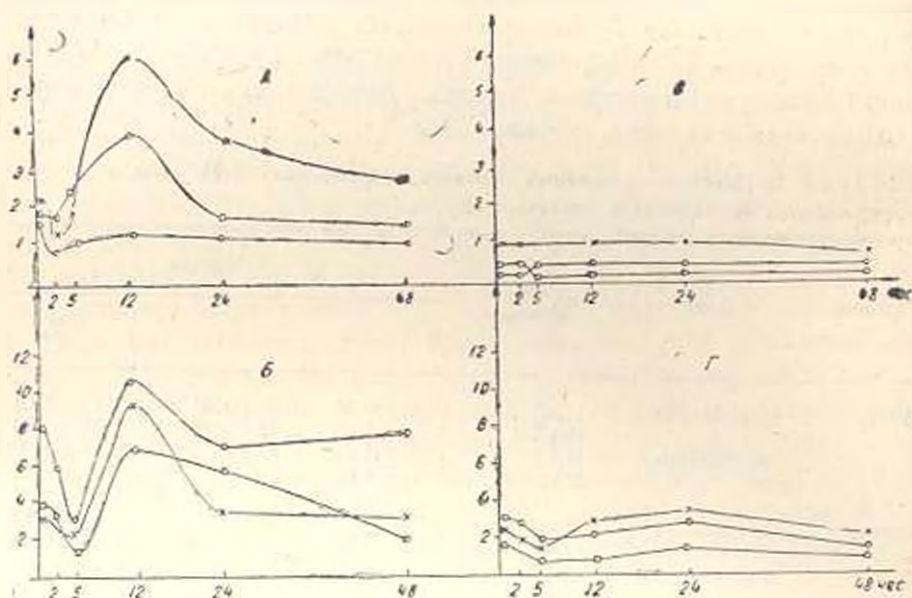


Рис. 1. Влияние гидрокортизона в опытах *in vivo* на активность МДГ ($\mu\text{моль кофермента/мг белка/час}$) в мозге, печени, почках крыс: а (митохондрии) и в (цитоплазма)—прямая реакция; б (митохондрии) и г (цитоплазма)—обратная реакция; —○—○— мозг; —■—■— печень; — — — — почки.

2,4, 1,7 и 1,5 раза по сравнению с контролем и в 4,2, 5,6 и 4,4 раза по сравнению с результатами, полученными при 5-часовом воздействии. Через 24 ч после введения гормона активность фермента в почках и мозге снижается, приближаясь к норме, но в печени изменяется незначительно, достигая контрольного уровня лишь к 48-му часу после воздействия. Характерно, что как и в описанной выше реакции окисления малата, гидрокортизон не оказывает стимулирующего влияния на активность НАД-зависимой ц-МДГ, катализирующей реакцию восстановления оксалоацетата (рис. 1, з). Следует отметить, что при этом в растворимой фракции почек и мозга на 5-м часу после введения гормона отмечается понижение активности фермента приблизительно на 40%. Полученные данные свидетельствуют о том, что м-МДГ печени и почек подвержена кортикостероидной индукции, так как на 12-м часу после введения гидрокортизона наблюдается отчетливо выраженное повышение активности фермента как в прямой, так и в обратной реакции. Ранее было обнаружено стимулирование м-МДГ коры почек при 3-дневном введении гидрокортизона [4], что в совокупности с полученными нами результатами указывает на фазный характер действия гормона, ибо установлено его ингибирующее влияние на активность МДГ в первые часы после

введения (2—5 ч), стимулирующее действие на 12-м часу, нормализующий эффект через 24—48 ч с последующим повышением при 3-дневном введении. Индуцирующее влияние гидрокортизона на активность м-МДГ особенно наглядно проявляется в обратной реакции восстановления оксалоацетата. Однако и при использовании НАД в качестве кофактора м-МДГ можно констатировать индукцию фермента, если учесть, что активность его заметно снижается через 24 ч после введения гормона и вновь возрастает к 12-му часу более чем в 2,3 раза. Не исключено, что в ряде случаев с индукцией может быть связано и действие ТГ (эффект T_3 на активность ц-МДГ и T_4 на активность м-МДГ печени и почек). В этой связи следует отметить ранее установленное повышение активности м-МДГ почек, селезенки, желудка, тонкого кишечника и ц-МДГ скелетных мышц при 1-дневном скормливания белым крысам корма, содержащего 2%-ный экстракт высушенной щитовидной железы [11].

Известно, что введение животным ТГ, в частности T_3 , приводит к изменению изоферментного спектра лактатдегидрогеназы печени [6]. В связи с этим представляло интерес выяснение вопроса о влиянии изменения активности МДГ при введении гормонов на содержание отдельных молекулярных форм растворимого и митохондриального фермента. Нами были отобраны случаи с максимальным проявлением гормонального эффекта (рис. 2). На рис. 2 приведены данные о влиянии T_4 на со-

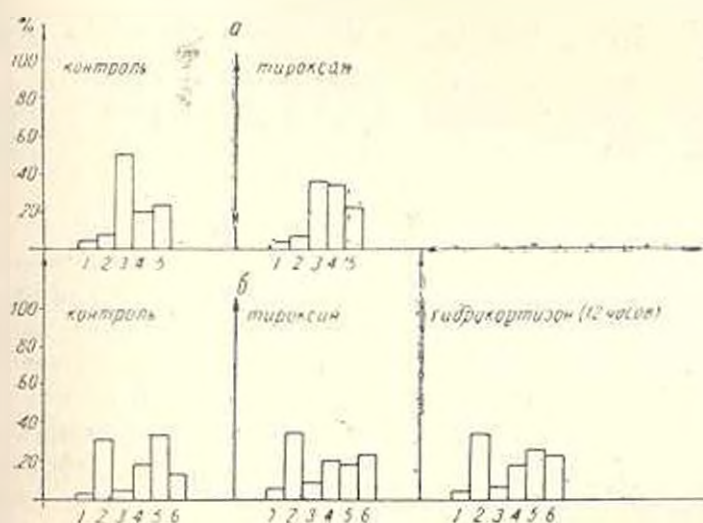


Рис. 2. Действие тироксина и гидрокортизона на содержание различных фракций МДГ (в %) в цитоплазме мозговой ткани (а) и митохондриях почек (б).

держание молекулярных форм ц-МДГ мозга, а также гидрокортизона на фракционный состав м-МДГ почек. Установлено, что в соответствии с электрофоретической подвижностью ц-МДГ мозга имеет 5, а м-МДГ почек—6 фракций. Исследуемые гормоны, почти не влияя на анодные фракции фермента, вызывают изменения в содержании отдельных катодных фракций. Примечательно, что повышение ферментативной активности (эффект T_4 и гидрокортизона на 12-м часу после введения)

сопровождается увеличением содержания 6-й формы и снижением содержания 5-й формы м-МДГ без существенного изменения уровня остальных фракций. В случае же понижения активности фермента под влиянием гормона (действие T_4 на ц-МДГ мозга) уменьшается содержание 3-й фракции и повышается уровень 4-й. В содержании же 5-й фракции, так же как и остальных форм фермента, заметного изменения не происходит. Примечательно, что, согласно ранее установленным фактам, в печени и мозге растущих животных гидрокортизон оказывает неодинаковое регулирующее влияние на множественные формы МДГ [13]. В табл. 2 представлены результаты изучения влияния T_1

Таблица 2. Действие гидрокортизона и тиреоидных гормонов (мкмоль кофермента/мг белка/мин) в опытах *in vitro*, $n=10$.

Органы	Фракции	Ко ферменты	Гормоны			
			контроль	гидрокортизон	T_2	T_4
Мозг	цитоплазма	НАД	0.41 ± 0.01	0.38 ± 0.01	$0.35 \pm 0.01^{**}$	$0.32 \pm 0.01^{***}$
		НАДН	3.2 ± 0.04	$2.79 \pm 0.04^{**}$	$2.10 \pm 0.04^{**}$	$1.85 \pm 0.05^{***}$
	митохондрии	НАД	1.61 ± 0.02	$1.17 \pm 0.02^{***}$	$1.23 \pm 0.02^{***}$	$1.07 \pm 0.03^{***}$
		НАДН	7.90 ± 0.05	$7.60 \pm 0.06^{**}$	$6.14 \pm 0.06^{**}$	$4.35 \pm 0.06^{***}$
Печень	цитоплазма	НАД	0.63 ± 0.01	0.62 ± 0.01	$0.52 \pm 0.01^{**}$	$0.49 \pm 0.01^{***}$
		НАДН	2.06 ± 0.01	$1.08 \pm 0.04^{**}$	$1.15 \pm 0.05^{**}$	$1.01 \pm 0.05^{**}$
	митохондрии	НАД	1.97 ± 0.02	$1.74 \pm 0.02^{***}$	$1.56 \pm 0.02^{***}$	$1.42 \pm 0.03^{***}$
		НАДН	4.02 ± 0.05	$2.08 \pm 0.05^{***}$	$3.10 \pm 0.04^{***}$	$2.73 \pm 0.05^{***}$
Почки	цитоплазма	НАД	0.87 ± 0.01	$0.73 \pm 0.02^{**}$	$0.76 \pm 0.02^{**}$	$0.76 \pm 0.02^{**}$
		НАДН	2.67 ± 0.14	$3.21 \pm 0.05^{**}$	$1.80 \pm 0.05^{**}$	$1.90 \pm 0.05^{***}$
	митохондрии	НАД	1.15 ± 0.02	$2.03 \pm 0.03^{**}$	$1.95 \pm 0.04^{**}$	$1.75 \pm 0.03^{***}$
		НАДН	3.79 ± 0.14	$3.12 \pm 0.05^{***}$	$3.26 \pm 0.05^{***}$	$3.04 \pm 0.05^{***}$

$^{**} P < 0.01$, $^{***} P < 0.001$.

(T_2 и T_4) и кортикостероидов (гидрокортизон и кортизон) на активность МДГ в опытах *in vitro*. При этом учитывалось, что одним из механизмов гормональных эффектов при их введении в организм является непосредственное влияние накапливающегося в тканях-мишенях гормона на ферменты. Как видно, T_1 в концентрации 10^{-5} М во всех исследуемых органах ингибирует активность фермента, катализирующего малатдегидрогеназную реакцию в обоих направлениях. Эффект T_4 несколько превышает таковой T_2 , что особенно выражено в митохондриях, растворимой фракции мозга и печени. Гидрокортизон также оказывает ингибирующее действие на активность МДГ, которое, в отличие от эффекта T_1 , оказывалось слабее, если не считать сдвигов, отмечавшихся в растворимой и митохондриальной фракциях печени. Следует отметить, что в литературе имеются указания об ингибирующем действии тироксина на активность митохондриальной МДГ из сердечной мышцы [15]. Ранее ингибирование МДГ, так же как и других металло-содержащих дегидрогеназ, в присутствии тироксина объясняли его хелатирующими свойствами, обуславливающими комплексообразование с металлом в молекуле фермента [17]. Впоследствии, когда было обнаружено, что ингибирование МДГ наступает не только под влиянием T_4 ,

его производных, но и молекулярного йода, были предложены другие механизмы этого явления. В экспериментах с очищенной м-МДГ из сердечной мышцы свиньи было установлено, что инактивация фермента наступает при окислении под влиянием йодсодержащих соединений 0-ти из 14-ти имеющихся в молекуле фермента SH-групп [16]. При этом отмечалась дезагрегация фермента на неактивные субъединицы [7]. Было показано также, что при инкубации м-МДГ из сердечной мышцы свиньи с эфиром тироксина метилтироксингидрохлоридом наблюдается 90%-ное ингибирование активности фермента вследствие связывания двух аминокислот на стереоспецифическом рецепторном участке. Установлено, что присоединение тироксина приводит к инактивации в результате снижения скорости связывания ферментом НАД [15].

ЛИТЕРАТУРА

1. Кочетков Г. А. Практическое руководство по энзимологии. М., 1971.
2. Мовсисян С. Г., Бурназян Л. Б. Вопросы биохимии мозга, 19, 84—90, Ереван, 1975.
3. Мовсисян Н. О., Хузарян М. А., Мовсисян С. Г. Лабор. дело, 7, 445, М., 1976.
4. Усатенко М. С., Цончева А. В. Вopr. мед. химии, 29, 4, 401—406, 1974.
5. Юрков Ю. А., Волкова Л. Д. Лабор. дело, М., 11, 646, 1973.
6. Allison M. S., Gerszten E., Sanchez B. Endocrinology, 74, 87, 1964.
7. Covelli J., Consiglio E., Varrone S. BBA, 184, 678, 1969.
8. Davis B. Y. Ann. New York Acad. Sci., 121, 404, 1964.
9. Kitto G. B. and Kaplan N. O. Biochemistry 5, 3906—3980, 1966.
10. Lowry O. H., Rosebrough N. Y., Farr A. L. and Randall R. J. J. Biol. Chem., 19, 265, 1951.
11. Loos Y. P., Lardy U. A. J. Biol. Chem., 249, 3, 1427—1436, 1965.
12. Moore R. O., Villee C. A. Science, 142, 389—390, 3586, 1963.
13. Sharma R., Palnait S. K. Development Growth and differentiation multilingual Journal, 24, 5, 501, 1982.
14. Thorne C. J. N., Grossman L. I., Kaplan N. O. BBA, 73, 193—203, № 2, 1963.
15. Ullman E. F. et al. BBA, 567, 66—74, 1979.
16. Varrone S. et al. Eur. J. Biochem., 15, 305—312, 1970.
17. Wolff E. C., Bail E. G. J. Biol. Chem., 224, 1083—1098, 1957.
18. Wieland T., Pfleiderer G., Hompt W., Wörner W., Biochem. Z., 331, 103—109, 1959.

Получено 3.1 1986 г.

Зоол. ж. Армения, т. 40, № 7, 565—571, 1987 УДК 619.616 - 006.146 - 002.6/636.2

МОДЕЛИРОВАНИЕ ЛИМФОЛЕЙКОЗА НА БЕЛЫХ КРЫСАХ

Э. Д. СТЕПАНИН, Р. А. ПЕТРОСЯН, Л. П. ЕДЖАНОВА,
А. С. АХВЕРДЯН

Арм. НИИВ, лаборатория лейкоза животных, Ереван

Аннотация — Выяснена реальная возможность моделирования лимфолейкоза крупного рогатого скота на белых крысах. Определено значение способов предотвращения свертываемости лейкозной крови в биологических эффектах ее действия на организм. Установлена степень выраженности лейкозным началом элементов белой крови больных лимфолейкозом человека в крупного рогатого скота.

Անոտացիա — Պարզվել է խոշոր էղջերավոր կենդանիների լիմֆոնկոզը սպիտակ առնետների վրա վերարտադրելու ունակ հնարավորությունը: Որոշվել է լիմֆոզային արյան մակարդակի միջոցների նշանակությունը օրգանիզմի վրա և նրանց ազդեցության կենսաքանակային էֆեկտիվությունը: Հաստատվել է լիմֆոնկոզով հիվանդ մարդկանց ու կենդանիների օրգանիզմում լիմֆոզային սկզբնապատճառով սպիտակ արյան տարրերի արտահարվածության աստիճանը:

Abstract — The real possibility of the big horned cattle lymphoid leukemia modelling on white rats was revealed. The value of leukemia blood coagulability methods and its biological effects on animals were determined. The degree of lesion of white blood elements caused by leukemia agent in patients and animals suffering from lymphoid leukemia was established.

Ключевые слова: моделирование лейкоза, лейкоцитоз, лейкоэмические лейкоциты.

В сравнительной лейкозологии утверждается представление об общности причин возникновения гемобластозов человека и крупного рогатого скота (КРС), а также о сходстве механизмов их развития и основных клинико-морфологических проявлений [5, 14]. Это послужило стимулом для интенсивного развертывания работ по экспериментальному воспроизведению различных форм лейкозов человека и КРС на мелких лабораторных животных [15]. Однако литературные сведения об этом неоднозначны и подчас носят противоречивый характер [1—4, 6—13, 15—17, 19—22]. Согласно данным Федорова и Катехелидзе [18], перитеральное введение белым крысам материала, полученного от больных лимфолейкозом или миелолейкозом людей, вызывает у них характерные изменения в системе белой крови. Аналогичные явления наблюдались у белых крыс при введении патологического материала от больных лейкозом КРС.

Придавая важное значение подобного рода исследованиям в решении ряда актуальных задач (этиология, диагностика, лечение и пр.) современной лейкозологии, мы предприняли попытку экспериментального воспроизведения лимфолейкоза КРС на белых крысах.

Материал и методика. Исследования проводили на белых крысах (150—200 г) обоего пола линии Вистар. Испытуемым материалом служили отдельные компоненты (плазма, разрушенные лейкоциты) крови явно больной лимфолейкозом коровы (№ 3834). Количество лейкоцитов у нее колебалось в пределах 27—45 тыс./мм³ с 80—95%-ным содержанием лимфоцитов.

Взвесь лейкоцитов (лимфоцитов) получали из патологической крови известным методом осмотического лизиса эритроцитов в дистиллированной воде. Отмытые физиологическим раствором лейкоциты, содержащие приблизительно 50—75 тыс./мм³, трижды разрушали попеременно замораживанием их и оттаиванием при комнатной температуре (17°). Разрушенные лейкоциты разбавляли физиологическим раствором в соотношении 1:10 и по 1 мл вводили внутривентрально белым крысам. В таком же количестве применялась плазма лейкозной крови.

Лейкозогенную активность испытуемого материала определяли в динамике в течение 70-ти дней путем подсчета абсолютного количества лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови подопытных крыс. Опытные группы составили 5—7, а контрольные—3—5 крыс. Контролем служили крысы, обработанные при прочих равных условиях отдельными компонентами (плазма, разрушенные лейкоциты) крови интактной коровы.

Результаты и обсуждение. Поскольку объектом исследования являлась периферическая кровь животных, вначале изучалось значение

способов предотвращения свертываемости крови в ее биологических эффектах с помощью применения раствора гепарина (5 ед.) (1 мл), трилона «Д» (0,4 мг) (1 мл), а также дефибринизацией.

Выяснилось, что почти независимо от способов предотвращения свертываемости крови введение крысам плазмы и особенно разрушенных лейкоцитов интактного животного вызывает кратковременное (10 дней) увеличение количества лейкоцитов. На 20-й день лейкоцитоз несколько ослаблялся с последующей его нормализацией. В этих условиях процентное содержание лимфоцитов крови варьировало в пределах нормы. Между тем инъекция крысам плазмы лейкозной крови вызывала обычно кратковременное (10 дней) повышение количества лейкоцитов. На 20-й день лейкоцитоз несколько ослаблялся, а с 30-го дня прогрессивно нарастал, достигая максимума к 50-му дню наблюдений с последующей тенденцией к нормализации. Более резкая картина двухфазного усиления лейкоцитоза наблюдалась при введении крысам разрушенных лейкоцитов крови лейкозного животного.

Как видно, применение различных способов предотвращения свертываемости крови больше влияет на эффекты биологического действия отдельных компонентов крови лейкозного животного по сравнению с интактным. К тому же обработка гепарином вызывает у крыс сильное повышение лейкоцитов, трилоном—умеренное, дефибрилизацией—наиболее слабое.

Полученные результаты свидетельствуют также о более высокой биологической активности разрушенных лейкоцитов по сравнению с плазмой крови как интактного, так и лейкозного животного. Значительные расхождения отмечались и между результатами действия разрушенных лейкоцитов крови интактного и лейкозного животного, что в первую очередь могло быть обусловлено введением неодинакового количества лейкоцитов, поскольку у интактного животного их число варьировало в пределах 9—12 тыс., а у лейкозного—27—45 тыс./мм³ крови. Для проверки этого предположения количество лейкоцитов интактного и лейкозного животного доводилось до одинакового уровня (50 тыс./мл) и после обычного разрушения их вводилось по 1 мл внутрибрюшинно крысам. Однако и в данном случае наблюдалось соответственно однофазное и двухфазное повышение количества лейкоцитов. Причем процесс индуцированного лейкоцитоза, как и в предыдущих опытах, протекал интенсивнее при воздействии разрушенных лейкоцитов крови лейкозного животного по сравнению с интактным. Стало быть, более высокая биологическая активность лейкоцитов крови лейкозного животного определялась не количественными, а качественными изменениями ее.

Рассматривая фазовые изменения лейкоцитоза через призму двойственной природы действия болезнетворных агентов на организмы, можно полагать, что первая фаза лейкоцитоза, вызванная введением крови интактного или лейкозного животного, преимущественно выражает защитно-физиологическую реакцию, направленную на обезвреживание генетически чужеродной крови и сохранение относительного постоян-

ства внутренней среды организма. А вторая фаза, индуцированная только лейкозной кровью, отражает развитие лейкозоподобного процесса. Правомерность сделанного допущения подтверждается болезненным состоянием подопытных крыс, обработанных лейкозным материалом, значительным увеличением у них абсолютного количества лимфоцитов, характерным для этого заболевания, а также высокой смертностью. Оставшиеся в живых подопытные крысы, вероятно, переболели лейкозоподобным заболеванием.

Учитывая качественные изменения, наступающие в лейкозной крови, мы имели основание предположить, что эти изменения в первую очередь должны сказаться на жизнеспособности лейкоцитов. Это предположение проверялось путем определения жизнеспособности элементов белой крови лейкозного животного с помощью применения трипановой сини, избирательно окрашивающей нежизнеспособные клетки, а также протеолитического фермента трипсина, селективно их разрушающего. Использовали также сапонин, полагая, что нежизнеспособные лейкоциты патологической крови, по сравнению с относительно нормальными клетками, окажутся менее резистентными к указанному гемолитическому веществу.

Известными в цитологии методами к взвеси лейкоцитов нативной или патологической крови добавляли в определенных соотношениях либо раствор трипановой сини (0,05%), либо кристаллического трипсина (0,5%), либо сапонина (0,02%). Пробирки с содержимым помещали на 30—45 мин в термостат. И после подсчета окрашенных или сохранившихся в целости лейкоцитов выводили процент нежизнеспособных клеток.

Как выяснилось (табл. 1), число нежизнеспособных лейкоцитов интактного животного, находящегося в смеси с трипановой синью, трипсином или сапонином, достигало соответственно 10, 7 и 5%. В этих же

Т а б л и ц а 1. Жизнеспособность лейкоцитов крови интактного и лейкозного животного

Условия опыта	Число проб	Процент нежизнеспособных лейкоцитов ($M \pm m$)
Трипановая синь + лейкоциты нативные	15	10 $\pm$ 0.5
Трипановая синь + лейкоциты патологические	20	45 $\pm$ 3.0
Трипсин + лейкоциты нативные	10	7 $\pm$ 0.3
Трипсин + лейкоциты патологические	15	32 $\pm$ 2.0
Сапонин + лейкоциты нативные	15	5 $\pm$ 0.1
Сапонин + лейкоциты патологические	20	36 $\pm$ 2.5

условиях указанный показатель лейкозного животного находился в пределах 32—45%. Почти одинаковое число нежизнеспособных лейкоцитов, выявленное в патологической крови различными средствами и методами, свидетельствует о том, что только 25—35% их из общей массы белой крови поражено лейкозным началом.

С установлением факта избирательного разрушения сапонином нежизнеспособных лейкоэмических лейкоцитов открывалась реальная возможность проверить сделанное выше предположение и на белых крысах.

Таблица 2. Влияние обработанных сапонном лейкоцитов крови интактного и лейкозного животного на лейкоцитоз белых крыс (М ± m)

Условия опыта	Количество лейкоцитов лимфоцитов, тыс. мм^3							
	Дни исследований							
	4	10	20	30	40	50	60	70
Контроль	12.8 7.7	12.6 7.8	13.6 6.7	12.0 6.8	11.7 6.8	14.0 7.5	11.9 6.8	13.4 7.1
Экстракт нативных лейкоцитов (надосамок)	15.2 8.6	19.3 9.6	17.1 10.6	14.0 8.9	12.5 7.0	13.1 8.2	14.1 7.8	13.4 8.7
Экстракт нативных лейкоцитов (осамок)	17.1 8.8	21.4 11.0	19.1 10.9	15.0 9.6	13.4 7.0	13.0 7.8	25.6 3	13.4 8.7
Экстракт патологических лейкоцитов (надосамок)	16.8 8.5	22.6 9.9	17.5 9.2	28.0 21.2	32.0 24.2	30.0 23.5	25.0 18.0	20.3 13.0
Экстракт патологических лейкоцитов (осамок)	18.0 9.8	20.5 11.1	19.0 12.5	19.0 12.5	17.0 9.4	15.1 8.4	12.0 7.8	12.6 8.0

Примечание: средняя квадратическая ошибка ($\pm m$) колебалась для лейкоцитов в пределах 0,50—1,70, лимфоцитов—0,30—0,95. Число животных в контроле—5, в опыте—7.

К взвеси лейкоцитов патологической крови добавляли определенное количество сапонина (0,02%) и после 5—10 мин выдерживания на холоду (+4°) центрифугировали в течение 10 мин при 500 об/мин. Надосадочный экстракт лейкоцитов отделяли от осажженных пельных лейкоцитов и последние обычным способом разрушались. Полученные таким путем экстракты лейкоцитарных и относительно нормальных лейкоцитов крови лейкозного животного разбавляли физиологическим раствором в соотношении 1:10 и по 1 мл вводили в отдельности внутривенно крысам. В качестве контроля при прочих равных условиях испытывали экстракты лейкоцитов крови интактного животного.

Опыты показали (табл. 2), что парентеральное введение крысам экстракта лейкоцитов крови интактного животного, полученного из осадка или надосадочной взвеси клеток, вызывает, как обычно, однофазное увеличение количества лейкоцитов. Сходная картина наблюдалась и при инъекции крысам разрушенных лейкоцитов крови лейкозного животного, взятых из осажженных клеток. Между тем введение обработанных сапонином лейкоцитов лейкозного животного, полученных из надосадочной жидкости, вызывает характерное двухфазное повышение количества лейкоцитов у белых крыс. Это говорит о том, что лейкогенная активность патологической крови обусловлена главным образом лейкоцитарными лейкоцитами, составляющими приблизительно 25—35% общей массы белой крови лимфолейкозного животного.

Однако более веским доказательством правомерности сделанного заключения являются результаты эпизоотологических исследований лейкоза КРС, проведенных с помощью одновременного подсчета лейкоцитов крови животных под микроскопом и на целлоскопе венгерского производства «Пякоксель». При этом у явно больных лимфолейкозом животных подсчет лейкоцитов крови на целлоскопе показывал заниженные на 25—35% цифры, по сравнению с таковыми под микроскопом. И, главное, подобное расхождение не отмечалось при подсчете указанными методами лейкоцитов крови здоровых животных и даже животных с заболеваниями нелейкозной этиологии. Буквально такая же картина была выявлена и при определении этими методами количества лейкоцитов крови здоровых и больных лимфолейкозом людей.

Подробными исследованиями причин указанного расхождения были выяснены, что оно вызывается сапонином (0,02%), входящим в составную часть разбавителя крови, применяемого для определения количества лейкоцитов на целлоскопе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абакелли Н. И., Ларионова Н. Г., Цаная Н. С., Обишвили М. Г. Тр. Ин-та экпер. и клин. хирургии, 13, Тбилиси, 1973.
2. Агеев А. Н. Вопросы онкологии, 9, 7, 1961.
3. Аризорва З. Г. Вопросы перелив. крови, 7, Харьков, 1962.
4. Бергольц В. М. Пробл. гематологии, 1, 1957.
5. Бергольц В. М., Кисляк Н. С., Еремеев В. С. В кн.: Иммунология и иммунопатология лейкоза. М., 1978.
6. Васильев Н. Т., Рудянцева Н. В., Черняк В. З. В кн.: Лейкозы сельскохозяйственных животных. М., 1966.
7. Вядро М. М., Бергольц В. М., Корженкова М. Т. Педиатрия, 3, 1977.

8. Доронин Н. Н., Бусол В. А., Субаев Г. Х. В кн.: Лейкоз крупного рогатого скота. Киев, 1976.
9. Иванов П. А., Погуляева Л. В., Жданова М. Е. В кн.: Лейкозы сельскохозяйственных животных. М., 1975.
10. Кавцкий Р. Е. В кн.: Механизмы лейкологенеза. Киев, 1975.
11. Киндзальский Л. П., Прибыльский В. И. Вopr. онкологии, 11, 1963.
12. Колыкова В. Н. Вopr. онкологии, 7, 9, 1961.
13. Лодс Э. О., Бульбе Н. X. Тез. докл. Всесоюз. конф. по лейкозам, Рига, 1973.
14. Основные результаты научн. исследований по проблеме лейкозов человека и животных за 1971—1975 гг. М., 1977.
15. Прейса Н. Е., Блузманис Я. Р. В кн.: Проблемы лейкоза. Рига, 1968.
16. Стасенко В. С. В кн.: Лейкозы и опухоли животных. М., 1981.
17. Трошкая А. С. Мат-лы научно-практ. конф. ортопедов-травматол., Тула, 1966.
18. Федоров А. И., Казетелидзе М. Г. Пробл. гемат. и трансфузии крови, 2, 50, М., 1976.
19. Яковлева С. Л. Вопросы вирусологии, 5, 559, 1960.
20. Magrassi F., Leonard C., Negroni G., Tolu A. Acta haemat., 6, 38, 1951.
21. Mas-y-Magro T. Sang, 25, 160, 1951.
22. Riman J., Vesely K. Proc. Int. Enzyme Chemistry, 453, Tokyo and Kyoto, 1958.

Поступило 22.X 1986 г

Биол. ж. Армении, т. 10, № 7, 571—575, 1987

УДК 616—001.17+547.56+541.493

ВЫЯВЛЕНИЕ НОВЫХ ЭФФЕКТИВНЫХ СИНТЕТИЧЕСКИХ АНТИОКСИДАНТОВ

М. И. АГАДЖАНОВ, Л. А. БАРСЕГЯН, В. С. ГРИГОРЯН, Ш. А. КАЗАРЯН

Ереванский государственный медицинский институт

Аннотация — Проведено сравнительное изучение антиоксидантных свойств некоторых фенольных соединений. На модели ожоговой травмы показано, что наиболее сильное подавляющее влияние на образование конъюгированных диенов оказывает гамма-пропанол, затем фенозан-28, фенозан-1 и, наконец, фенол-52 и фенол-53. Проводится параллель между структурой препаратов и их антиоксидантными свойствами.

Անոտացիա — Կատարվել է ֆենոլային շարքի մի քանի միացությունների հակաօքսիդանտային հատկությունների համեմատական ուսումնասիրություն: Այդ վածքային վնասվածքի մոդելի վրա ցույց է տրվել, որ կոնյուգացված դիենների աճը ընդհանրապես զորոշում առավել ուժեղ ազդեցություն է ցուցաբերում զամմա-պրոպանոլը, ֆենոզան-28-ը, ֆենոզան-1-ը և, վերջապես, ֆենոլ-52-ը և ֆենոլ-53-ը:

Այդ է կապվել համեմատություն երանց կառուցվածքի և հակաօքսիդանտային հատկությունների միջև:

Abstract — A comparative study of antioxidant properties of some phenol compounds was made. On the model of burn trauma it was shown that the suppression of the superfluous formation of conjugated dienes exerts —propanol, phenozone-28, phenozone-1, phenol-52 and phenol-53.

A parallel between the structure of preparations and their antioxidant properties was pursued.

Антиоксиданты являются большой группой разнообразных по структуре биологически активных веществ, объединенных общей способностью к прерыванию цепных свободнорадикальных процессов. В связи со все более широким использованием антиоксидантов в профилактике и лечении многочисленных патологических состояний на II Всесоюзной конференции «Биоантиоксидант» (1986) была высказана необходимость объединения их в особый класс лекарственных препаратов.

Поскольку источники естественных антиоксидантов уже не удовлетворяют растущих потребностей, в настоящее время проводятся обширные исследования по поиску новых синтетических антиоксидантов, не уступающих по своему действию природным.

Одним из интенсивных направлений в подобных исследованиях является синтез и изыскание антиоксидантов фенольного ряда, высокую эффективность которых использовал академик И. М. Эмануэль при разработке теоретических основ и практического применения их в химиотерапии опухолей.

Большое число исследований посвящено изучению свойств группы производных фенола—фенозанов, характеризующихся исключительно высокими антиоксидантными свойствами. Из них один, фенозан К, проходит клинические испытания [3, 4]. Нами была показана возможность использования фенозана К при лечении ожоговой травмы [1].

Основным недостатком фенольных антиоксидантов является их низкая растворимость в воде, что затрудняет использование этих соединений в качестве лекарственного средства. В настоящее время делаются попытки за счет введения в радикал различных полимеров, сахаров получить их водорастворимые формы.

Нами проводятся систематические исследования по изучению антиоксидантного действия различных фенольных препаратов, в том числе фенозана—1 (рис. 1, 1), фенозана—2б (рис. 1, 2), фенола—52 (рис. 1, 3), фенола—53 (рис. 1, 4) и гамма-пропанола (рис. 1, 5).

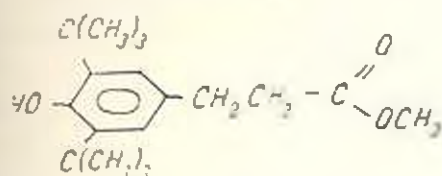
Материал и методика. Опыты ставили на белых крысах-самках массой 120—180 г. В качестве модели избыточной липидной перекиси была использована ожоговая травма. Ожог III б степени—12—15% поверхности тела—вызывали горячей водой. Исследуемые антиоксиданты в дозе 5 мг/кг массы вводили животным внутримышечно на 7-е—80 сразу после ожога и в дальнейшем ежедневно. Животных забивали через 1 ч, 1 и 3 дня. В мозге, печени и крови крыс измеряли содержание конъюгированных диенов при 233 нм, которое выражали в относительных единицах [2].

Результаты и обсуждение. Как следует из полученных данных (рис. 2), в печени (а), мозге (б) и крови (в) крыс после ожоговой травмы происходят однонаправленные изменения, выражающиеся в значительном усилении перекисного окисления липидов (ПОЛ). Так, в начальные сроки после травмы уровень конъюгированных диенов возрастает в крови и печени в 2 раза, в мозге—1,7 раз. В последующие сроки, также относящиеся к раннему послеожоговому периоду, уровень ПОЛ несколько снижается, однако продолжает оставаться высоким.

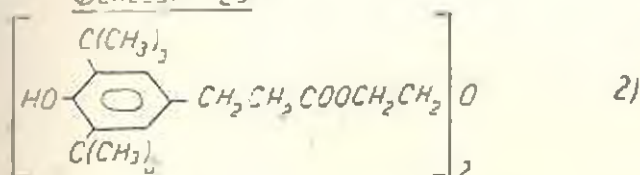
Введение животным синтетических антиоксидантов оказывает на

этот показатель неодинаковое действие. Наиболее выраженный эффект подавления липидной перекиссации наблюдается после введения гамма-пропанола, а также фенозана—28, затем фенозана—1, и, наконец, фенола—52 и фенола—53.

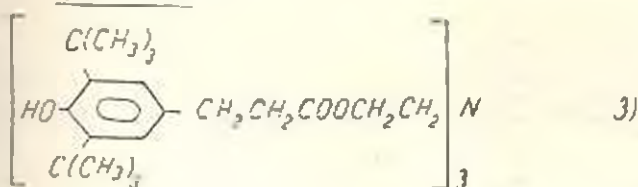
Фенозан — 1



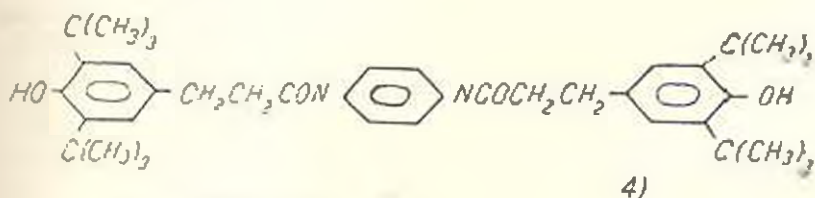
Фенозан — 28



Фенол — 52



Фенол — 53



γ — пропанол

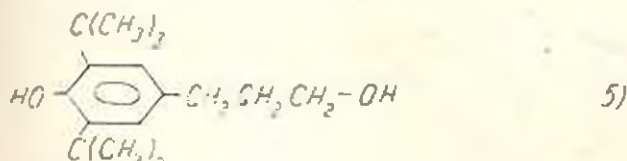


Рис. 1. Структурные формулы: фенозан—1 (1), фенозан—28 (2), фенол—52 (3), фенол—53 (4), гамма-пропанол (5).

Различия в антиоксидантном действии исследованных препаратов обусловлены, по-видимому, их физико-химическими особенностями. Высокая активность гамма-пропанола связана с особой поданжностью протона гидроксильной группы в фенольном радикале, что обусловлено от-

рицательным индуктивным эффектом ($-I$) гидроксила боковой цепи. Хотя гидроксильная группа и проявляет положительный мезомерный эффект ($+M$), однако $-I \gg +M$.

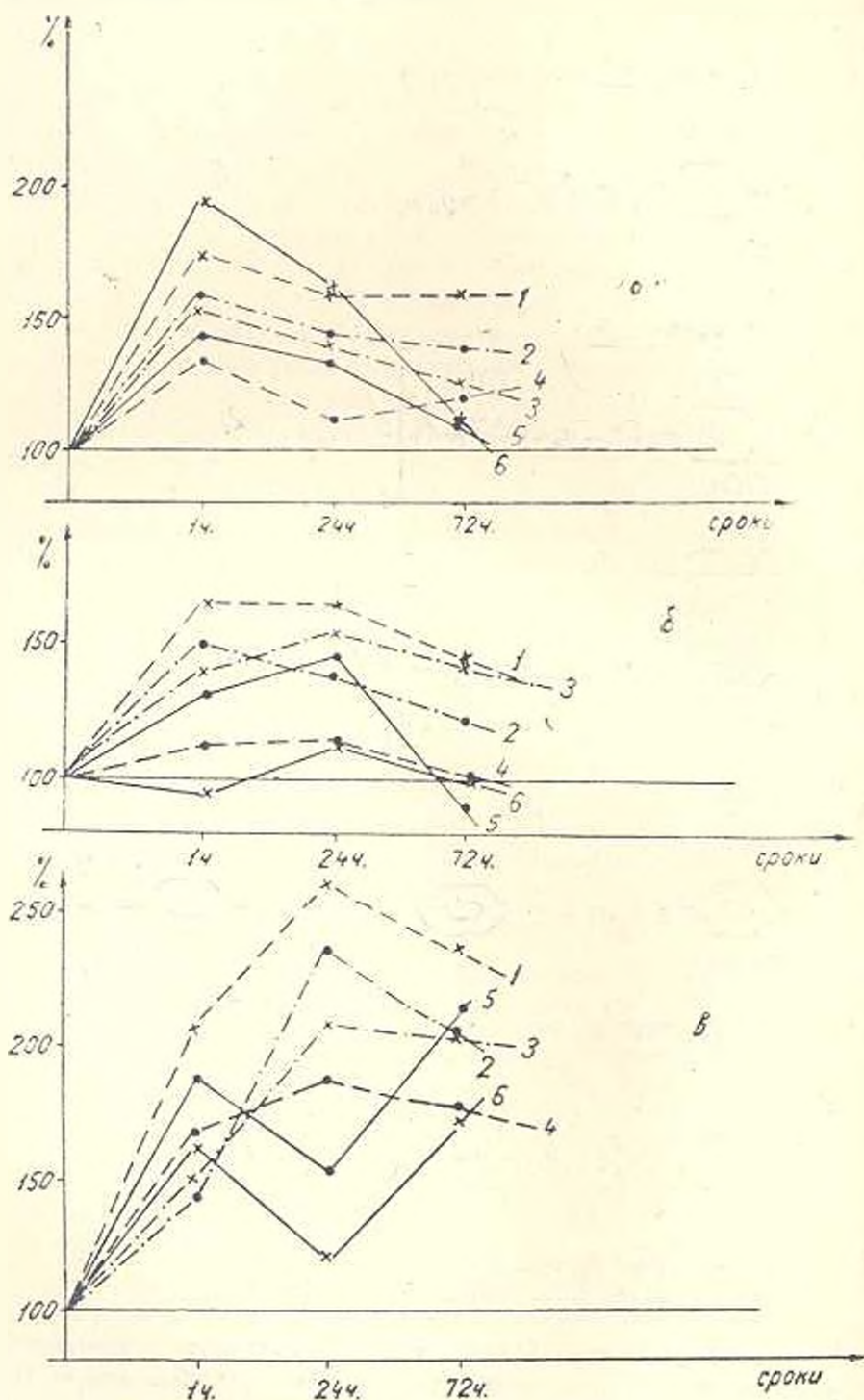


Рис. 2. Влияние антиоксидантов на содержание конъюгированных диенов в печени (а), мозге (б) и крови (в) после ожоговой травмы 1—ожог; 2—фенол-52; 3—фенол-53; 4—гамма-пропанол; 5—фенозан-1, 6—фенозан-28.

В отличие от гамма-пропанола фенол-52 и фенол-53 являются замещенными аминами. Хотя последние также проявляют отрицательный индуктивный эффект, однако они обладают менее сильным антиоксидантным свойством.

Полученные данные о соответствии структуры изученных препаратов их антиоксидантным свойствам позволяют наметить правильные пути синтеза более эффективных производных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанов М. Н., Барсегян Т. А., Григорян В. С., Казарян И. А. Ж. экпер. и клин. мед., 14, 6, 522, 1984.
2. Владимирцов Ю. А., Арчиков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах, М., 1972.
3. Гуляева Н. В., Плеханова Л. Г., Николаев В. В., Лисянский В. К., Драник Л. И. Тез. II Всесоюз. конф. «Биоантиоксидант», 2, 105, М., 1986.
4. Кричевская А. А., Лухан А. И., Вилков В. В., Кузнецова Н. Н. Тез. Всесоюз. совещ. «Биоантиоксидант» 118, Черноголовка, 1983.

Поступило 3.1 1987

Биолог. ж. Армении, т. 40, № 7, 575—579, 1987

УДК 547.922:616.34—002+616.45—001.1/3

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕУТЕРОКОККА НА УРОВЕНЬ ХОЛЕСТЕРИНА В КРОВИ И ЭРИТРОЦИТАРНЫХ МЕМБРАНАХ ПРИ СТРЕССЕ

Э. М. МИКАЕЛЯН, А. Б. АФРИКЯН

Ереванский государственный медицинский институт, кафедра биорганической и биологической химии

Аннотация — При остром стрессе повышается содержание общего холестерина в плазме крови и эритроцитарных мембранах, изменяется соотношение его фракций. Элеутерококк вызывает гипохолестеринемический эффект как у интактных, так и стрессированных животных. Стабилизация эритроцитарных мембран при стрессе элеутерококком определяется коррекцией содержания холестерина.

Անվանաթիւ — Հնդհանուր խոլեստերինի քանակը արյան պլազմայում և էրիթրոցիտայի թաղանթներում բարձրանում է սուր ստրեսի պայմաններում, փոխվում է նրա ֆրակցիաների հարաբերությունը, էրեոցիտոկոկը առաջացնում է հիպոխոլեստերինէմիկ էֆեկտ ինչպես ինտակտ, այնպես էլ ստրեսի ենթարկված կենդանիների մոտ: Ստրեսի ժամանակ էրիթրոցիտայի թաղանթների կայունացումը էրեոցիտոկոկով որոշվում է խոլեստերինի քանակի կարգավորմամբ:

Abstract — At the acute stress the common cholesterol content in the blood plasma and erythrocyte membranes increased, the correlation of its fractions changed.

Eleuterococc brought to hypocholesterolaemical effect both in intact and stressed animals. The erythrocyte membranes stabilization at the stress was determined by the eleuterococc correlation of cholesterol content.

Ключевые слова: стресс, холестерин, элеутерококк.

Холестерин играет существенную роль в структурно-функциональных перестройках мембран как при различных физиологических, так и пато-

логических состояниях. Структурно-функциональная активность биомембран зависит от величины отношения холестерина/фосфолипид, а также холестерина/белок.

Цель настоящего исследования состояла в изучении содержания холестерина в плазме крови и эритроцитарных мембранах при остром стрессе и его регуляции адаптогеном элеутерококком. Эритроцитарная мембрана служит своеобразным зеркалом других плазматических мембран, отражая процессы накопления и выведения холестерина из организма [2].

Материал и методика. Эксперименты поставлены на беспородных белых крысах-самцах массой 100—150 г, содержащихся в обычных условиях вивария. Животные были разделены на 4 группы: 1—интактные—контроль; 2—интактные крысы, которым интритрибушино вводили смесь гликозидов элеутерококка (5 мг/кг) и через 2,5; 24 и 48 ч, забивали. 3—крысы, у которых вызывали острый иммобилизационный стресс (ИМО) по классической модели Селье в течение 5, 15, 30 и 150 мин; 4—крысы, у которых вызывали ИМО и за день до этого вводили элеутерококк (5 мг/кг). В экспериментах использовано 110 животных.

Эритроциты освобождали от плазмы и жидкой белой крови центрифугированием, мембраны эритроцитов выделяли по методу Лимберга [7]. Содержание общего (ОХ), свободного (СХ) и эстерифицированного (ЭХ) холестерина определяли по унифицированному методу Златкиса-Заха [5], выражали в мг на 100 мл плазмы и мкг на 1 мг белка эритроцитарных мембран. Белок определяли по методу Лоури [8].

Результаты и обсуждение. Результаты исследований выявили фазовые изменения в содержании холестерина, характер и направленность которых зависит от продолжительности острого стресса. При 5-минутном ИМО содержание ОХ в плазме крови снижается на 14,3% по сравнению с контролем (рис. 1а), за счет фракции ЭХ, поэтому отно-

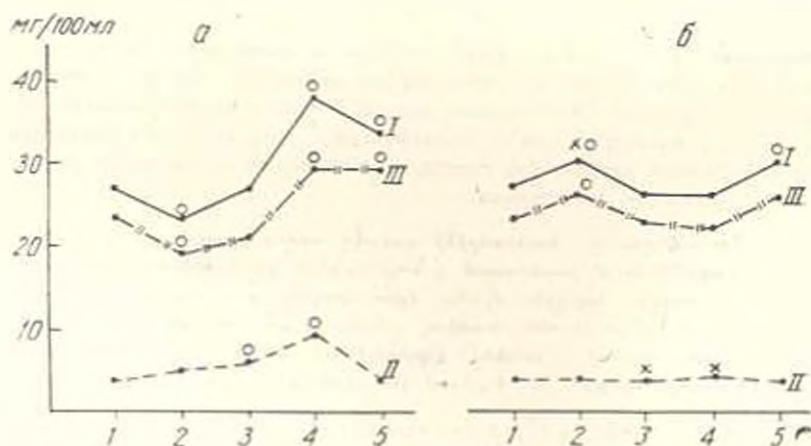


Рис. 1. Содержание холестерина в плазме крови: а—при ИМО; б—при ИМО+элеутерококк. Условные обозначения: I—общий холестерин; II—свободный холестерин; III—эстерифицированный холестерин. На оси абсцисс: 1—контроль; 2—ИМО 5 мин; 3—ИМО 15 мин; 4—ИМО 30 мин; 5—ИМО 150 мин. x—достоверно по отношению к соответствующему сроку ИМО, o—достоверно по отношению к контролю.

шение СХ/ЭХ становится равным 1:4,5 вместо 1:6 в контрольной группе. Уровень ОХ при 15 минутном ИМО приближается к исходным величинам, однако отношение фракций СХ/ЭХ по-прежнему составляет 1:4.

При дальнейшем увеличении продолжительности стресса до 30 и 150 мин количество холестерина в плазме крови значительно возрастает (рис. 1 а). Одновременно повышается отношение холестерина/белок в эритроцитарных мембранах (рис. 2 а), а также изменяется соотношение его фракций.

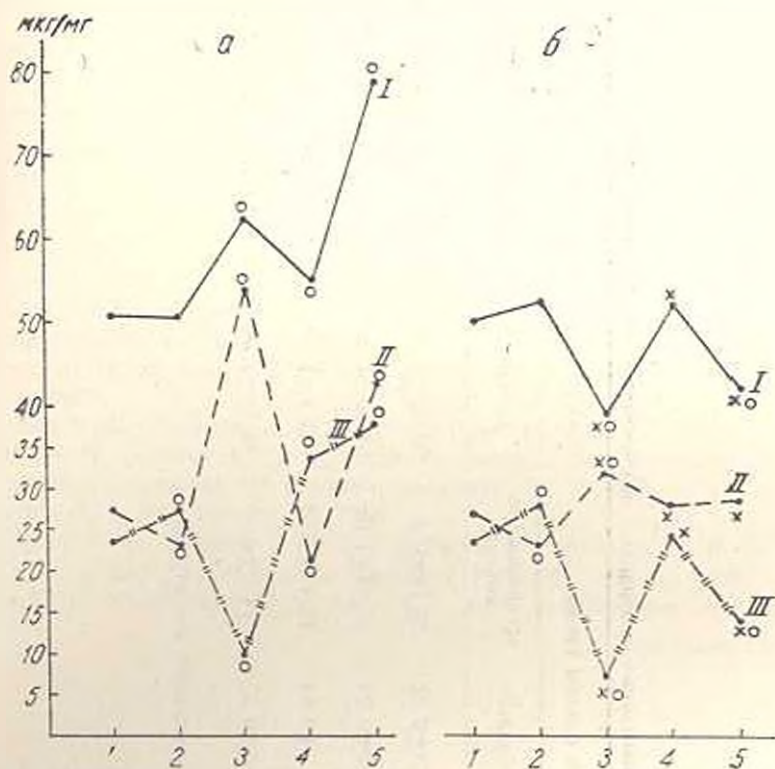


Рис. 2. Содержание холестерина в эритроцитарных мембранах в мкг на 1 мг белка, а—при НМО; б—при НМО+элеутерококк. Условные обозначения те же, что на рис. 1.

Увеличение доли холестерина в липидном бислое эритроцитарных мембран отражается на их осмотической устойчивости, проницаемости, а также реологических свойствах крови [6].

Как показали наши исследования, при остром стрессе в результате повышения проницаемости эритроцитарных мембран в плазме крови резко возрастает глюкозо-6-фосфатдегидрогеназная и суммарная пероксидазная активность (СПА) [3].

Элеутерококк, введенный перед НМО, регулирует сдвиги в уровне холестерина как в плазме крови, так и в эритроцитарных мембранах (рис. 1 б и 2 б). В плазме крови содержание ОХ, так и отношение СХ/ХЭ приближается в основном к контрольному уровню (рис. 1 б).

В эритроцитарных мембранах количество ОХ под влиянием элеутерококка понижается почти до исходного значения, но отношение СХ/ХЭ по-прежнему отличается от контроля (рис. 2 б). При этом мембраны стабилизируются, так как снижается до контрольных величин активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и СПА в плазме. Способность элеутерококка корригировать нарушение обмена холестерина

Содержание холестерина в плазме крови и эритроцитарных мембранах под влиянием элеутерококка (М ± п.)

Условия эксперимента		Холестерин плазмы крови			Холестерин эритроцитарных мембран		
		общий	свободный	эстерифициро- ванный	общий	свободный	эстерифициро- ванный
После введения элеутерококка через	Контроль	26,98±0,74	3,79±0,22	23,19±0,5	50,65±1,38	27,09±0,92	23,56±0,96
	2,5 ч	26,16±1,68	3,33±0,28	22,83±1,68	51,98±1,26	24,22±0,25	27,74±1,5
	21 ч	19,77±1,02	7,3±0,64	12,47±1,09	65,9±1,52	53,83±1,78	12,07±0,66 ^o
	48 ч	20,81±0,8	6,33±0,5	14,5±0,96	46,79±1,04	22,19±0,53	24,59±1,44

Примечание: o—статистически достоверно по отношению к контролю.

условиях холестериновой нагрузки и при лучевом поражении установленных другими исследователями [1, 4]. Как показали результаты наших исследований, элеутерококк у интактных животных также оказывает гипохолестеринемический эффект (табл.). В тех же условиях эксперимента наблюдается фазовое изменение уровня холестерина в эритроцитарных мембранах: через 2,5 ч после инъекции находится на уровне контроля, через 24 ч — повышается на 30%, а через 48 ч — понижается на 8% (табл.).

Полученные результаты позволяют заключить, что адаптогенное действие элеутерококка при стрессе частично определяется его способностью стабилизировать мембраны путем коррекции объема холестерина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Голиков А. П., Решетнев В. Г., Голиков П. П. Элеутерококк и другие адаптогены из дальневосточных растений. Вып. 7, 67, Владивосток, 1966.
2. Лопухин Ю. М., Арчаков А. И., Владимиров Ю. А., Козан Э. М. Холестериноз. 16. М., 1983.
3. Микаелян Э. М., Мхитарян В. Г. Биолог. ж. Армени, 38, 5, 393, 1985.
4. Мохир Ю. М., Семавин А. П. Структура, биосинтез и превращение липидов в орг. животных и человека. III Всесоюз. симпозиум, 60, Л., 1978.
5. Сентебова Н. А. Лаб. дело, 6, 375, 1977.
6. Торховская Т. И., Халимов Э. М. и др. Вопросы мед. химии, 31, 4, 83, 1985.
7. Limber G. K. Roy Dawis. Seymour Bakerman Blood, 36, 111, '36, 1970.
8. Lowry O. H., Rosebrough N. S., Farr A. L. et al. J. Biol Chem., 193, 265, 1951.

Поступило 13.II 1986 г.

Биолог. ж. Армени, т. 40, № 7, 579–583, 1987

УДК 577.15.576.8.095

ВЗАИМООТНОШЕНИЯ D- И L-СТЕРЕОИЗОМЕРОВ ВАЛИНА И ЛЕЙЦИНА ПРИ ИХ УСВОЕНИИ ДРОЖЖАМИ *CANDIDA GUILLIERMONDII* ВКМ У-42

Е. Г. БАГДАСЯН, М. А. ДАВТЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии и проблемная лаборатория сравнительной и эволюционной биохимии

Аннотация — Исследованы взаимоотношения D- и L-стереоизомеров валина и лейцина при их усвоении неголодающими и голодающими по азоту культурами *Candida guilliermondii* ВКМ У-42. Установлено, что D-стереоизомеры этих аминокислот подавляют усвоение L-изомеров. L-, DL- и D-стереоизомеры проникают и накапливаются в дрожжевой клетке почти с одинаковой скоростью. Делается вывод, что процесс проникновения изомеров аминокислот не является лимитирующим фактором их усвоения исследуемыми дрожжевыми организмами.

Անոտացիա — Ուսումնասիրվել է վալինի և լեյցինի D- և L- ստերեոիզոմերների փոխարարներությունը ազոտային բաղադրի ենթարկված և ոչ բաղադր (Candida guilliermondii ВКМ У-42) բջջային կոլոնից յոթրացման ժամանակ: Պարզվել է, որ այդ ամինաթթուների D-ստերեոիզոմերները ցկկնող ազդեցություն են

Քոդոն 1.-իզոմերների յուրացման վրա: L-, DL- և D-ստերեոիզոմերները խմորանկալին բջիջների մեջ ներթափանցում և կուտակվում են գրեթե միևնույն արագությամբ: Հետևաբար, ամինաթթուների իզոմերների ներթափանցման պրոցեսը նրանց յուրացման համար ուսմանախկադ գործոն չի հանդիսանում:

Abstract— The interrelation between D- and L- stereoisomers of valine and leucine at their assimilation by nitrogen starvation and non-starvation yeasts *Candida guilliermondii* ВКМ У-42 has been studied. D- stereoisomers of these amino acids suppress the assimilation of L- isomers L-, DL- and D- stereoisomers of amino acids penetrate and accumulate in yeast cells at almost equal rate. Consequently the process of penetration of isomers of amino acids is not a limiting factor for its assimilation by investigated yeast organisms.

Ключевые слова: дрожжи *Candida guilliermondii*, L-, DL- и D-стереоизомеры аминокислот.

Вопрос о взаимоотношениях изомеров аминокислот при их усвоении микроорганизмами освещен в литературе недостаточно. Показано, что при усвоении оптических антиподов аминокислот в некоторых случаях проявляются конкурентные взаимоотношения. Так, согласно Фоке и сотр. [5], у *Lactobacillus arabinosus* D-лейцин конкурентно подавляет усвоение L-лейцина. Авторы, к сожалению, не затрагивают вопроса о механизме этого явления. Имеются данные о том, что оксидазы D-аминокислот окисляют DL-изомер фенилаланина медленнее, чем D-форму. Однако влияние L-фенилаланина объясняют действием бензоата [7].

В настоящем сообщении приводятся результаты изучения L- и D-стереоизомеров валина и лейцина дрожжами *Candida guilliermondii* ВКМ У-42 и выяснения взаимоотношений этих изомеров в процессе усвоения.

Материал и методика. Объектом исследования служили культуры *Candida guilliermondii* ВКМ У-42, полученные из отдела типовых культур Института микробиологии АН СССР. Дрожжевую культуру с сусло-агара перенесли в жидкую синтетическую среду (глюкоза—10 г, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ —3,1 г, KH_2PO_4 —1,23 г, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ —0,625 г, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ —0,125 г, NaCl —0,125 г и биотин—80 мкг из литр водопроводной воды). В качестве источника азота взамен сульфата аммония использовали L-, DL- и D-изомеры аминокислот (по азоту сульфата аммония). Дрожжи выращивали в литровой колбе Эрленмейера (по 100 мл питательной среды в каждой), в условиях аэрирования в течение 18–24 ч на круговой качалке при 30–35°. Для получения голодающей по азоту культуры дрожжи подвергают 48-часовому аэрированию в 2%-ном растворе глюкозы и последующему 16-часовому аэрированию в воде. Этим способом, согласно данным нашей лаборатории, достигается резкое истощение фонда свободных аминокислот и других азотсодержащих спирторастворимых соединений, а также падение (около 20%) содержания азота клетки [3]. В качестве субстратов применяли L-, DL- и D-изомеры валина и лейцина. Глюкозу определяли микрометодом феррицианида по Хатгедорну-Ненсену [1], количество биомассы—взвешиванием ее до получения постоянного сухого веса или нефелометрированием дрожжевой суспензии на ФЭК М-57.

В опытах по изучению проникновения и накопления изомеров аминокислот использовали голодающую по азоту биомассу в фосфатном буфере М/15 (рН 5,3–5,5). В 1 мл такой суспензии содержание изомера аминокислот составляло 0,44 мМ, а сухой биомассы—9,6–17 мг. Инкубировали в конических колбах в термостате при 30° в условиях интенсивного аэрирования на круговой качалке (200 об/мин). Пробны для определения степени проникновения и накопления брали с интервалом 5, 30 и 60 мин.

центрифугировали и тут же промывали холодным М/15 раствором хлористого натрия. Полученную биомассу экстрагировали в 80%-ном кипящем этаноле с гидромодулем $\frac{V}{K} = \frac{\text{вес сухих дрожжей}}{\text{объем этанола}}$ — 30. Аминокислоты определяли методом хроматографии на бумаге [1]. Хроматограммы проявляли в 0,2%-ном растворе индигриина в ацетоне. Количественное определение изомеров аминокислот проводили по Лисичкому и Лорану [2].

Результаты и обсуждение. Результаты изучения процесса усвоения изомеров валина показывают, что последний усваивается почти наравне с сульфатом аммония (рис. 1а). Подобная закономерность наблюдается и в отношении усвоения сахара в среде с валином (рис. 1б).

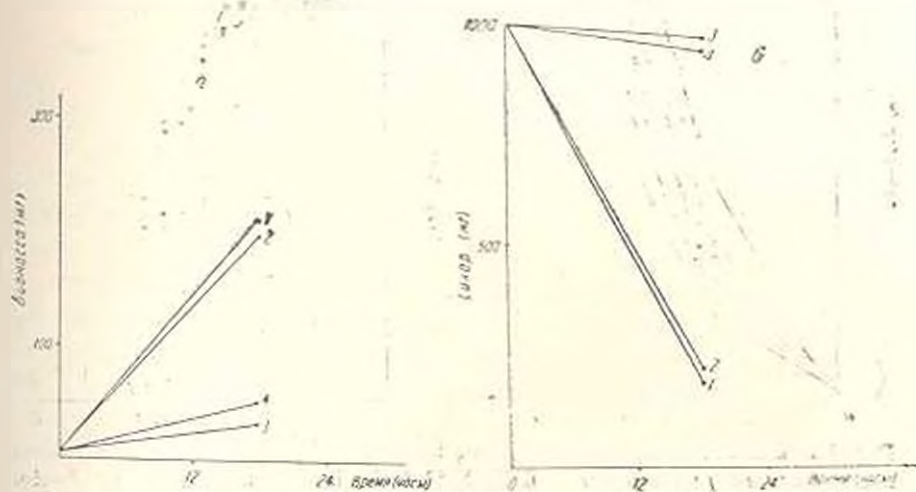


Рис. 1 а. Влияние изомеров (L-, DL- и D-) валина на образование биомассы дрожжей *Candida guilliermondii* ВКМ У-42. 1. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 2. L-Вал; 3. D-Вал; 4. DL-Вал. б. Влияние изомеров (L-, DL- и D-) валина на расщепление сахара дрожжами *Candida guilliermondii* ВКМ У-42. 1. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 2. L-Вал; 3. D-Вал; 4. DL-Вал.

Так, к 20-ти часам инкубации расход сахара в среде с сульфатом аммония составлял 80%, с L-валином — 78% от внесенного сахара, а то время как в вариантах с DL- и D-антиподами валина расходовалось 120 и 90 мг сахара соответственно или же он практически не расщеплялся. Такие же результаты получены в опытах со стереоизомерами лейцина. Таким образом, можно заключить, что природный изомер (L-форма) дрожжами усваивается достаточно хорошо, тогда как DL- и D-формы практически не усваиваются, хотя следовало бы ожидать интенсивное усвоение 50% рацемата аминокислот [2].

В специальной серии экспериментов исследовалось влияние валина и лейцина на усвоение L-стереоизомера. В этих опытах мы варьировали содержание D-изомера на фоне постоянной концентрации L-валина (рис. 2а). Полученные данные показывают, что постепенное увеличение количества D-изомера в синтетической среде, содержащей L-валин в качестве единственного источника азота, приводит к подавлению биосинтеза биомассы. Если в варианте с L-изомером валина (550 мг) к 14-ти часам инкубации накапливается 118,8 мг биомассы, то при добавлении к этой же среде всего 55 мг D-изомера валина накапливается

92,4 мг биомассы, т. е. биосинтез биомассы подавляется на 22,3%, а при добавлении 550 мг D-изомера валина он подавляется в два раза. При этом резко снижается расход сахара в среде (рис. 2б). Такая же картина была выявлена к 24-му часу инкубации: в варианте с L-валином полностью расходуется сахар среды, а с L-валином и 550 мг D-валина прирост биомассы и расход сахара подавляется более чем на 50%.

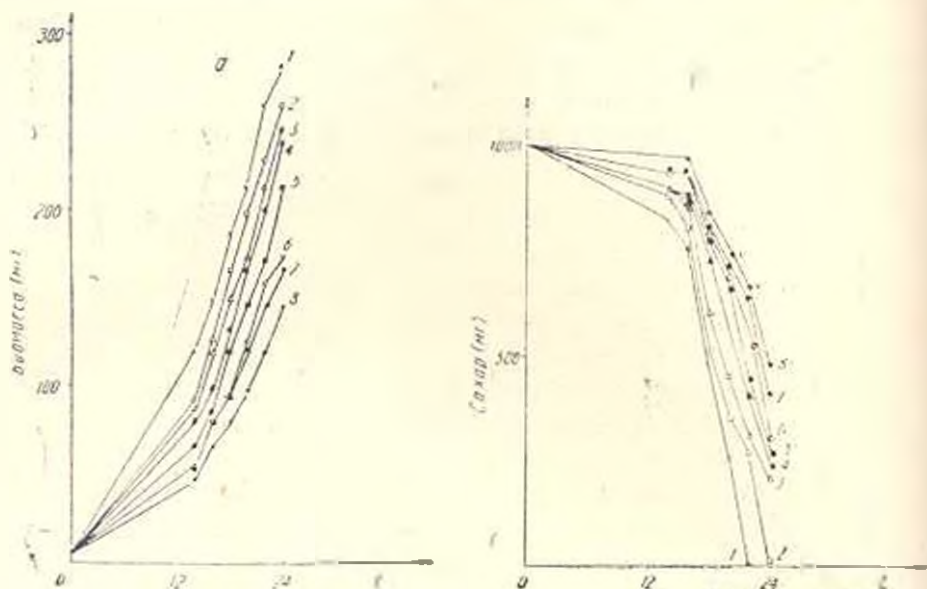


Рис. 2а. Влияние D-валина на усвоение L-валина и накопление биомассы у дрожжей *Candida guilliermondii* ВКМ У-42. 1. L-Вал; 2. L-Вал+55 мг D-Вал; 3. L-Вал+110 мг D-Вал; 4. L-Вал+220 мг D-Вал; 5. L-Вал+330 мг D-Вал; 6. L-Вал+440 мг D-Вал; 7. L-Вал+495 мг D-Вал; 8. L-Вал+550 мг D-Вал. Влияние D-валина на усвоение L-валина и расщепление сахара у дрожжей *Candida guilliermondii* ВКМ У-42. 1. L-Вал; 2. L-Вал+55 мг D-Вал; 3. L-Вал+110 мг D-Вал; 4. L-Вал+220 мг D-Вал; 5. L-Вал+330 мг D-Вал; 6. L-Вал+440 мг D-Вал; 7. L-Вал+495 мг D-Вал; 8. L-Вал+550 мг D-Вал.

В серии опытов с голодающей по азоту культурой этих же дрожжей наблюдалась такая же закономерность, с той лишь разницей, что скорость накопления биомассы и расход сахара среды несколько замедлены, вероятно, вследствие prolongации лаг-фазы роста.

Эксперименты позволяют заключить, что D-изомер подавляет усвоение L-изомера валина. Что же касается механизма этого явления, то можно предполагать, что происходит конкуренция между стереоизомерами за общий переносчик или за метаболические ферменты. Это предположение подтвердилось результатами экспериментов, посвященных изучению проникновения стереоизомеров валина (табл.) и лейцина в аминокислотный пул голодающих по азоту дрожжей.

Полученные данные показывают, что при инкубации хорошо проникают и накапливаются в дрожжевой клетке как рацемат, так и отдельные стереоизомеры валина и лейцина. Можно лишь отметить, что в начальные сроки инкубации (5 мин) интенсивность процессов проникновения и накопления D-валина несколько уступает таковой L-валина. Однако эти различия в дальнейшем сглаживаются.

Проникновение и накопление изомеров валина в дрожжевую клетку *Candida guilliermondii* ВКМ У-42, у 1 мл спиртового экстракта

Варианты опыта	Продолжительность инкубации, мин		
	5	30	60
L-Валин	35.1±1.85	85.7±5.25	90.1±10.39
DL-Валин	53.5±5.01	105.7±4.87	111.2±8.16
D-Валин	24.9±1.29	68.2±9.46	94.9±5.55

Совершенно неожиданным оказалось, что DL-валин проникает и значительно лучше накапливается, чем L- и DL-стереоизомеры этой аминокислоты.

Таким образом, антиподы валина в процессе проникновения в клетку, вопреки ожидаемому антагонизму, проявляют синергические взаимоотношения.

Не вдаваясь в подробности этого интересного явления и основываясь на полученных нами данных, можно заключить, что причины плохого усвоения D-валина и D-лейцина, а также отрицательного влияния последнего на усвоение L-изомеров валина и лейцина у изучаемых дрожжей следует искать не на уровне проникновения, а, очевидно, на внутриклеточных этапах их обмена.

ЛИТЕРАТУРА

1. Боложский А. Н., Проскуряков Н. И. Практическое руководство по биохимии растений. М., 1951.
2. Инджикян С. М. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1969.
3. Тер-Каралетян М. А., Макарова Е. Н., Цатурян С. С. Биолог. ж. Армения, 26, 12, 44, 1968.
4. Хайс Ж. Н., Мацек К. Хроматография на бумаге. М., 1962.
5. Fox S. W., Fling M., Bullenback G. M. J. Biol. chem., 155, 465, 1944.
6. Lissitzky S., Laurent G. Bull. Soc. Biol., 37, 1177, 1955.
7. Melster A. Biochemistry of the Amino Acids. J. New York, Lond., 1965.

Поступило 26.III 1986 г.

Биолог. ж. Армения, т. 40, № 7, 583—587, 1987

УДК 577.12

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ СДВИГИ В БИОГЕННЫХ АМИНАХ, ИНДУЦИРУЕМЫЕ ВВЕДЕНИЕМ ЭТАНОЛА, ЭТАНОЛАМИНА И ЕГО АЦЕТАМИДА

Т. А. ГЮЛЬБАЯЗЯН, Э. А. АВАГИМЯН, В. С. АСЛАМАЗЯН, Р. Г. КАМАЛЯН

Ереванский зоотехническо-ветеринарный институт, проблемная лаборатория обмена веществ

Аннотация — Исследовано влияние острого алкогольного отравления и введения этаноламина и N-ацетилэтанламина на содержание катехоламинов и серотонина в тканях и крови белых крыс. Обнаружена начальная активация нейромедиаторных моновалиновых систем при введении этаноламин-

на и его производных, действие которых проявляется при значительно меньших дозах препаратов. Количественное изменение моноаминов не играет существенной роли в развитии симптомов острого алкогольного отравления.

Անձամիջիւս — *Влияние острой алкогольной интоксикации и введения этаноламина и N-ацетилэтанолamina на содержание катехоламинов и серотонина в тканях и крови белых крыс изучено. Инициальная активация моноаминергических систем при введении этанола и его производных не показала существенной роли в развитии симптомов острой алкогольной интоксикации.*

Abstract — The influence of acute alcohol intoxication and administration of ethanolamine and N-acetyethanolamine on the content of catecholamines and serotonin in the tissues and blood of white rats was studied. The initial activation of the monoaminergic systems by administration of ethanol and its derivatives was shown. The quantitative changes of monoamines didn't play an essential role in the development of symptoms of acute alcohol intoxication.

Ключевые слова: острое алкогольное отравление, биогенные моноамины

В патогенезе алкогольного отравления важная роль принадлежит развитию нарушений нейромедиаторных регуляторных систем [2, 13, 14]. Несмотря на противоречивость данных, касающихся изменения содержания моноаминов в мозге экспериментальных животных при остром алкогольном отравлении, большинство их свидетельствует о снижении концентрации этих веществ при однократном введении этанола.

Нами показано непосредственное участие этаноламина в нейромедиаторных процессах, в частности, обмене катехоламинов в миокарде и гипоталамусе [7], в модуляции эффекта норадреналина на чувствительность аденилатциклазы печени и надпочечников [8], выявлена хемочувствительность мембран к медиаторам [6].

Установлено также, что этаноламин может переходить в организме в этанол [11] и ацетальдегид [15], восстанавливать митохондриальные опирдиннуклеотиды [5], подавлять активность алкогольдегидрогеназы [15]. В свете сказанного изучение действия этого аминопроизводного этанола на нейромедиаторы при остром алкогольном отравлении представляется актуальной задачей.

В настоящей работе представлены данные о содержании катехоламина (КА), ДОФА, серотонина и гистамина в органах и крови крыс при внутрибрюшинном введении этанола, этаноламина и N-ацетилэтанолamina.

19

Материал и методика. Эксперименты проводили на беспородных белых крысах-самках массой 150—180 г. Подопытные животные были разделены на 5 групп. Контрольным животным (I группа) внутрибрюшинно вводили 25%-ный раствор этанола из расчета 3 г·кг⁻¹ массы, крысам II группы—раствор этаноламинагидрохлорида (ЭА), рН 7,2, в дозе 25 мг·кг⁻¹ массы, III—раствор N-ацетилэтанолamina (N-ЭА) в дозе 40 мг·кг⁻¹ массы, IV и V—через 15 мин после инъекции ЭА и N-ЭА вводили этанол в указанной дозе. Спустя час после введения этанола животных декапитировали под слабым эфирным наркозом. Исследовали мозг (без гипоталамуса), гипоталамус, миокард, надпочечники, печень и кровь. При определении указанных выше веществ использовали флуориметрические методы катехоламины—по Мэглиной и Рахмановой

[9], серотонин и гистамин—по методу, описанному Герасимовой [4]. Интенсивность флуоресценции измеряли на флуоресцентном спектрофотометре «Mark-1» фирмы «Farrand» (США).

Результаты и обсуждение. В таблице представлены результаты определения концентрации КА в органах и плазме крови крыс через час после введения исследуемых препаратов и этанола.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что этанол и аминоспирты оказывают одинаковое действие на концентрацию КА в сердце крыс, снижают содержание норадреналина и повышают уровень адреналина. Аналогичные результаты получены в исследованиях с этаноламином [7].

Предварительное введение животным аминоспиртов не оказывает влияния на сдвиги, вызываемые этанолом в концентрации норадреналина, однако препятствуют повышению содержания адреналина в миокарде в случае с этаноламином.

В мозге отмечается тенденция к снижению концентрации норадреналина при введении спирта и этаноламина.

Наблюдаемые в надпочечниках и крови изменения в концентрации КА статистически недостоверны. Не было получено достоверных изменений и в содержании ДОФА и гистамина в исследуемых объектах, за исключением гипоталамуса, в котором уровень гистамина при введении N-ЭА заметно снижался.

Что касается серотонина, то концентрация его заметно снижается в мозге и гипоталамусе при введении исследуемых веществ. И этанол, и этаноламин, и N-ацетилэтанолламин достоверно и в одинаковой степени снижают уровень серотонина в мозге крыс (от 28,8 до 33,3%).

Предварительное введение аминоспиртов на фоне этанола не отражается на эффекте последнего. Интересно отметить, что этаноламин и его ацетилпроизводное, в отличие от этанола, достоверно снижают уровень серотонина в гипоталамусе. Причем действие N-ЭА проявляется и при предварительном введении его, тогда как эффект этаноламина нивелируется последующим введением этанола.

Таким образом, внутрибрюшинное введение спирта сопровождается начальной активацией нейромедиаторных моноаминовых систем, в частности норадренэргических и серотонинэргических, что проявляется в уменьшении концентрации норадреналина и серотонина в сердце и мозге. Эти результаты совпадают с подавляющим большинством литературных данных о концентрационных сдвигах указанных медиаторов в мозге при остром алкогольном отравлении и корреляции их с наблюдаемыми физиологическими эффектами [12]. Интересно отметить, что исследованные нами производные этанола проявляют аналогичное действие, однако в концентрациях более чем на два порядка ниже.

Аналогичный с алкоголем эффект малых доз аминоспиртов, казалось бы, говорит о возможности опосредования аминоспиртами эффекта этанола. Однако определение этаноламина в органах крыс после введения этанола не обнаруживает достоверных сдвигов в концентрации этого метаболита.

Содержание КА в тканях ($\text{мкг} \cdot \text{г}^{-1}$ ткани) и крови ($\text{мкг} \cdot \text{л}^{-1}$ плазмы) белых крыс при остром алкогольном отравлении и внутрибрюшинном введении ЭА и N-ЭА

Группы животных		Контроль		Этанол		ЭА		N-ЭА		ЭА + этанол		N-ЭА + этанол	
Исследуемая ткань		А	НА	А	НА	А	НА	А	НА	А	НА	А	НА
Сердце	M	0.022	0.980	0.044*	0.812*	0.053	0.695*	0.052*	0.864*	0.028	0.793	0.036	0.870
	$\pm m$	0.005	0.024	0.006	0.024	0.013	0.047	0.005	0.027	0.002	0.033	0.004	0.041
Мозг	M	0.019	0.400	0.020	0.327*	0.016	0.0327*	0.022	0.365	0.020	0.326	0.024	0.383
	$\pm m$	0.006	0.018	0.008	0.014	0.003	0.019	0.003	0.015	0.004	0.033	0.004	0.028
Надпочечники	M	754.60	131.34	722.44	187.40	737.12	183.40	737.18	159.41	677.20	118.00	740.06	105.30
	$\pm m$	54.35	34.98	42.96	39.13	34.60	44.81	16.70	37.66	32.91	48.40	32.42	40.72
Кровь	M	5.24	10.76	6.25	7.57	7.79	8.80	5.99	10.18	6.57	7.07	4.97	8.42
	$\pm m$	0.99	1.06	1.21	0.61	0.70	1.62	1.23	1.10	1.19	2.58	0.70	1.33

* — статистически достоверная разница ($P \leq 0.01$); А — адреналин; НА — норадреналин.

Снижение концентрации норадреналина в мозге при однократном введении этанола незначительно (примерно 18%) и, по-видимому, не играет существенной роли в развитии токсических явлений острого алкогольного опьянения, так как такая же направленность сдвигов наблюдается и при введении этаноламина, который не вызывает подобных симптомов, но вместе с тем повышает толерантность к алкоголю.

Аналогичность действия этанола и этаноламина на содержание катехоламинов и серотонина в мозге свидетельствуют о том, что сдвиги в этих аминах не играют существенной роли в развитии симптомов острого алкогольного отравления. Это, однако, не исключает роли моноаминов мозга в развитии алкоголизма как болезни, ибо систематическое введение алкоголя, по-видимому, приводит к «расшатыванию» адренергических систем, формированию патологических реакций на этанол, что и проявляется в развитии абстиненции и повышенной толерантности к этанолу [1]. Аминоспирты, оказывая действие, аналогичное эффекту этанола, тем не менее способствуют смягчению токсических явлений острого алкогольного отравления, сокращают период сна, ускоряют выход из бокового положения.

Следовательно, наблюдаемое антитоксическое действие аминоспиртов непосредственно не связано с моноаминэргическими системами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анохина И. П. В кн.: Патогенез, клиника и лечение алкоголизма. 15—19, М., 1976.
2. Анохина И. П., Коган Б. М. Журн. невропат. и психиатр., 75, 1874—1883, 1975.
3. Герацишона Ш. И. Лабор. дело, 1, 14, 1977.
4. Камалян Р. Г., Саакян И. Р., Гюльшвидакян А. В., Гюльбаязян Т. А. Тез. XI Всесоюз. симпози. «Митохондрии: механизмы сопряжения и регуляции», 57, Пушкино, 1981.
5. Камалян Р. Г., Гюльбаязян Т. А., Ширинян Э. А. Тез. совещ. симпози. «Биология этаноламина и его применение в народном хозяйстве», 60—61, Ереван, 1974.
6. Камалян Р. Г., Ростопян М. А. Биолог. ж. Армении, 36, 10, 825—830, 1983.
7. Митлина Э. Ш., Рахманова Т. В. В кн.: Методы исследования некоторых систем гуморальной регуляции, 136—143, М., 1967.
8. Морозов Г. В., Панченко Л. Ф., Анохина И. П. Бюлл. эксп. биол. и мед., 90, 11, 566—568, 1980.
9. Островский С. Ю., Бабкозский А. А. Изв. АН БССР, сер. биол. наук, 12, Минск, 1981.
10. Сытинский И. А. В кн.: Биохимические основы действия этанола на центральную нервную систему, М., 1980.
11. Bong S., Kvande H., Mossberg D., Sedvall G., Valerius P. Acta pharmacol. et toxicol., 51, 1, 14, 1982.
12. Isselbacher K., Carter E. A. Biochem. Biophys. Res. Commun., 39, 3, 530—557, 1970.
13. De Turck K. H., Vogel W. H. J. Pharmacol. and Exp. Ther., 223, 343—354, 1982.
14. Lundquist F. Eur. J. Clin. Invest., 13, 3, 183—184, 1983.
15. Sprinson D. B., Weliky T. Biochem. Biophys. Res. Commun., 36, 866, 1969.

Поступило 18.III 1986 г.

Вопросы ж. Архива, т. 40, № 7, 588—590, 1987

УДК 577.112

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ КАРДИОАКТИВНЫХ БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ В СЕРДЦЕ РАЗЛИЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

Р. М. СРАПИОНИАН, Т. В. ПОЦОВА, А. А. ГАЛЮЯН

Институт биохимии АН Армянской ССР, Ереван

Ключевые слова: коронароактивный белок-гормональный комплекс, фосфодиэстераза САМР

Результаты исследования молекулярных механизмов действия гипоталамических кардиотропных нейrogормонов в органе-мишени сердце [1—3] обусловили необходимость поиска подобных соединений в этой же ткани. Были обнаружены, выделены и частично охарактеризованы 6 кардиоактивных соединений, среди которых были идентифицированы сердечные факторы, участвующие в осуществлении обратной связи между гипоталамусом и сердцем [4, 5, 8], а также нейrogормон С-подобные соединения [6]. В ходе дальнейшего изучения и в связи с поисками «пусковых механизмов» действия этих гормональных соединений возникла необходимость изучения вопроса об их связывании с определенными белками сердечной мышцы, взаимодействии с которыми могли бы обуславливать последовательность реакций, приводящих к релаксации гладкой мускулатуры коронарных сосудов.

Известно, что около 70% общего количества белков сердца приходится на долю миофибриллярных белков. Исходя из этого, представлялось целесообразным поиск белков, связывающих коронароактивные факторы, вести среди них. Однако в составе экстрагированных по методу Фурукава [9] смесью 0,1 М раствора NaCl и 5 мМ NaHCO₃ белков нам не удалось обнаружить таковых. В противоположность этому при экстракции белков сердца дистиллированной водой в сочетании с дальнейшим фракционированием сульфатом аммония (в пределах насыщения от 10—20%) выявлялись коронароактивные белковые соединения [7].

Целью настоящего исследования явилось выяснение регионального распределения коронароактивных белок-гормональных комплексов в сердце различных животных.

Материал и методика. В экспериментах было использовано сердце крысы, кошки, свиньи, крупного рогатого скота. Очищенную от сосудов сердечную ткань расщепляли и отдельные гомогенизировали область желудочков, предсердий и ушек. Высажденные сульфатом аммония в пределах насыщения 0,1—0,2 фракции после 18-часового

диализа против воды подвергали гель-фильтрации на сефадексе Г-100. Элюцию производили аммоний-ацетатным буфером, рН 4, со скоростью 10 мл/час. Коронароактивные фракции подвергали ионообменной хроматографии (ИОХ) на ДЭАЭ-и. Элюцию проводили 0,005 М фосфатным буфером, рН 6,5, со скоростью 15 мл/час.

Активность фракций в отношении коронарного кровообращения определяли *in situ* на кошках по методу Моравица и Цана [10].

Результаты и обсуждение. В результате примененной схемы очистки были получены 3 белковых коронарорасширяющих фактора у всех исследуемых объектов (табл. 1).

Таблица 1. Региональное распределение коронарорасширяющих белков, выделенных из сердца различных животных

Вид животного	Стадии очистки и выход коронарорасширяющих белков, мг/кг сырой ткани		Коронарорасширяющая активность в различных отделах сердца			
	фракционирование сульфатом аммония	гель-фильтр на сефадексе Г-100	ИОХ на ДЭАЭ-и	предсердия	ушко	желудочки
Крыса	1 860	17.1	1.89	++	—	—
Кошка	1 220	5.7	0.48	++	+	—
Свинья	1 500	16.5	1.29	++	+	—
Крупный рогатый скот	900	3.7	0.42	++	÷	—

В соответствии с последовательностью их выхода из колонок мы условно обозначили их как Б₁, Б₂, Б₃. У всех опытных животных содержание коронароактивных белков одинаково, они локализованы преимущественно в предсердиях, несколько меньше в ушках и отсутствуют в области желудочков. Максимальная активность наблюдается у свиней и крыс.

Гистамин и прозерин повышают содержание активных белков в области предсердий у крыс и кошек, в то же время денервация сердца приводит к полному исчезновению их. Однозначно объяснить этот факт на основании имеющихся данных трудно, но, по-видимому, нейромедиаторы участвуют в стабилизации коронароактивных белок-гормональных комплексов путем предотвращения их протеолитического распада.

Указанные белки по ряду физико-химических и биологических свойств—электрофоретической подвижности, параметрам гель-филь-

Таблица 2. Влияние белков, выделенных из предсердий, на коронарное кровообращение и активность фосфодиэстеразы cAMP

Вид животного	Коронарорасширяющая активность, %			ФДЭ-сAMP-ингибирующая активность, %		
	Б ₁	Б ₂	Б ₃	Б ₁	Б ₂	Б ₃
Крыса	330	240	180	92	63	53
Кошка	260	200	160	99	60	45
Свинья	300	240	200	94	66	61
Крупный рогатый скот	280	200	150	86	58	56

трации и ионообменной хроматографии, фармакологическим и фосфодиэстераза (ФДЭ)-сАМР-ингибирующим свойствам (табл. 2) — проявляют сходство с таковыми целого сердца тех же животных [7].

Результаты настоящего исследования подтверждают, что местом биосинтеза метаболической активности сердечных гормонов является предсердие и, в частности, его нейросекреторные образования [8].

ЛИТЕРАТУРА

1. Галоян А. А., Алексанян А. А. ДАН АрмССР, 58, 3, 183—187, 1974.
2. Алексанян С. С., Галоян А. А., Путилина Ф. Е. ДАН АрмССР, 64, 1, 52—54, 1977.
3. Алексанян С. С., Галоян А. А. ДАН АрмССР, 60, 5, 293—296, 1975.
4. Срапионян Р. М., Галоян А. А. ДАН АрмССР, 56, 3, 174—178, 1973.
5. Мисирян С. С., Срапионян Р. М., Саркисян Ш. С., Карапетян Р. О., Галоян А. А. Биолог. ж. Армении, 26, 8, 706—709, 1983.
6. Мисирян С. С., Срапионян Р. М., Медведев Ф. М., Галоян А. А. ДАН АрмССР, 69, 5, 290—293, 1979.
7. Срапионян Р. М., Мисирян С. С., Галоян А. А. Вопросы биохимии мозга, 10, 122—127, Ереван, 1975.
8. Galoyan A. A. Newrochem Res., 11, 6, 769—787, 1982.
9. Furukawa T., Sugita H., Toyokura I. Exp. Neur., 37, 3—8, 1972.
10. Morawitz P. Z. and Zahn A. Dt. Arch Klin med., 116, 364—357, 1914.

Поступило 18.11 1987 г.

Биолог. ж. Армения, т. 40, № 7, 590—593, 1987

УДК 616.008.839.6

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ НА ФОНЕ ДВУСТОРОННЕЙ ПОДДИАФРАГМАЛЬНОЙ ВАГОТОМИИ

Э. А. АВАКЯН, Л. М. ОВСЕПЯН, А. Г. КАРАГЕЗЯН

Ереванский государственный медицинский институт, Институт биохимии
АН Армянской ССР, Ереван

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, митохондриальная и микросомальная фракции печени, ваготомия поддиафрагмальная.

Ранее нами было установлено [3], что при двусторонней поддиафрагмальной ваготомии имеют место нарушения фосфолипидного обмена. Одним из факторов, вызывающих нарушение фосфолипидного состава мембран, является развитие в них процесса перекисного окисления ненасыщенных жирных кислот, приводящее в то же время к нарастанию уровня липидных перекисей и образованию в мембранах так называемых пор, что обуславливает значительное изменение их проницаемости. В задачу настоящего исследования входило изучение закономерностей в динамике интенсивности течения процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в митохондриальной и микросомальной фракциях печеночной ткани белых крыс в различные периоды после моделирования двусторонней поддиафрагмальной ваготомии.

Материал и методика. Эксперименты ставили на беспородных белых крысах обоего пола массой 180—200 г, содержащихся в обычных условиях вивария. Двусторон-

ную поддиафрагмальную ваготомию осуществляли под хлороформным наркозом проведением срединного разреза брюшной стенки и области нижней трети пищевода, позволяющего обнажить левую и правую ветви блуждающих нервов с иссечением их непосредственно под диафрагмой. Животных брали в эксперимент через 1, 3, 7, 30 и 90 дней после операции. Очистку и гомогенизацию печеночной ткани проводили на холоду в среде, содержащей из 0,25 М раствора сахарозы и 0,01 М раствора трис-НСl буфера, pH 7,4. Митохондриальную и микросомальную фракции отделяли центрифугированием: первую при 11000 g (в центрифуге К-24), вторую — при 105000 g (в центрифуге ВАК-601) в течение 20 и 60 мин соответственно [1]. Об активности перекисного окисления липидов судили по содержанию малонового диальдегида (МДА), образующего с тиобарбитуровой кислотой цветное окрашивание, интенсивность которого регистрировали спектрофотометрически (СФ-26) при длине волны 535 nm [1]; количество перекисей пересчитывали на 1 мг белка данной фракции [1].

Результаты и обсуждение. Как вытекает из результатов проведенных исследований, двусторонняя поддиафрагмальная ваготомия сопровождается чувствительным активированием процесса перекисеобразования как в митохондриальной (табл. 1), так и микросомальной (табл. 2) фракции печеночной ткани.

В обоих случаях выявлены следующие закономерности: отсутствие у животных контрольной группы существенных отклонений в интенсивности выхода МДА как в неферментативной, так и ферментативной системе перекисления липидов; максимальное наращивание интенсивности процесса свободнорадикального окисления липидов (СРО) на 3-й день после операции в обеих фракциях; сдвиги в интенсивности течения процесса СРО липидов больше выражены в неферментативной системе перекисления липидов; отчетливо проявляющееся упорядочение уровня МДА в неферментативной системе перекисления липидов как в митохондриальной, так и микросомальной фракции гепатоцитов на 30-й и 90-й дни после операции; уровень же перекисеобразования в неферментативной системе перекисления липидов в эти сроки наблюдений выше в митохондриальной фракции, по сравнению с таковым в микросомальной, примерно в 2 и 1,5 раза соответственно.

Полученные результаты свидетельствуют о длительности формирования компенсаторно-приспособительных механизмов, направленных на нормализацию отмеченных нарушений в картине СРО липидов. В какой-то мере они проливают свет на понимание молекулярных механизмов, способствующих увеличению пула незэтерифицированных жирных кислот, выступающих, как известно, в качестве основных субстратов в реакциях перекисеобразования. Следовательно, одним из основных действующих начал в отмеченном механизме является чрезмерно активированное состояние фосфолипазы A_2 как в известной мере катехоламинзависимого фермента. Поэтому не исключено, что в основе описанных выше нарушений процесса СРО липидов в митохондриальной и микросомальной фракциях печеночной ткани ваготомизированных животных лежит длительно прослеживаемый дисбаланс между функциональной активностью симпатического и парасимпатического звеньев вегетативной нервной системы. В свете сказанного становятся понятными и развивающиеся на этой основе нарушения в течении тканевых метаболических процессов, к частным проявлениям которых относится и рас-

Таблица 1. Динамика содержания перекисей липидов в митохондриальной фракции печеночной ткани белых крыс в различные периоды после двусторонней поддиафрагмальной ваготомии ($n=10$), нмоль МДА/мг белка

Системы перекисления липидов	Дни после двусторонней поддиафрагмальной ваготомии					
	Контроль	1	3	7	30	90
Неферментативная, аскорбат-зависимая	10.81±1.12	20.15±0.67 ^a +86.0%	24.23±1.19 ^a +121.0%	20.06±0.57 +86.0%	16.59±1.12 +53.0%	14.29±0.36 +32.0%
Ферментативная, НАДФН-зависимая	9.08±1.02	16.21±0.38 ^a +79.0%	17.10±0.37 ^a +88.0%	16.11±0.21 ^a +77.0%	9.06±0.43 ^a 0%	10.79±0.98 ^a +9.0%

Примечание: величины статистической достоверности сдвигов (P) соответствуют а—0,001, б—0,02, г—0,05, д—0,5.

Таблица 2. Динамика содержания перекисей липидов в микросомальной фракции печеночной ткани белых крыс в различные периоды после двусторонней поддиафрагмальной ваготомии ($n=10$), нмоль МДА/мг белка

Системы перекисления липидов	Дни после двусторонней поддиафрагмальной ваготомии					
	Контроль	1	3	7	30	90
Неферментативная, аскорбат-зависимая	16.29±1.5 ^a	44.59±3.17 ^a +174.0%	43.55±1.12 ^a +168.0%	39.71±1.88 ^a +144.0%	20.68±1.45 ^a +27.0%	20.21±1.90 ^a +24.0%
Ферментативная, НАДФН-зависимая	15.41±2.3	27.16±0.58 ^a +76.0%	26.63±19.2 ^a +73.0%	24.13±2.60 ^a +57.0%	15.95±1.03 ^a +3.5%	16.25±1.58 ^a +5.5%

Примечание: обозначения те же, что и в табл. 1.

стройства в изученных нами звеньях липидного обмена в субклеточных образованиях печеночной ткани.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арчаков А. И., Девичинский В. М. Биохимия, 33, 479—482, 1968.
2. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. В кн.: Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. 252, М., 1972.
3. Карагезян К. Г., Авакян Э. А., Овсепян Л. М. Биолог. ж. Армении, 39, 384—388, 1986.
4. Lowry O. H., Rosenbough N. J., Farr A. J. J. Biol. chem., 193, 265, 1951.

Поступило 8 V 1986 г.

Биолог. ж. Армении, т. 40, № 7, 593—595, 1987

УДК 615.917+547.915.5

ВЛИЯНИЕ ЗАЩИТНЫХ НУТРИЕНТОВ НА ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДИХЛОРБУТЕНОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

О. А. АНТОНЯН

Ереванский государственный медицинский институт, кафедра гигиены
санитарно-гигиенического факультета

Ключевые слова: дихлорбутеновая интоксикация, защитные нутриенты, липидный обмен.

В настоящей работе приведены результаты выяснения возможности повышения некоторых параметров липидного обмена применением нутриентов, обладающих антиоксидантным и липотропным действием и тем самым усиливающих благотворное влияние высокобелкового рациона на липидный обмен.

С этой целью были испытаны витамин Е, природный антиоксидант, серусодержащие аминокислоты — цистеин и метионин (последний обладает также и липотропным действием), глутаминовая кислота, широко применяемая в профилактике и лечении профзаболеваний как дезинтоксикационное средство, и облепиховое масло — природный источник биологически активных веществ.

Материал и методика. Исследования проводили на 32 белых крысах-самках с исходной массой 140 г, которых ежедневно на протяжении 5 месяцев перорально вводили 200 мг/кг масляного раствора 3,1-дихлорбутена I. Первую контрольную группу животных составили 8 intactных крыс. По истечении 3,5 месяца от начала затравки животные III, IV и V группы были переведены на рацион с увеличенным до 25% (по калорийности) содержанием белка за счет добавления казеина и яичного белка, при 26% жира и 49% углеводов, крыс I и II группы продолжали содержать на стандартном рационе виварума, в котором соотношение основных компонентов соответственно составляло 18, 26 и 56%.

Животных всех групп, за исключением intactной, подвергали затравке до конца эксперимента. На протяжении всего пятого месяца затравки IV группа животных ежедневно перорально за полчаса до кормления получала по 25 мг/кг глутаминозон кислоты и метионина в виде 0,5%-ного водного раствора и внутривенно 1 мг/кг витамина Е в виде 20 мг% водной эмульсии токоферилacetата, а пятая группа — перо-

Показатели липидного обмена на фоне применения защитных нутриентов при хронической дихлорвугтеиновой интоксикации

Показатели группы	СП	Общие липиды		Фосфолипиды, мг% Р		НЭЖК	
		печень, мг/г	кровь, мг %	печень	кровь	печень, мкэв/г	кровь, мкэв/мл
Контроль	$M \pm m$ n	47.6 $\pm$ 2.8 8	374 $\pm$ 18.6 8	73.9 $\pm$ 3.8 8	1.6 $\pm$ 0.26 8	18.4 $\pm$ 0.95 8	0.91 $\pm$ 0.03 8
Затравка + стандартный рацион	$M \pm m$ p ₁ n	63.8 $\pm$ 3.37 < 0.01 8	543 $\pm$ 23.3 < 0.001 8	86.2 $\pm$ 5.2 > 0.05 8	5.1 $\pm$ 0.31 > 0.05 8	26.7 $\pm$ 1.45 < 0.001 8	1.27 $\pm$ 0.05 0.01 7
Затравка + высокобелковый рацион	$M \pm m$ p ₁ p ₂ n	57.5 $\pm$ 2.9 < 0.05 > 0.05 8	456 $\pm$ 28.7 < 0.05 < 0.05 8	89.7 $\pm$ 4.2 < 0.02 > 0.05 8	6.2 $\pm$ 0.36 < 0.01 < 0.05 8	22.5 $\pm$ 1.25 0.02 < 0.05 8	1.13 $\pm$ 0.035 < 0.001 < 0.01 8
Затравка + высокобелковый рацион + ант. Е + глутаминовая кислота + метионин	$M \pm m$ p ₁ p ₂ p ₃ n	48.2 $\pm$ 2.45 > 0.05 < 0.01 < 0.05 8	365 $\pm$ 21.7 > 0.05 < 0.001 < 0.05 8	102.0 $\pm$ 5.0 < 0.001 < 0.05 > 0.05 8	7.5 $\pm$ 0.4 < 0.001 < 0.001 < 0.05 8	17.7 $\pm$ 1.25 > 0.05 < 0.001 < 0.02 7	0.94 $\pm$ 0.046 > 0.05 < 0.001 < 0.01 8
Затравка + высокобелковый рацион + шкстени + облепиховое масло	$M \pm m$ p ₁ p ₂ p ₃ n	51.2 $\pm$ 2.47 > 0.05 < 0.01 > 0.05 8	387 $\pm$ 17.9 > 0.05 < 0.001 > 0.05 8	94.0 $\pm$ 5.5 < 0.01 > 0.05 > 0.05 8	6.8 $\pm$ 0.42 < 0.001 < 0.01 > 0.05 8	19.8 $\pm$ 1.29 > 0.05 < 0.01 > 0.05 8	1.02 $\pm$ 0.053 > 0.05 < 0.01 > 0.05 8

p₁—по сравнению с контролем, p₂—со стандартным рационом, p₃—с высокобелковым рационом.

раально 2,5 мг/кг облепихового масла и 25 мг/кг инстинна в виде 0,5%-ного водного раствора.

По окончании эксперимента животных обезглавливали под эфирным наркозом, в изолированной печени и крови определяли содержание общих липидов [1], общих фосфолипидов по липидному фосфору [3] и неэстерифицированных жирных кислот (НЭЖК) [2].

Результаты и обсуждение. Изучение интегральных показателей липидного обмена показало, что при хронической дихлорбутеновой интоксикации высокобелковый рацион по сравнению со стандартным способствует определенному снижению содержания общих липидов и НЭЖК и повышению содержания фосфолипидов в крови и печени (таблица).

Дополнительное на фоне высокобелкового рациона сочетанное поступление витамина Е, глутаминовой кислоты и метионина способствует усилению положительного действия высокобелкового рациона, что проявляется в достоверном снижении содержания общих липидов и НЭЖК в печени на 16,2 и 21,4%, в крови—на 19 и 17% и повышении содержания фосфолипидов в печени и крови—на 13,7 и 21% соответственно.

Дополнительное поступление на фоне высокобелкового рациона инстинна и облепихового масла не только оказывает более благотворное действие по сравнению с высокобелковым рационом, но и приводит к превышению контрольных показателей.

Обобщая изложенный материал, можно прийти к заключению, что при хронической дихлорбутеновой интоксикации дополнительное введение целенаправленно подобранных обоих нутриентов на фоне высокобелкового рациона оказывает выраженное защитное действие, проявляющееся в нивелировании изученных показателей липидного обмена: это позволяет рекомендовать сочетанное применение указанных нутриентов в лечебно-профилактических целях.

Полученные результаты обобщены в методических рекомендациях по лечебно-профилактическому питанию лиц, подвергающихся профессиональному воздействию 3,4-дихлорбутена-1.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bragdon J. J. Biol. Chem., 190, 2, 513, 1951.
2. Dole V. J. Clin. Invest., 35, 2, 130, 1956.
3. Svanborg A., Svennerholm A. Acta Med. Scand., 169, 1, 43, 1961.

Поступило 28.V 1986 г.

РЕГУЛЯЦИЯ ДЕЗАМИНИРОВАНИЯ ОТДЕЛЬНЫХ L-АМИНОКИСЛОТ В СРЕЗАХ И МИТОХОНДРИЯХ КОРКОВОГО СЛОЯ ПОЧЕК

М. С. ЗАКАРЯН, Ж. С. ГЕВОРКЯН

Институт биохимии АН Армянской ССР, лаборатории патобиохимии, Ереван

Ключевые слова: дезаминирование аминокислот, сывороточный ингибитор, АТФ

Ранее нами было показано, что среди всех тканей организма дезаминирование ряда L-аминокислот (глутаминовой, аспарагиновой, орнитина, лизина и др.) с наиболее высокой интенсивностью протекает только в срезах коркового слоя почек. Эти процессы в условиях *in vitro* в среде Кребе-Рингер-бикарбонатного буфера намного интенсивнее, чем в условиях *in vivo*, что обусловлено наличием в сыворотке крови низкомолекулярного вещества белковой природы, подавляющего процессы дезаминирования аминокислот [1].

В настоящем сообщении приводятся результаты сравнительного изучения интенсивности дезаминирования некоторых L-аминокислот (глутаминовой, аспарагиновой, орнитина) в срезах и митохондриях коркового слоя почек белых крыс. В связи с этим возникла необходимость исследования некоторых сторон регуляции этих процессов. Изучалось влияние частично очищенного сывороточного ингибитора, цитоплазматической фракции клеток коркового слоя почек и АТФ (после выделения митохондрий) на образование аммиака из L-глутаминовой, L-аспарагиновой кислот и L-орнитина в митохондриях клеток коркового слоя почек контрольных и больных (экспериментальный нефрит) крыс.

Материал и методика. Исследования проводили на белых крысах. Митохондрии клеток коркового слоя почек выделяли путем дифференциального центрифугирования гомогената (1:10) коркового слоя почек, приготовленного из 0,25 М растворе сахаразы по методу Шнейдера [1]. Брали такое количество митохондрий, которое соответствовало 750 мг сырой почечной ткани. Инкубационную среду (3 мл) готовили по [3]. Инкубацию проводили в атмосфере кислорода (95%) и углекислого газа (5%) при 37° в течение 60 мин. После осаждения белков ГХУ (21,5%—0,5 мл) в изотонической жидкости определяли содержание аммиака микродиффузионным методом Конве. Экспериментальный нефрит вызывали путем подкожного введения маслянистой кислоты (300 мг/кг). В опыт брали животных с выраженными признаками болезни (снижение фильтрующей способности почек, повышение содержания мочевины в крови и белка в моче—табл. 1). Аминокислоты добавляли по 16 мкмоль, АТФ—по 4 мкмоль на пробу.

Результаты и обсуждение. Результаты исследований, приведенные в табл. 2, показывают, что в митохондриальной фракции клеток дезаминирование аминокислот протекает слабее, чем в срезах коркового слоя почек. При добавлении сывороточного ингибитора отмечается подавление этого процесса. Подобное влияние наблюдается и в присутствии цитоплазмы, причем оно более выражено в отношении аспарагиновой кислоты и орнитина. Добавление АТФ к митохондриям почек

Таблица 1. Некоторые показатели функциональной деятельности почек при экспериментальном нефрите

Показатели	Контрольные крысы	Больные крысы
Фильтрация, мл/мин	2.2	1.3
Диурез, мл за 24 ч	4.5	8.2
Содержание мочевины в крови, мг %	36	90
Содержание белка в моче, ‰	следы	0.3

Таблица 2. Влияние некоторых факторов на образование аммиака из L-аминокислот в срезах и митохондриях коркового слоя почек. (Средние данные 6-ти опытов)

Условия опыта	Глутамино- вая кислота	Аспарагино- вая кислота	Орнитин
Контрольные крысы			
Митохондриальная фракция	0.75±0.07	0.42±0.05	0.38±0.05
Цитоплазма	0	0	0
Митохондриальная фракция + цитоплазма	0.15±0.05	0	0
Митохондриальная фракция + сывороточный ингибитор	0.2±0.03	0.07±0.01	0.15±0.02
Срезы почек	5.8±0.6	10.2±1.1	11.8±1.4
Срезы почек + АТР	6.2±0.8	9.8±1.0	12.2±0.9
Экспериментальный нефрит			
Митохондриальная фракция	0.3±0.04	0.04±0.01	0.04±0.01
Митохондриальная фракция + АТР	0.3±0.03	0.35±0.01	0
Срезы почек	2.4±0.4	5.2±0.4	7.2±0.7
Срезы почек + АТР	4.8±0.5	8.5±0.8	10.7±0.9

больных животных не вызывает каких-либо изменений в интенсивности процессов дезаминирования аминокислот.

Как показывают приведенные данные, сывороточный ингибитор оказывает подавляющее действие на дезаминирование указанных аминокислот в митохондриях, как это имело место в срезах почек, где диапазон тормозящего действия значительно шире [1]. Подобное действие оказывает также цитоплазматическая фракция, что, по-видимому, связано с присутствием в ней сывороточного ингибитора. Эффект сывороточного ингибитора обусловлен его действием на митохондриальные процессы.

Из этой же таблицы видно, что АТР не оказывает влияния на скорость дезаминирования аминокислот в срезах почек здоровых крыс, но стимулирует этот процесс в срезах почек больных животных. Однако стимулирующего действия АТР в митохондриях почек больных животных не наблюдается. Надо полагать, что эффект, наблюдаемый при добавлении АТР, обусловлен целостностью клеток. Вообще нарушение интеграции клетки (гомогенизация) приводит к резкому снижению показателей биохимических реакций, что, по-видимому, наряду с контактированием ферментов с соответствующими ингибиторами и снижением уровня АТР в почечной ткани, связано также с существенным изменением мембрано-митохондриальных взаимоотношений, выяснение которых представляет большой интерес.

Интересно отметить, что в митохондриях сравнительно больше амина образуется из глутаминовой кислоты, чем из аспарагиновой и орнитина. С другой стороны, ингибирующее влияние сывороточного фактора на процессы дезаминирования в срезах почек больше выражено в отношении глутаминовой кислоты, а в митохондриях — аспарагиновой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бунятыан Г. Х., Геворкян Ж. С., Оганесян А. С. ДАН СССР, 246, 6, 1493—1496, 1977.
2. Геворкян Ж. С., Оганесян А. С., Фаталов Н. Р. Биолог. ж. Армении, 35, 8, 626—630, 1982.
3. Hird F. J. R., Marglinson R. Arch. Biochem. Biophys., 115, 247—256, 1966.
4. Schnelder W. C., Hogeboom G. H. J. Biol. Chem., 183, 1, 123—128, 1950.

Поступило 29.V 1986 г

Биолог. ж. Армении, т. 40, № 7, 598—600, 1987

УДК 572.77

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДЕТЕРМИНАЦИЯ ИЗМЕНЧИВОСТИ ФАКТОРОВ ТЕЛОСЛОЖЕНИЯ В ПЕРИПУБЕРТАТНОЙ СТАДИИ ОНТОГЕНЕЗА ДЕВОЧЕК

Л. М. ЕПИСКОПОСЯН, Г. Р. АМБАРЦУМЯН, С. Б. АКОПЯН

Ереванский государственный медицинский институт, кафедра гигиены
санитарно-гигиенического факультета

Ключевые слова: факторы телосложения, генетическая детерминация, перипубертатная стадия.

Ранее [3] с применением определенной последовательности многомерных статистических методов была получена схема возрастной периодизации перипубертатной стадии онтогенеза девочек: 7—9, 10—11, 12—13, 14—17 лет. В качестве характеристик развития использованы интегральные показатели телосложения, выделенные при факторном анализе 26 антропометрических признаков в совокупной выборке детей 7—17 лет общей численностью 1100 человек. Выявлено три фактора соматического развития с охватом около 80% дисперсии исходного набора показателей. Выделенные интегральные показатели получили следующую содержательную интерпретацию: первый фактор — компонента общего размера; второй — характеризует совместное варьирование признаков по оси макросомия, макрокефалия — микросомия, микрокефалия; третий — отражает дисперсию, связанную с изменением формы мозгового отдела черепа, вытягивающегося в длину с возрастом.

Цель настоящего исследования заключалась в определении степени наследственной обусловленности изменчивости факторов соматического развития в выявленных возрастных периодах, выделении промежутков с минимальным или максимальным значением показателя генетической детерминации вариабельности анализируемых характеристик развития.

Объектом наблюдений явились монозиготные (МЗ) и дизиготные (ДЗ) близнецы 7—17 лет, учащиеся средних школ г. Еревана. Цифровой материал собран измерением по стандартной методике 26 антропометрических признаков, описывающих основные длиннотные, широтные и обхватные размеры головы, туловища и конечностей. Общее количество обследованных близнецов составило 277 пар (138 МЗ и 139 ДЗ). Диагностика зиготности проведена на основе фенотипирования по двум системам эритроцитарных изоантигенов (ABO и Rh), портретного сходства и использования линейных дискриминантных функций при дискриминантном и последовательном анализе формализованных данных анкетирования. Последний метод [4] позволяет идентифицировать близнецов на монозиготные и дизиготные с ошибкой классификации до 4—6%. Для каждого объекта вычислены индивидуальные значения факторов соматического развития в соответствии с процедурой, использованной ранее [2].

Степень генетической детерминации фенотипической дисперсии интегральных характеристик телосложения определена с помощью показателя Хольцингера.

$$H = \frac{r_{МЗ} - r_{ДЗ}}{1 - r_{ДЗ}},$$

где $r_{ДЗ}$ и $r_{МЗ}$ —соответственно коэффициенты внутрикласовой (внутрипарной) корреляции между монозиготными и дизиготными близнецами, вычисленные по схеме однофакторного дисперсионного комплекса [1].

В таблице приведены значения коэффициентов корреляции и показателей Хольцингера для факторов соматического развития в выделенных возрастных периодах. Все величины $r_{МЗ}$ и $r_{ДЗ}$ значимо отличаются от нуля ($P < 0,05$); кроме того, во всех группах и для всех факторов коэффициенты корреляции между монозиготными близнецами достоверно превышают таковые между дизиготными ($P < 0,05$).

Коэффициенты внутрипарной корреляции и показатели Хольцингера для факторов телосложения в различных возрастных периодах девочек 7—17 лет

Возрастные периоды	Фактор 1			Фактор 2			Фактор 3		
	$r_{МЗ}$	$r_{ДЗ}$	H	$r_{МЗ}$	$r_{ДЗ}$	H	$r_{МЗ}$	$r_{ДЗ}$	H
7—9	0.909	0.605	0.77	0.854	0.548	0.64	0.867	0.472	0.75
10—11	0.940	0.554	0.86	0.954	0.543	0.90	0.886	0.516	0.76
12—13	0.895	0.719	0.63	0.880	0.671	0.63	0.903	0.642	0.73
14—17	0.903	0.571	0.77	0.864	0.398	0.77	0.939	0.635	0.83

Выявлена определенная возрастная динамика показателей генетической детерминации, в целом сходная для всех трех интегральных характеристик телосложения; более выражены изменения—при переходе из одного возрастного периода в другой—величин показателя Хольцингера первых двух факторов.

Минимальная степень генетической детерминации изменчивости интегральных показателей соматического развития обнаружена в возрастном периоде 12—13 лет, или во второй фазе пубертаса. В пределах пубертатного этапа по всем трем факторам отмечается уменьшение (весьма заметно для первых двух факторов) показателя Хольцингера от 10—11 к 12—13 годам. Данная закономерность обнаружена и для отдельных признаков (длина тела, вес тела, ряд показателей полового созревания) при исследовании близнецов Москвы и Винницы [5].

Полученные результаты показали, что фенотипическая дисперсия факторов телосложения в различных возрастных периодах перипубертатной стадии онтогенеза девочек в основном обусловлена генетической компонентой; выраженная возрастная динамика показателя генетической детерминации интегральных характеристик соматического развития является свидетельством того, что прерывистый характер изменений морфологического статуса девочек по антропометрическим признакам имеет высокую степень наследственной обусловленности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гиндилис В. М., Финогенова С. А., Животовский Л. В. *В кн.: Проблемы генетической психофизиологии человека*. 196—221, М., 1978.
2. Епископосян Л. М. *Биол. ж. Армении*, 39, 1. 82—85, 1986.
3. Епископосян Л. М., Ордукхоян А. А. *Биологические науки*, 3. 60—64, 1987.
4. Лунга Н. Н., Трубиников В. И., Сергеев А. С. *Генетика*, 18, 11. 1891—1898, 1982.
5. Никитюк Б. А. *Факторы роста и морфофункционального созревания организма*. М., 1978.

Поступило 24.X 1985 г.

Биол. ж. Армении, т. 40, № 7. 600—602, 1987

УДК 615.575.24/25

МУТАГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА РАСТЕНИЙ В СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Г. И. КОНОБЕЕВА

ВНИИ гигиены и токсикологии пестицидов, полимеров и пластических масс (филиал), г. Ереван

Ключевые слова: регуляторы роста растений, соматические клетки млекопитающих, цитогенетическая активность, хромосомные aberrации.

Известно, что большинство используемых средств защиты растений, стимуляторов роста растений и пестицидов обладает определенной мутагенной активностью [2]. Поэтому своевременное исследование мутагенной активности этих веществ для целей гигиенического нормирования их в окружающей среде [1] является актуальной задачей.

В настоящем сообщении приводятся результаты изучения мутагенной активности регуляторов роста растений — ГМК натрия, ДЯК (алара), гидрела, дигидрела и кампозана — в соматических клетках млекопитающих.

Материал и методика. Исследования проведены на белых беспородных крысах. Препараты костного мозга крыс готовили по общепринятому методу [3]. Вещества вводили однократно, внутривентрикулярно, в дозах, соответствующих 1/2 и 1/5 от ЛД₅₀ установленных в токсикологических экспериментах. При обнаружении цитогенетического эффекта дозы снижались на порядок ниже, до недействующей. Aberrации учитывали на стадии метафазы на кастованных препаратах, окрашенных азур-эозинном. Каждую группу составляли 6—8 крыс. Всего использовали 56 животных. От каждого животного подсчитывали по 100 метафазных пластинок. Контролем служили клетки от интактных животных.

Результаты и обсуждение. Регуляторы роста растений гидрел, дигидрел и кампозан, синтезированные на основе 2-хлорэтилфосфоновой кислоты, не обладали цитогенетической активностью в костном мозге крыс, подвергшихся однократному воздействию этих веществ в указанных выше дозах (таблица).

Частота aberrаций хромосом в клетках костного мозга крыс при действии регуляторов роста растений

Вещество	Доза, мг/кг	Аберрации на 100 клеток		
		частота метафаз с аберрациями	одиночные фрагменты	парные фрагменты
Гидрел	409	0.83 ± 0.36	0.83	—
	40.9	0.83 ± 0.36	0.83	—
Дигидрел	702	0.67 ± 0.33	0.67	—
	70.2	0.67 ± 0.33	0.67	—
Кампозан	667	0.67 ± 0.33	0.67	—
	66.7	0.67 ± 0.33	0.67	—
Контроль	—	0.50 ± 0.27	0.50	—
ГМК—натрий (№ 1)	3000	4.87 ± 0.75	4.00	0.87
	500	6.00 ± 0.98	5.33	0.66
	2.5	2.80 ± 0.68	2.66	0.16
	0.75	1.00 ± 0.40	1.00	—
ГМК—натрий (№ 2)	500	0.83 ± 0.36	0.83	—
Контроль	—	1.00 ± 0.40	1.00	—
ДЯК	1000	5.33 ± 0.92	5.33	—
	200	2.66 ± 0.92	2.50	0.16
	20	1.33 ± 0.42	1.33	—
Контроль	—	0.83 ± 0.36	0.83	—

Иная картина выявлена при введении гидразинсодержащих веществ—ДЯК и ГМК-натрия. ДЯК вызывал статистически достоверное увеличение частоты хромосомных aberrаций в костном мозге крыс по сравнению с контролем. Для этого регулятора роста недействующей оказалась доза 20 мг/кг.

Нами изучалась цитогенетическая активность двух разных партий ГМК-натрия—из НИС Московской сельскохозяйственной академии им. Тимирязева и Волжского завода органического синтеза им. 60-летия СССР,—отличающихся друг от друга по способности индуцировать хромосомные aberrации в соматических клетках животных. Первая партия ГМК-натрия, очевидно, содержала примеси гидразида малеиновой кислоты, что и явилось причиной повышения частоты хромосомных aberrаций, по сравнению с контролем, при всех изученных дозах. При этом даже минимальная доза его, 0,75 мг/кг, оказалась действующей. Это согласуется с литературными данными о мутагенной активности гидразида малеиновой кислоты на различных тест-системах [4—7]. ГМК-натрия из второй партии (хорошо очищенной от примесей) не вызывала цитогенетического эффекта в костном мозге крыс при введении ее в дозе 500 мг/кг.

Таким образом, производные 2-хлорэтилфосфоновой кислоты не обладают мутагенной активностью в соматических клетках млекопитающих. Гидразинсодержащие вещества способны индуцировать хромосомные aberrации в клетках костного мозга крыс.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бочков Н. П., Шрам Р., Кудашов Н. П., Журков В. С. Генетика, 11, 156, 1975.
2. Шицкова А. П., Рязанова Р. А., Гадалина Н. Д. Гиг. и сан., 3, 22, 1983
3. Ford C., Wollam D. Exp. Cell Res., 2, 32, 1963.
4. Grant W. Mutat. Res., 4, 21, 1973.
5. Manna G., Parida A. Cytologia, 2, 37, 1972.
6. McCarthy, Epstein S. Life Sci., 2, 7, 1968.
7. Nasrai G. Nature, 4995, 201, 1965.

Поступило 23.V 1986 г.

ИЗОЭНЗИМНЫЙ СПЕКТР АРГИНАЗЫ В ПРОЦЕССЕ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ

А. С. МОВСЕСЯН, Т. Г. АРУТЮНЯН, М. А. ДАВТЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии

Исследование изоэнзимного спектра аргиназы в различные периоды регенерации печени после частичной гепатэктомии представляет определенный интерес как с точки зрения выяснения биохимизма регенерации, так и внесения ясности в вопрос о метаболической роли различных изоэнзимов аргиназы.

Наши исследования, проведенные на крысах, показали, что аргиназная активность гомогената и надосадка гомогената печени частично гепатэктомированных животных подвергается определенным изменениям, наиболее ощутимым в течение первых 12—18 ч после хирургического вмешательства. В эти сроки в гомогенате регенерирующей печени происходит резкий спад аргиназной активности и возвращение ее к исходному уровню через 4 ч после гепатэктомии.

В последующие часы в течение суток наблюдается постепенное повышение активности фермента.

В супернатанте печени гепатэктомированных животных, как и в гомогенате, в течение первых 4 часов сохраняется тенденция к снижению активности. Начиная с 4 часа активность фермента значительно возрастает, затем после резкого падения к 12 часу устанавливается уровень, близкий к исходному.

В отдаленные сроки после гепатэктомии аргиназная активность (в гомогенате и его надосадке) проявляет тенденцию к падению, а начиная с 14 дня постепенно повышается, приближаясь к контролю.

В другой серии экспериментов изучали изоэнзимный спектр аргиназы в печени в различные сроки после гепатэктомии.

Методом ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе в экстрактах печени крыс обнаружены два изоэнзима аргиназы. Активность первого изоэнзима в 2,5 раза выше таковой второго.

В процессе регенерации печени происходят определенные сдвиги в изоэнзимном спектре аргиназы. Интересно, что снижение аргиназной активности в гомогенате в первые часы после гепатэктомии обусловлено изменениями активности первого изоэнзима. Очевидно, последний является уреотелическим ферментом, так как изменение его активности

коррелирует с изменением активностей остальных ферментов орнитинового цикла печени.

Представляет большой интерес проявление через 12 ч после гепатэктомии третьего изоэнзима, который отсутствует в печени контрольных животных. Очевидно, обнаруженный новый изоэнзим (III) является неуреотелическим и его функции полностью связаны с процессами регенерации.

11 с., ил., библиогр. 14 назв.

Полный текст статьи деп. в ВИНТИ, № 3124-B87 от 4.V 1987 г.

Поступило 21.X 1986 г.

Биолог. ж. Армении, т. 40, № 7, 604, 1987

УДК 615.575.24/25

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА РАСТЕНИЙ В КУЛЬТУРЕ ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

Г. И. КОНОБЕЕВА, Р. М. АРУТЮНЯН, Г. Г. ЗАЛНЯН

Филиал ВНИИГИНТОКС, Ереван, Ереванский государственный университет

Изучалась цитогенетическая активность регуляторов роста растений ГМК-натрия (натриевая соль гидразидмалеиновой кислоты), ДЯК, или алара (диметилгидразид янтарной кислоты), кампозана (2-хлорэтилфосфоновая кислота), гидрела (2-хлорэтилфосфоновокислый гидразиний) и дигидрела (2-хлорэтилфосфоновокислый диметилгидразиний) в культуре периферической крови человека *in vitro*.

Установлено, что регуляторы роста растений, синтезированные на основе 2-хлорэтилфосфоновой кислоты, не вызывали достоверного увеличения аббераций хромосом во всех изучаемых концентрациях.

Регуляторы роста растений—ГМК-натрия двух разных партий (I и II) и ДЯК (алар)—вызывали достоверное увеличение уровня хромосомных аббераций. При этом наибольшее их число индуцировала ГМК-натрия первой партии, очевидно, содержащей примеси гидразида малеиновой кислоты.

Различия в мутагенной активности двух групп исследуемых соединений, по-видимому, можно объяснить разной химической структурой исследуемых веществ.

7 с., библиогр. 4 назв.

Полный текст статьи деп. в ВИНТИ, № 3126-B87 от 4.V 1987 г.

Поступило 3.VI 1986 г.

К ПАЛИНОМОРФОЛОГИИ РОДОВ
SENECIO L. и *LIGULARIA* CASS.

А. К. МЕХАКЯН

Институт ботаники АН Армянской ССР, Ереван

В работе приводятся результаты исследования пыльцы ряда ранее неизученных видов родов *Senecio* L. и *Ligularia* Cass., дополняющие и уточняющие палиноморфологическую характеристику указанных родов.

Изучена пыльца 18 видов рода *Senecio* из 11 секций и 11 видов рода *Ligularia* из 4 секций, произрастающих на территории Советского Союза. Пыльца видов изученных родов относится к одному морфологическому типу, полное описание которого приводим ниже.

Тип *SENECIO*. Пыльцевые зерна 3-бороздно-порово-оровые, широко-эллипсоидальные или сплюсненно-сферондальные, в очертании с полюса округлые или слегка 3-лопастно-округлые, полярная ось 22,5—36,0 (18,0) мкм, экваториальный диаметр 20,0—38,5 (19,0) мкм. Борозды четко (*S. rhombifolius* Adam.) Sch. Bip., *S. rivularia* (Waldst et. Kit. DC) или нечетко (у остальных видов) инфракольчатые, мембрана инфракольны крупнозернистая или бугорчатая, борозды длинные, с неочерченными краями, остро-или тупоконечные, диаметр апокольпума 7,5—10,0 мкм, ширина мезокольпума 20,0—26,0 мкм. Поры округлые, хорошо выраженные, оры экваториально вытянутые, от очень длинных (*S. cannabinifolius*, *S. aurantiacus* (Hoppe et Willd.), *S. kolenatianus* C. A. Mey) до едва заметных (*S. carpaticus* Herb.), скульптура шиловатая, шипы длинные (4,2 мкм) или короткие (1,0 мкм), остро-или тупоконечные, к основанию расширенные; текстура мелко-, мелкозернистая: экзина 1,5—2,4 (1,2) мкм, покровная, эктэкзина толще эндэкзины, разделены полостью, стерженьковый слой двурядный, верхний из прямых, длинных стерженьков, нижний слабо выражен.

Выявлено, что по таким основным признакам, как тип апертуры и скульптура экзины, пыльцевые зерна родов *Senecio* и *Ligularia* сходны. Внутри этих родов установлено также варьирование общей формы, размеров пыльцы, длины шипов, толщины слоев экзины.

Таким образом, сходство морфологических признаков пыльцевых зерен обоих родов говорит в пользу таксономической близости их.

11 с., библиогр. 10 назв.

Полный текст статьи деп. в ВИНИТИ, № 3127-B87 от IV 1987 г.

Поступило 24.X 1986 г.

ПРОРАСТАНИЕ ПЫЛЬЦЫ ТОМАТА ПРИ ДЕЙСТВИИ ГИББЕРЕЛЛОВОЙ КИСЛОТЫ

С. Г. ЕРВАНДЯН, Н. П. БЕГЛАРЯН, Э. Г. САРКИСЯН

Ереванский государственный университет, кафедра генетики и цитологии и
проблемная лаборатория цитогенетики

Проведено сравнительное исследование фертильности и жизнеспособности пыльцы томата на искусственных средах (15—20%-ный растворы сахарозы с добавлением 1 г агар-агара) в двух сериях опыта (с лимонной кислотой и без нее). Использовали зрелую пыльцу растений двух сортов (Юбилейный 261 и Звартноц 412), выращенных из семян, обработанных 0,02%-ным раствором гибберелловой кислоты (ГК) в M_1 и M_2 . О жизнеспособности судили по проценту проросших пыльцевых зерен от их общего числа в варианте. Длину пыльцевых трубок измеряли в мкм. Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии коррелятивной зависимости между прорастанием пыльцы на питательной среде и окрашиваемостью ее ацетокармином. Во всех вариантах опытов при достаточно высокой фертильности пыльцы прорастаемость ее сильно варьировала и составляла сравнительно низкий процент. Интенсивность роста пыльцевых трубок не отличалась от соответствующего показателя в контроле, а добавление лимонной кислоты способствовало более интенсивному росту пыльцевых трубок во всех вариантах. Анализ полученных данных показывает, что с жизнеспособностью пыльцы больше связаны ее прорастаемость и длина пыльцевых трубок, чем фертильность. Исходя из этого, указанные показатели могут составить следующий ряд в соответствии с их значимостью: процент прорастания пыльцы, дальнейший рост пыльцевых трубок (длина) и фертильность пыльцы. При этом процент прорастания и длина пыльцевых трубок в обработанных ГК вариантах находились на уровне контроля как в M_1 , так и в M_2 .

7 с., табл. 1, ил., библиогр. 9 назв.

Полный текст статьи деп. в ВНИИТН, № 3119-B87 от 4. V 1987 г.

Поступило 28.I 1987 г.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАСТЕНИЙ ПОМИДОРА И ПЕРЦА В УСЛОВИЯХ ОТКРЫТОЙ ГИДРОПОНИКИ

Дж. С. АЛЕКСАНИЯ

Институт агрохимических проблем и гидропоники
АН Армянской ССР, г. Ереван

Установлено, что наблюдаемые в зависимости от концентрации и осмотического давления питательного раствора физиологические сдвиги сказываются на росте и развитии отдельных органов растений помидора и перца и их урожайности.

Наилучшие показатели развития растений и урожая помидора и перца (17,8 и 7,7 кг/м² соответственно) достигались при концентрации питательного раствора (раствор Г. С. Давтяна) 13,3 ммоль/л и осмотическом давлении 109—116 кПа. Плоды исследуемых культур отличались более высоким содержанием сахаров, витамина С, сухого вещества и соотношением сахаров и органических кислот. Увеличение концентрации питательного раствора в два раза (26,9 ммоль/л) приводило к замедлению темпов развития растений и снижению урожая (7,8 и 5,9 кг/м²), а при концентрации 54,2 ммоль/л наблюдалось резкое снижение урожая (до 3,3 и 3,2 кг/м² соответственно).

8 с., библиогр. 14 назв.

Полный текст статьи деп. в ВНИИТИ, № 3120-1987 от 4.V 1987 г

Поступило 10.VI 1986 г.

Биолог. ж. Армении, т. 10, № 7, 607, 1987

УДК 581.192

ВИТАМИНЫ ГРУППЫ В В ПЛОДАХ ПЕРЦА И ТОМАТА

А. Г. АВАКЯН, Л. А. ГЕВОРКЯН, С. В. АВЕТИСЯН, Е. О. ГАРОСОВА

Республиканская селекционно-семеноводческая станция овощных и бахчевых культур Госагропрома Армянской ССР, пос. Даракерт. Институт виноградарства, виноделия и плодоводства Госагропрома Армянской ССР, Ереван

Изучали состав и содержание витаминов группы В в плодах томата и перца в зависимости от эндогенных и экзогенных факторов.

Установлено, что в плодах преобладают пантотеновая и никотиновая кислоты. Накопление тиамина, пиридоксина и никотиновой кислоты в плодах перца характерно для биологической стадии зрелости, а пантотеновой кислоты — для технической. Содержание пиридоксина и никотиновой кислоты повышалось по мере созревания плодов.

Применение минеральных удобрений в дозе $N_{280}P_{280}K_{160}$ способствует увеличению в плодах томата количества тиамина, пиридоксина и никотиновой кислоты по сравнению с контролем и другими вариантами опыта.

На стадии биологической зрелости плодов между содержанием основных компонентов и витаминами — тиаминном, пиридоксинном и никотиновой кислотой — существует прямая корреляция, что может служить критерием биологической ценности плодов.

Биосинтез и накопление витаминов в плодах в основном зависят от возделываемой культуры, сортовых особенностей и фазы созревания плодов.

10 с., ил., библиогр. 6 назв.

Полный текст статьи деп. в ВНИИТИ, № 3121-1987 от 4.V 1987 г.

Поступило 18.VI 1986 г.

