

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ
ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ
Հ Ա Ն Դ Ե Ս

БИОЛОГИЧЕСКИЙ
Ж У Р Н А Л
АРМЕНИИ

Журнал издаётся на армянском и русском языках

Առաջին քեսեբաբախան անձես

Հայաստանի Հանրապետության Գիտությունների ակադեմիայի կողմից և տպագրում է Գիտությունների ակադեմիայի, Գեղարվեստության, Ֆիզիկոմաթեմատիկայի, Գենետիկայի, մանրէաբանության, Կենսաբանության և բույսերի Գիտությունների Կենտրոնը:

Բաժանորդագրվել է ձև. 40 կր. Բաժանորդագրությունը բաղադրում է Ստանդարտիզացիայի և Գիտությունների ակադեմիայի կողմից:

«Биологический журнал Армени» публикует оригинальные статьи по ботанике, зоологии, физиологии, анатомии, биофизике, микробиологии, генетике и другим отраслям естественных и прикладной биологии.

Подписная цена за год 5 руб. 40 коп. Подписку на журнал можно производить во всех отделениях Союзпечати.

Խմբագրական կոլեկտիվ՝ Է. Գ. Աֆրիկյան (գլխավոր խմբագիր), Ս. Մ. Ազատյան, Վ. Կ. Ավետիսյան, Յու. Բ. Ավետիսյան, Է. Գ. Բաղդասարյան, Ս. Կ. Գալստյան, Ժ. Ք. Հակոբյան, Կ. Ս. Հարությունյան (պատասխանատու արտատպում), Խ. Մ. Հարությունյան, Վ. Զ. Գալստյան, Ս. Կ. Զեյնալդյան, Կ. Ք. Զարադուհյան, Ս. Մ. Խաչատրյան (գլխավոր խմբագրի տեղակալ):

Խմբագրական կոլեկտիվ՝ Է. Գ. Աֆրիկյան (խմբագիր), Ս. Մ. Ազատյան, Վ. Կ. Ազատյան, Յու. Բ. Ավետիսյան, Է. Գ. Բաղդասարյան, Ս. Կ. Գալստյան, Ժ. Ք. Հակոբյան, Կ. Ս. Հարությունյան, Վ. Զ. Գալստյան, Ս. Կ. Զեյնալդյան, Կ. Ք. Զարադուհյան, Ս. Մ. Խաչատրյան (գլխավոր խմբագրի տեղակալ):

Редакционный коллектив: Э. К. Африкан (главный редактор), С. М. Аветисян, В. Е. Аветисян, Ж. И. Акопян, Ю. Т. Алексанян, Е. С. Арутюнян (ответственный секретарь), Р. М. Арутюнян, О. Г. Бакалавджян, П. А. Гандилян, М. А. Давтян, В. О. Казарян, К. Г. Карагезян, С. О. Мовсисян (заместитель главного редактора).

Редакционный совет: Э. К. Африкан (председатель), А. С. Аветян, В. Ш. Агабабян, Н. Н. Акрамовский, Э. Ц. Габриелян, А. А. Галоян, Л. С. Гамбарян, А. А. Матевосян, М. Г. Оганесян, Л. Л. Осипян, К. С. Погосян, А. Л. Тахтаджян, Н. А. Хуршудян, М. Х. Чайлахян.

Известный за номер 11. 11. 1988

Тех. редактор 17. А. Азизбекян

Сланы и набор 19.12.1988 г. Подписано к печати 24.02.1989 г. ВФ 03898.
Бумага № 1. Формат 70×108^{1/16}. Выпускаемый лист. Печ. лист. 5.0. Уд. печ. лист. 7.0.
Уч. изд. 5.9. Тираж 680. Заказ 773. Цена 70 коп.

Адрес редакции: 375019, Ереван, пр. Маршала Баграмяна, 24 г. комн. 11, тел. 58-01-97.
Издательство Академии наук Армянской ССР, Ереван,
пр. Маршала Баграмяна, 24 г.
Типография Издательства АН АрмССР, Ереван-19,
пр. Маршала Баграмяна, 24.

Ղազարյան Գ. Ջ., Փանոսյան Գ. Ա., Սպեյա Է., Յաչկովիկա Ա., Տակարսկա Մ., Ժոյներ- յույկ Ռ. Կինեոտիկի և պրոկաինի ազդեցությունը K ⁺ -ի տրանսպորտի և պրոտոպլազ- մայի շարժման վրա <i>Nile lopsis obtusa</i> -ի միջնապուցային բջիջներում	5
Սիմոնյան Ն. Վ., Չանփոլաղյան Ն. Լ., Սանփանյան Լ. Գ., Ազազյան Գ. Մ. Ռենտ- գենյան և յազերաչին նառագայթների կոմպենսացված աղղեցությունը խմորասեղա- յին բջիջների կենսոսնակության վրա	11
Սևաստուրյան Ռ. Ա. Պրինս (11) — այրումին կոմպենսաների վոլյադեցությունը նաորիու- մի թիոցիանատի նկատմամբ	14
Փանոսյան Ռ. Գ., Քարիկյան Մ. Լ. Գանգլիոզիդ GD ₃ -ը որպես էլեկտրոնոդերմի կեն- սառնիթի մոդուլատոր և մարդու բազմաձև կոմպենսացիոն էլեկտրոններում իոնո- ֆոր A-23157-ի ազդեցության ինհիբիտոր	18
Փանոսյան Ռ. Գ., Լեբելա Մ. Ն., Ղևոնդյան Բ. Վ., Պապոյան Ռ. Ա. (A) — 295 և 11E — 2950 ազնվատարածների ազդեցությունը սուլայի ուղղորդիչ ստացված լիպոթաիդեազայի ակտիվության, առնետների կենսապայտություն և ուղղում — 45-ի աճի արդյունքներն վրա	22
Գյուլյանդանյան Ռ. Վ. Անտիօքսիդանտների և էներգետիկ պրոցեսների ինհիբիտորների էֆեկտները ինդուցված K ⁺ -ի և Na ⁺ -ի փոխանակող հոսանքների վրա էրիթրո- ցիտներում	25
Որիսյան Լ. Գ., Սարգսյան Զ. Կ. Երկշերտ լիպիդային թաղանթների կայունացու- մը սեղանային աննստեռնիկներով	32
Պողոսյան Ռ. Յու., Հովսեփյան Լ. Մ., Ղարազուրյան Կ. Գ. Ֆոսֆոլիպիդներ և լիպիդ ների գերօքսիդացման պրոցեսները ուղեղի էքսպերիմենտալ ալյուոցի գեպտոմ- հարուցված տետրաէթիլով	37
Գուրգյան Մ. Ա., Կեռզյան Մ. Լ. Խոշոր Լեյդաբոբ անասունների յարգի արդիականի արդյունավետությունը ամինաթթուներով	41
Ուրգանով Է. Մ. Ռեզերպինանման պոլիստրոպ նյութերը և ներթուրակների որոն- մը ինդուկտիվիզիոնների ածանցյալների շարքում	48
ՀԱՄԱՌՈՒՄ ԶԻՆՈՒՄՈՒՄԻՆԻՐ	
Սահակյան Վ. Ս. Թաղանթում շրթի վիճակի վերաբերյալ	54
Սերբուկ Գ. Գ., Մանուկյան Ռ. Ա., Բաղդյան Ռ. Ա. Էրիթրոցիտալ լիպիդներից պատրաստված ձրկներտ թաղանթների իոնային թափանցելիությունը էլեկտրաստա- տիկ դաշտի ազդեցության նկատմամբ	55
Սերբուկ Գ. Գ., Սղանդյան Ռ. Գ. Էլեկտրաստատիկ դաշտի ազդեցությամբ առնետների յարգի ազատ ուղեկալ ակտիվությունը	58
Մինոսյան Գ. Մ., Հովսեփյան Ռ. Ա. Իոնիզացիոն և առաջադրման ազդեցությունը ստամոքսի և բարակ աղիների հյուսվածքների նառագայթանման ակտիվու- թյան վրա	60
Տեր-Մարկոսյան Ռ. Ս. Պարաթիրոիդ սուբստանցիայի ազդեցությունը գլյուկոգալի ռա- թայման վրա խիռուցի ներթային նախադրում	63
Աղունց Գ. Ջ., Սարգսյան Լ. Վ., Աղունց Գ. Գ. Թիլային միացությունների դերը ին- նային ֆոսֆատազայի ակտիվության կարգավորման գործում	65
Հովհաննեսյան Գ. Գ., Սարգսյան Տ. Գ., Ասկուրբինաթթվի բջջային ներկայան ցությունը մարդու լիմֆոցիտներում	69
Սահակյան Գ. Խ. Սերբուկի գերը առաջադրակների վերաբերյալ և ֆունկցիոնալ կարգավորման գործում	71
ՍեֆերԱՍՏԵՆԻ	
Արևիկյան Վ. Ա., Մելիքյան Վ. Ս. 1-ասպարադինաթթվի ֆերմենտատիվ-միկրոբիո- լոգիական ստացումը 111 Ապարտազայի իմպրոպիդոցիան և ստացված բիոկա- բիոլոգիական բջիջների բնութագրեր	76
Արևիկյան Վ. Ա., Մելիքյան Վ. Ս. 1-ասպարադինաթթվի ֆերմենտատիվ-միկրոբիո- լոգիական ստացումը 111 Ապարտազայի միկրոբյուրոգիկ ալոբոլոցիտների ին- տայիզատորի բնութագրեր	75
Տուր-Քաղապարյան Է. Յ. Շաղի բերքատվության վիճակի նկատմամբ բնական թյան փոխադարձ կապի մասին	77
Տիլիզարյան Վ. Ո. Խաղողի որոշ սորտերի ֆերմենտատիվ-միկրոբիո- լոգիական ստացումը 111 Ապարտազայի միկրոբյուրոգիկ ալոբոլոցիտների ին- տայիզատորի բնութագրեր	78
ԸՄԱՏՈՒ	
Փ. Գ. Սարգսյան	79

СОДЕРЖАНИЕ

Казарян Г. Т., Ниносян Г. А., Снегва Э., Ишкова А., Токарева М., Жданерчук Р. Влияние кинетина и прокина на транспорт К ⁺ и движение протоплазмы в интернодальных клетках <i>Nitellopsis obtusa</i>	5
Симолян Н. В., Ташкподян Н. Л., Степанян Л. Г., Авакян Г. М. Влияние комбинированного действия рентгеновского и лазерного излучений на жизнеспособность клеток дрожжей	11
Асатурян Р. А. Взаимодействие комплексов меди (II) — альбумин с тиродинам гомонистрия	14
Паносян А. Г., Барикян М. Л. Гепатоцит GD ₃ -модулятор биосинтеза эйкозаноидов и ингибитор действия ионифора А-23187 в полиморфноядерных лейкоцитах человека	18
Паносян А. Г., Лебедева М. Н., Геворкян К. В., Паносян С. А. Влияние антимутатогенна ОА-5965 и ПЕ-2390 на активность липоксигеназы соевых бобов, радиочувствительность крыс и торможение роста саркомы-45	22
Гюльхандинян А. В. Эффекты антиоксидантов и ингибиторов энергетических процессов на индуцированные обменные потоки К ⁺ и Н ⁺ в эритроцитах	25
Микхелян Л. Г., Карапетян А. К. Стабилизация бислойных липидных мембран местными анестетиками	32
Погосян А. Ю., Овсепян Л. М., Карагезян К. Г. Фосфолипиды и процесс перекисного окисления липидов при экспериментальном отеке мозга, вызванном тетраэтил-ловом	37
Давтян М. А., Геворкян М. Л. Ингибирование аргиназы печени крупного рогатого скота некоторыми аминокислотами	41
Арачунц Э. М. Резерпиноподобные психотропные средства и поиск нейролептиков среди производных пидолохинолизидина	48
КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ	
Аракелян В. Б. О состоянии воды в мембране	54
Арицруни Г. Г., Манукян Р. А., Багджиян С. А. Ионная проницаемость бислойных мембран на липидов эритроцитов после воздействия электростатического поля	55
Арицруни Г. Г., Оганова А. Г. Свободнорадикальная активность печени крыс, подвергшихся воздействию электростатического поля	58
Минасян Г. М., Оганесян А. С. Влияние ионизирующего излучения на антиоксидантную активность тканей желудка и тонкого кишечника	60
Тер-Маркосян А. С. Влияние паратиреоидной субстанции на утилизацию глюкозы ганглиями улитки	63
Адуни Г. Т., Саркисян Л. В., Адуни Г. Г. Роль тиоловых соединений в регуляции активности щелочной фосфатазы	65
Оганесян Г. Г., Саркисян Г. Ф. Цитогенетический эффект аскорбиновой кислоты в лимфоцитах человека	68
Авакян Г. Х. О роли серотонина в регуляции пост-репродуктивной функции пещушков	71
РЕФЕРАТЫ	
Абелян В. А., Меликсетян В. С. Ферментативно-микробиологическое получение L-аспаргиновой кислоты. III. Иммобилизация аспартазы и характеристика полученного биокатализатора	75
Абелян В. А., Меликсетян В. С. Ферментативно-микробиологическое получение L-аспаргиновой кислоты. IV. Характеристика иммобилизованных клеток микроорганизмов — продуцентов аспартазы	76
Шур-Багдасарян Э. Ф. О взаимосвязи природной растительности с состоянием плодородия почвы	77
Чилингарян В. О. Особенности фенологического цикла некоторых сортов винограда в корнесобственных и привитых насаждениях	79
ХРОНИКА	
Ф. Г. Сарухания	79

CONTENTS

ARTICLES

<i>Kazarian G. T., Panosian G. A., Spevia E., Yashkovska A., Tokarska M., Zholnerchuk R.</i> Influence of Kinetin and Procain on K^+ Transport and Protoplasm Movement in Internodal Cells of <i>Nitellopsis obtusa</i>	5
<i>Simontan N. V., Janpoladian N. L., Stepanian L. G., Avakian H. M.</i> Influence of Combined X-Ray and Laser Radiation on the Survival of Yeast Cells	11
<i>Asaturian R. A.</i> Interaction of Copper (II)—Albumine Complexes with Sodium Thiocyanate	14
<i>Panossian A. G., Barihyun M. L.</i> Ganglioside GD_3 as a Modulator of Biosynthesis of Eicosanoides and an Inhibitor of Action of Ionophore A-23187 in Human Polymorphonuclear Leukocytes	18
<i>Panossian A. G., Lebedeva M. N., Gevorgian K. V., Papoyan S. A.</i> Antimutagenes OA-3965 and PE-2590 Influence on Soy-Beans Lipooxygenase Activity, Radiosensitivity of Rats and Sarcoma-45 Growth Suppression	22
<i>Gyntkhandanyan A. V.</i> Effects of Antioxidants and Inhibitors of Energetic Processes on Induced Exchanged Fluxes of K^+ and H^+ in Erythrocytes	25
<i>Mikaelian L. G., Karapetian A. K.</i> Stabilization of Bilayer Lipid Membranes by Local Anesthetics	32
<i>Poghosian A. Yu., Hovsepian L. M., Karageuzian K. G.</i> Phospholipids and the Process of Lipids Peroxidation during Experimental Oedema of Brain, Evoked by Tetraethylol	37
<i>Davtian M. A., Gevorgian M. L.</i> Inhibition of Big-Horned Cattle Liver Arginase by Some Amino Acids	41
<i>Arzumants E. M.</i> Reserpine-Like Psychotropic Drugs and Research of Neuroleptics in Indoloquinolizidines Derivatives	48

SHORT COMMUNICATIONS

<i>Arakelian V. B.</i> On the State of Water in Membrane	54
<i>Artsruni G. G., Manukian R. A., Bafinian S. A.</i> Ionic Permeability of Bilayer Membranes from Erythrocyte Lipids after the Effect of Electrostatic Field	55
<i>Artsruni G. G., Oganova A. G.</i> Freeradical Activity of the Liver of Rats, Exposed to the Influence of Electrostatic Field	58
<i>Minassian G. M., Oganessian A. S.</i> Effect of Ionizing Radiation on the Antioxidant Activity of Gastric and Small Intestinal Tissues	60
<i>Ter-Markosian A. S.</i> Influence of Parathyroid Substance on the Utilization of Glucose by Ganglia of [Snail]	63
<i>Adunts G. T., Sargisian L. V., Adunts G. G.</i> Role of Thiole Combinations in the Regulation of Alkaline Phosphatase Activity	65
<i>Hovhannesian G. G., Sargisian T. F.</i> Cytogenetic Effect of Ascorbic Acid in Human Lymphocytes	68
<i>Sahakian G. Kh.</i> On the Role of Serotonine in the Regulation of Reproductive Function of Cockerels	71

ABSTRACTS

<i>Abelian V. A., Meliksetian V. S.</i> Fermentative—Microbiological Receipt of L-Asparaginic Acid. III. Immobilization of Aspartase and Characteristics of the Obtained Biocatalyzer	75
<i>Abelian V. A., Meliksetian V. S.</i> Fermentative—Microbiological Receipt of L-Asparaginic Acid. IV. Characteristics of Immobilized Cells of Microorganisms—Producers of Aspartase	76
<i>Shur-Pagdasarian E. F.</i> On the Correlation of Natural Vegetation with the State of Soil Fertility	77
<i>Ghilingarian V. O.</i> Peculiarities of Phenological Cycle of Some Sorts of Grape in Rootprivate and Engrafted Stands	78

CHRONICS

P. G. Sarukhanian	79
------------------------------------	----

ՀՈԴՈՒՄՆԵՐ • СТАТЬИ

Биол. ж. Армения, № 1, (42), 1989

УДК 581.141.2.04

ВЛИЯНИЕ КИНЕТИНА И ПРОКЛИНА НА ТРАНСПОРТ K^+ И
ДВИЖЕНИЕ ПРОТОПЛАЗМЫ В ИНТЕРНОДАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ
NITELOPSIS OBTUSA

Г. Т. КАЗАРЯН, Г. А. НАНОСЯН, Э. СНЕВЛА, А. ЯШКОВСКА,
М. ТОКАРСКА, Р. ЖОЛНЕРЧУК

Ереванский государственный университет,
Люблинский политехнический институт, ПНР

Исследовали влияние 10^{-5} М раствора кинетина и $1,25 \times 10^{-4}$ М раствора местного анестетика проклина на скорость движения протоплазмы и мембранный транспорт K^+ в интернодальных клетках пресноводной водоросли *Nitelopsis obtusa*. Показано, что кинетин увеличивает как скорость движения протоплазмы, так и скорость поглощения K^+ . Проклин резко ингибирует скорость движения протоплазмы и приводит к выходу ионов K^+ из клетки.

Предполагается, что действие кинетина обусловлено активацией электрогенных ионных насосов клетки. Действие проклина обусловлено ингибированием мембраносвязанных АТФаз.

Արտաքին ազդեցությունների և տեղային անեսթետիկ պրոկլինի $1,25 \times 10^{-4}$ М ազդեցությունը պրոպլազմայի շարժման արագության և K^+ -ի մեմբրանային արանսպորտի վրա *Nitelopsis obtusa*-ի միջնակայության բջիջներում: Նույն է տրվել, որ երկուսից մեծացնում է ինչպես պրոպլազմայի շարժման, այնպես էլ K^+ իոնների նվաճման արագությունը Պրոկլինը, ընդհակառակը, խիստ կնքում է պրոպլազմայի շարժման արագությունը և նպաստում է K^+ իոնների արտաթորմանը: Մեծացնում է K^+ իոնների արագությունը 10^{-5} մոլ/լ կինետինը: Երկուսից մեծացնում է ինչպես պրոպլազմայի շարժման, այնպես էլ K^+ իոնների նվաճման արագությունը: Պրոկլինի ազդեցությունը պրոպլազմայի շարժման արագության վրա կապված է մեմբրանային ազդեցության հետ:

The influence of kinetin (10^{-5} M) and local anesthetic proclin ($1,25 \times 10^{-4}$ M) on the rate of protoplasm movement and transport of K^+ ions in internodal cells of *Nitelopsis obtusa* was studied. It was shown that kinetin increased the rate of protoplasm movement and K^+ ions absorp-

tion, whole procain significantly decreased the rate of protoplasm movement and led to output of K^+ ions from the cells. It was suggested that kinetin action is conditioned by the activation of cells electrogenic ion pumps, while the action of procain is connected with the inhibition of membrane-bound ATP-ases.

Интернодальные клетки водоросли Nitelopsis obtusa — плазматические мембраны — прокаин.

Фитогормоны играют полифункциональную роль в физиологических и биоэнергетических процессах. Например, кинетин активирует функционирование транспортных АТФаз; способствует активированию электрогенных систем клетки и увеличению мембранной проницаемости [2, 6, 25]. С другой стороны, показано, что ауксин усиливает скорость движения протоплазмы в клетках водоросли [5, 13, 16]. Предполагается, что оно обусловлено активацией транспортных АТФаз, локализованных на плазматической мембране.

Относительно влияния прокаина на функциональные характеристики плазматических мембран растений в литературе нет данных, и то время как его влияние на функциональные характеристики мембран клеток животных исследовано достаточно обстоятельно. Так, установлено, что прокаин изменяет вязкость и диэлектрическую постоянную липидного бислоя, а также блокирует ионный транспорт в клетках печени крыс [14]. Он ингибирует активность $(Na^+ - K^+)$ АТФазы клеток мозга кролика и вызывает модификацию мембран и изменение флуоресценции нервов и мышечных волокон краба [20, 21]. На основании имеющихся данных Зеeman [23] предполагает, что первичным механизмом действия местных анестетиков (прокаина, лидокаина) является взаимодействие с липидным матриксом клетки, вызывающее наблюдаемое ингибирование мембраносвязанных АТФаз.

Можно предположить, что влияние прокаина на движение протоплазмы и транспорт K^+ в интернодальных клетках *Nitelopsis obtusa* обусловлено его взаимодействием с липидным матриксом плазматических мембран.

Цель настоящих исследований состояла в изучении влияния фитогормона кинетина и местного анестетика прокаина на функциональные характеристики плазматических мембран интернодальных клеток пресноводной водоросли *Nitelopsis obtusa*.

Материал и методика. Скорость движения протоплазмы в интернодальных клетках измеряли по методу, предложенному Камия [5]. Схема проведения эксперимента была следующей. Сначала измеряли контрольные скорости в озерной воде (естественная среда обитания водорослей *Nitelopsis obtusa*), затем клетки переносили во вторую камеру с 10^{-4} М раствором кинетина. После окончания экспозиции клетки помещали в $1,25 \times 10^{-4}$ М раствор прокаина, а затем через 30 мин переносили снова в воду (второй контроль). Во втором варианте после измерения контроля клетки помещали сначала в раствор прокаина, затем переносили в камеру с раствором кинетина, и снова в воду. В экспериментах использовали растворы 10^{-4} М кинетина («Хемалол», ЧССР), $1,25 \times 10^{-4}$ М прокаина (польского производства). Растворы кинетина и прокаина готовили на озерной воде.

Интенсивность и направленность мембранного транспорта K^+ измеряли поокселектрическим микрометродом. Объем измерительной ячейки составлял 40 мл. Схема про-

пеления эксперимента была следующей. Сначала измеряли контроль в озерной воде, затем в ячейку добавляли 0,4 мл маточного раствора кинетина; конечная концентрация составляла 10^{-9} М. После окончания экспозиции в ячейку вносили такое количество прокаина, что его конечная концентрация в растворе составляла $1,25 \times 10^{-4}$ М. Во втором варианте после измерения контроля сначала добавляли прокаин, а затем в ячейку вносили кинетин.

Нето-поток катия выражали в $\text{мкМ} \times \text{г}^{-1} \times \text{час}^{-1}$. Повторность опытов семикратная. Вертикальные линии на рисунках означают стандартную ошибку средних величин.

Результаты и обсуждение. На рис. 1 приведены данные о влиянии кинетина на скорость движения протоплазмы. Добавление кинетина вызывает увеличение скорости движения, превышающей контрольные значения в 1,4 раза. Помещение клеток в раствор прокаина приводит

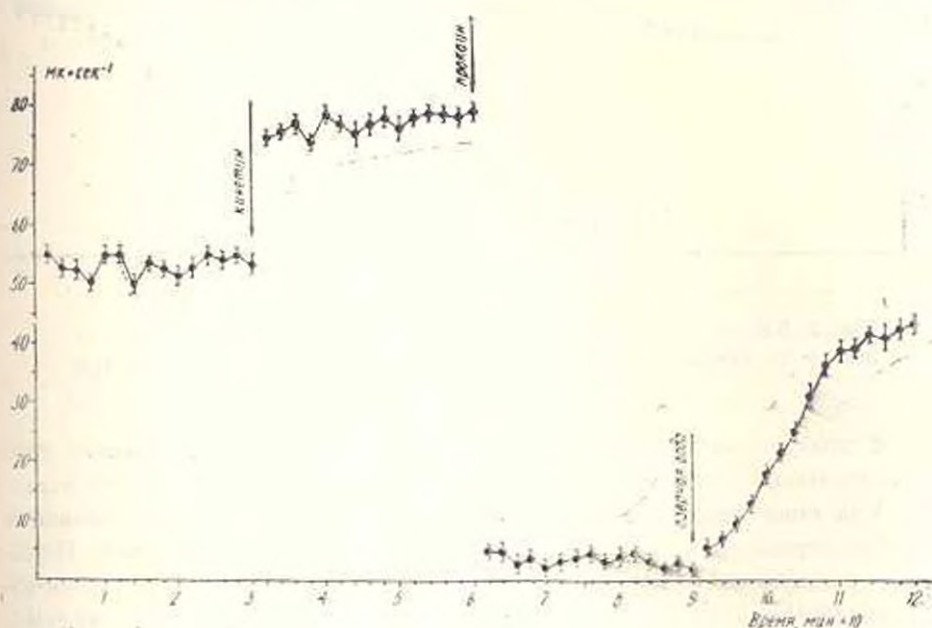


Рис. 1. Влияние 10^{-9} М раствора кинетина и $1,25 \times 10^{-4}$ М раствора прокаина на скорость движения протоплазмы в эпириндальных клетках пресноводной водоросли *N. obtusa*. Здесь и далее стрелками отмечены моменты замены экспериментальных растворов

к резкому замедлению скорости в 6,8 раза по сравнению с контролем. При замене раствора прокаина на озерную воду скорость движения восстанавливается почти до контрольных величин.

На рис. 2 показано влияние прокаина на скорость движения протоплазмы. Добавление его приводит к резкому снижению скорости движения в 7,5 раза по сравнению с контролем. Помещение клеток в раствор кинетина приводит к постепенному увеличению скорости, которая в 3,3 раза превышает скорость движения протоплазмы при действии прокаина. Замена раствора кинетина на озерную воду способствует дальнейшему увеличению скорости почти до контрольных величин.

Известно, что местные анестетики, в зависимости от концентрации, оказывают ингибирующее влияние на скорость движения протоплазмы

в клетках различных растений и водорослей. Предполагается, что у водорослей это обусловлено изменением транспортной функции плазматических мембран [9, 10, 17, 24]. Можно допустить, что изменение транспортных функций мембран при действии проканна вызвано изменением режима работы электрогенных насосов, существование которых в плазматических мембранах клеток водорослей показано в ряде работ [1, 15, 19].

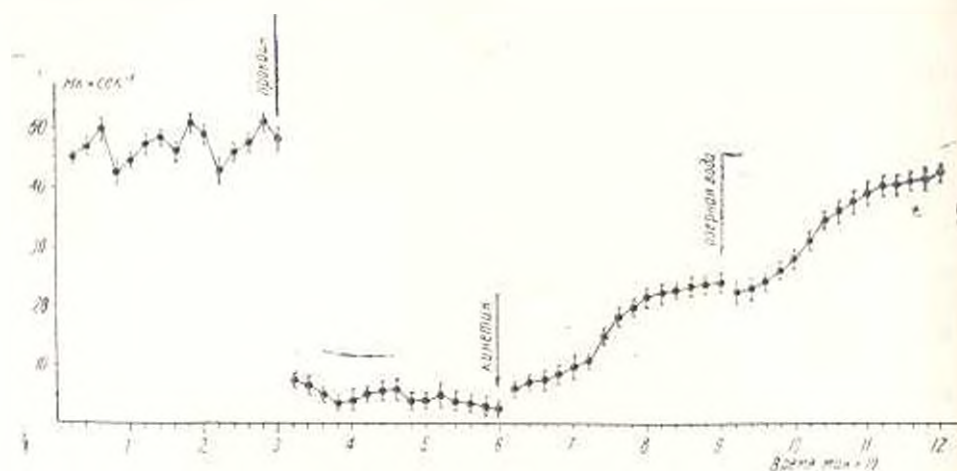


Рис. 2. Влияние $1,25 \times 10^{-4}$ М раствора проканна и 10^{-3} М раствора кинетина на скорость движения протоплазмы в интернодальных клетках пресноводной водоросли *N. obtusa*.

В этой связи определенным интерес представляет выяснение продолжительности действия кинетина на скорость движения протоплазмы. Как показывают данные таблицы, скорость остается неизменной в течение первых 3 ч, затем снижается до контрольных величин. Показано, что ауксин, усиливая скорость движения протоплазмы, способствует повышению интенсивности дыхания [11, 12]. По всей видимости, при этом происходит усиленный расход субстратов для дыхания, что и приводит к уменьшению скорости движения протоплазмы. Необходимо отметить, что существование связи между процессом дыхания и скоростью движения протоплазмы отмечено в ранних работах Такеучи и Хатано [24].

Продолжительность действия кинетина на скорость движения протоплазмы (мксек) в интернодальных клетках пресноводной водоросли

Контроль (вода)	10^{-3} раствор кинетина								
	30 мин	1 час	1,5 ч	2,0 ч	2,5 ч	3,0 ч	6,0 ч	25,0 ч	72,0 ч
68,3±	89,6±	91,4±	94,5±	88,4±	92,6±	87,8±	71,3±	66,7±	65,8±
3,1	3,3	2,9	4,3	4,2	3,6	2,5	2,8	3,2	2,6

На рис. 3 приведены данные, касающиеся влияния кинетина на мембранный транспорт K^+ в интернодальные клетки *Nitellopsis obtusa*.

Добавление кинетина в измерительную ячейку приводит к усилению поглощения K^+ , превышающего контрольный уровень в 3,5 раза. При введении прокаина в измерительную ячейку регистрировали реверс транспорта K^+ —последний начинает выходить из клеток. Подсчеты показали, что приблизительно 25% от общего количества поглощенного клетками K^+ выходит из клеток в раствор.

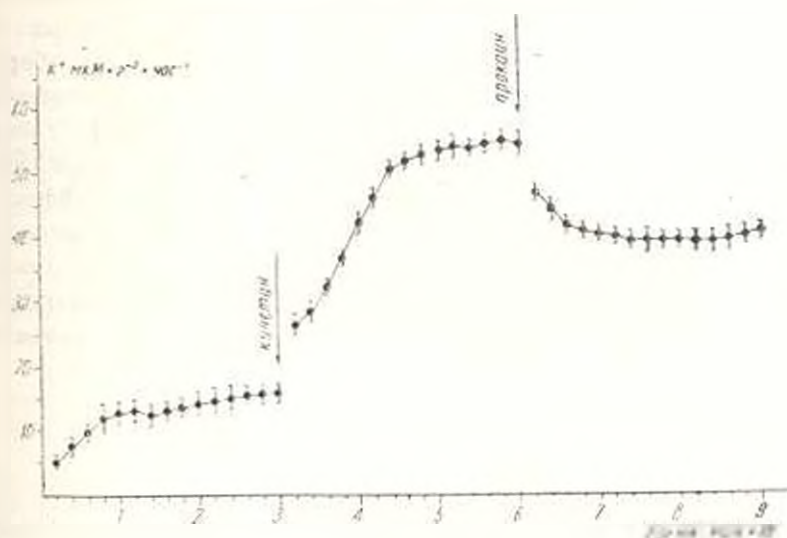


Рис. 3. Влияние 10^{-3} М раствора кинетина и $1,25 \times 10^{-4}$ М раствора прокаина на мембранный транспорт K^+ в интернодальные клетки пресноводной водоросли *N. obtusa*.

Данные о влиянии прокаина на мембранный транспорт K^+ в клетках водоросли приведены на рис. 4, из которого видно, что его добавление приводит к выходу K^+ из клеток в раствор. При внесении кинетина в измерительную ячейку наблюдается реверс транспорта K^+ —поглощение.

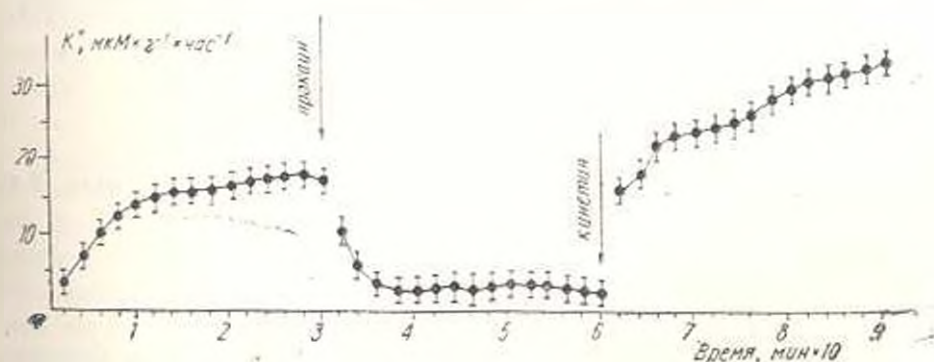


Рис. 4. Влияние $1,25 \times 10^{-4}$ М раствора прокаина и 10^{-3} М раствора кинетина на мембранный транспорт K^+ в интернодальные клетки пресноводной водоросли *N. obtusa*.

Относительно действия кинетина на транспортные функции плазматических мембран высших растений имеются данные [3, 7, 8, 22], согласно которым этот фитогормон усиливает транспорт K^+ в корневых

вой системе 2-недельных растений пшеницы, уменьшает его отток из корневых клеток 2—3-дневных растений кукурузы, способствует поглощению K^+ корневыми клетками 4-дневных растений кукурузы. Влияние фитогормонов вообще и кинетина в частности на мембранный потенциал и транспортные процессы позволяет рассматривать этот класс соединений в качестве веществ, обладающих ярко выраженными мембранотропными свойствами.

Результаты, приведенные в настоящей работе, показывают, что присутствие кинетина в среде измерения не влияет на ингибирующий эффект прокаина. Ранее нами было показано, что в присутствии кинетина слабо проявляется ингибирующий эффект ДЦКД (ингибитора H^+ -АТФазы) на генерацию мембранного потенциала корневыми клетками кукурузы. Было сделано предположение, что этот эффект обусловлен конкуренцией кинетина и ДЦКД за одну и ту же точку приложения [4]. Данные, приведенные в настоящей работе, позволяют предположить, что кинетин и прокаин влияют на различные механизмы, локализованные на плазматической мембране клеток пресноводной водоросли.

ЛИТЕРАТУРА

1. Болдырев А. А., Прокопьева В. А. Биологические науки, 9, 5, 1987.
2. Казарян Г. Т., Хачатрян Г. Н., Пакосян Г. А. Тез. I Всесоюз. конф. по регуляторам роста и развития растений М., 1981.
3. Казарян Г. Т., Хачатрян Г. Н., Цапкян А. Р. Тез. докл. II Рег. конф. по связи. пробл. физико-химической биологии Ереван, 1986.
4. Казарян Г. Т., Хачатрян Г. Н. Физиол. раст., 33, 6, 1050, 1986.
5. Камия Н. Движение протоплазмы. М., 1962.
6. Лялин О. О., Кутурова Н. Н. Физиол. раст., 23, 305, 1976.
7. Полевой В. В. Фитогормоны. Л., 1982.
8. Полевой В. В., Саламатова Т. С. В кн.: Ионный транспорт в растениях. М., 78, 1980.
9. Buckhout T. I. Plant Physiol., 68, 512, 1981.
10. Cleland R. E. In Plant Growth Substances, 71, Springer Verlag, Berlin, 1979.
11. Erdei L., Toth I. Physiol. Plantarum, 45, 448, 1982.
12. Evans M. L., Mulkey T. Planta, 148, 710, 1980.
13. Findlay G., Hope A. Austral. J. Biol. Sci., 17, 189, 1964.
14. Heidmann T., J.-P. Chungaux Ann. Rev. Biochem., 47, 317, 1978.
15. Higinbotham N. Ann. Rev. Plant Physiol., 31, 35, 1980.
16. Kataev A. A., Zherelova O. M., Berestovsky G. N. Gen. Physiol. Biophys., 3, 447, 1984.
17. Katkar G. F., Geissler A. Phytochemistry, 21, 257, 1982.
18. Marce E. Ann. Rev. Plant Physiol., 36, 288, 1985.
19. Marsh D. Trends Biochem. Sci., 8, 339, 1983.
20. Nsher E., H. Steinbach J. Physiol., 277, 153, 1984.
21. Pringle M. J., P. R. Adams Biochemical and Biophysical Research Communications, 67, 1, 196, 1985.
22. Rubery Ph. Ann. Rev. Plant Physiol., 32, 369, 1981.
23. Seeman F. Pharmacological Reviews, 42, 1, 583, 1983.
24. Takeuchi I., Holano S. 21th Ann. Meet. Bot. Soc. Japan, 1976.
25. Thibaud J.-B., A. Sobes, C. Grignon, Plant Physiol., 82, 817, 1986.
26. Vornobly L., Manusadziunas J. Physiol. Plantarum, 59, 651, 1983.

Поступило 11.X 1988 г.

ВЛИЯНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ РЕНТГЕНОВСКОГО И ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЙ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ КЛЕТОК ДРОЖЖЕЙ

Н. В. СИМОНЯН, И. А. ДЖАНПОЛАДЯН, Л. Г. СТЕПАНЯН, Г. М. АВАКЯН

Ереванский физический институт ГКАЭ СССР

Показано, что облучение диплоидных клеток дрожжей *Saccharomyces ellipsoidus* Мегри 139-B и *Saccharomyces cerevisiae* «дикого» типа низкointенсиным гелий-неоновым лазерным излучением приводит к снижению повреждающего действия рентгеновского излучения. На гаплоидных клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* «дикого» типа радиозащитное действие лазерного излучения не обнаруживается.

Ուսումնասիրվել է *Saccharomyces ellipsoidus* Մեգրի 139-B և *Saccharomyces cerevisiae* «վայրենի» տիպի դիպլոիդային և հափլոիդային բջջերի վրա ցածր ինտենսիվությամբ Գեիլ-Նեոնային լազերային ճառագայթների ազդեցությունը ռենտգենյան ճառագայթների վնասող ազդեցության նկատմամբ: *Saccharomyces cerevisiae* «վայրենի» տիպի հափլոիդային բջջերի վրա լազերային ճառագայթների ռադիոպաշտպանիչ ազդեցությունը չեն հայտնաբերվում:

The irradiation of diploid yeast cells *Saccharomyces ellipsoidus* Megri 139-B and *Saccharomyces cerevisiae* of "wild" type with low-intensity helium-neon laser radiation was shown to lead to a decrease in the damaging effect of X-rays. The radioprotective effect of laser irradiation was not revealed on haploid yeast cells *Saccharomyces cerevisiae* of "wild" type.

Дрожжи Saccharomyces—лазерное излучение—рентгеновское излучение.

Ранее нами было показано, что облучение клеток бактерий *E. coli* K-12 разных репарационных генотипов низкointенсиными гелий-неоновыми лазерными лучами приводит к снижению повреждающего действия ионизирующих излучений [1, 2]. Репродуктивная способность клеток при последовательном рентгеновском и лазерном облучении выше таковой клеток, подвергнутых только рентгеновскому облучению. В этих же работах было выдвинуто предположение о том, что излучение гелий-неонового лазера может активировать репарационные системы клеток и поэтому при совместном действии его с ионизирующим излучением летальное действие последнего снижается. В пользу этого предположения свидетельствует, с одной стороны, характер изменения значений параметров кривых выживания—увеличение значений экстраполяционного числа (n), с другой—зависимость эффективности комбинированного облучения от генетических особенностей клеток, поскольку использованные нами штаммы бактерий *E. coli* K-12 являются изогенными мутантами разных репарационных генотипов.

В работе представлены результаты исследования влияния последовательного рентгеновского и лазерного облучения на клетки гаплоидных и диплоидных дрожжей, относящихся к более высокоорганизованной (по сравнению с прокариотами) таксономической группе организмов и являющихся удобным объектом для проверки представлений

о связи противолучевого действия лазерного излучения с внутриклеточными механизмами репарации.

Материал и методы. В работе использовали диплоидные клетки дрожжей *Saccharomyces ellipsoides* Мегри 139-В и гаплоидные и диплоидные клетки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* «дикого» типа. Перед облучением клетки выращивали на твердой полнородной питательной среде УЕР (дрожжевой экстракт—10 г/л, глюкоза—20 г/л, пептон—10 г/л, агар-агар—20 г/л) в течение 3 суток при 30°. Облучение клеток проводили гелий-неоновым лазером ЛГ-73 непрерывного действия ($\lambda = 633$ нм, мощность излучения 4,8 мВт) и рентгеновской установкой РУП-200-20-5 (напряжение на трубке 200 кВ, сила тока 11 мА, мощность дозы 35 Гр/мин) при комнатной температуре и моноклоном на поверхности «голодного» агара или же на ливсановых ядерных фильтрах (диаметр пор 0,53 мкм, пористость 8–10%). Способ облучения клеток не влиял на их чувствительность к рентгеновскому облучению. При последовательном облучении клеток указанными видами излучений временной интервал между ними не превышал 120 с. Выживаемость клеток определяли подсчетом макроклоний, вырастающих через 6 суток в описанных выше условиях. Результаты экспериментов обрабатывали на вычислительном комплексе Нескра-1256 с использованием метода наименьших квадратов и t-критерия Стьюдента. Стандартная ошибка определения средних значений выживаемости клеток при усреднении результатов разных опытов, как правило, не превышала 5%.

Результаты и обсуждение. На рис. 1 приведены кривые выживания диплоидных клеток дрожжей *Saccharomyces ellipsoides* Мегри 139-В, подвергнутых рентгеновскому и комбинированному рентгеновскому и лазерному облучениям. Для последующего лазерного облучения клеток использовалась нелегальная экспозиция, равная 1 мин. Из

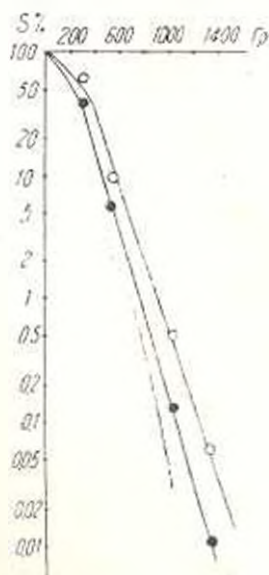


Рис. 1. Кривые выживания диплоидных клеток дрожжей *S. ellipsoides* Мегри 139-В при комбинированном облучении рентгеновским и лазерным излучениями. По оси абсцисс — доза рентгеновского облучения, Гр; по оси ординат — выживаемость, %. Темные символы — Х-лучи; светлые символы — Х-лучи + лазерное облучение в течение 1 мин.

рисунка видно, что дополнительное лазерное воздействие повышает выживаемость клеток. Так, например, при уровне выживаемости после рентгеновского облучения 0,01% последующая лазерная обработка приводит к 5-кратному увеличению репродуктивной способности клеток.

Результаты аналогичных опытов, проведенных на диплоидных и гаплоидных клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, приведены в таблице и на рис. 2.

У диплоидных клеток *Saccharomyces cerevisiae* «дикого» типа, как и у диплоидных клеток *Saccharomyces ellipsoideus* Мегри 139-В, последующее лазерное воздействие снижает повреждающее действие рентгеновских лучей. Однако эффективность модифицирующего действия его на клетки этих дрожжей выше, чем на клетки *S. ellipsoideus*.

Влияние последовательного рентгеновского и лазерного (1 мин) облучений на выживаемость диплоидных клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* «дикого» типа

Выживаемость, %		Выживаемость, %	
Х-лучи	Х-лучи + лазерное облучение	Х-лучи	Х-лучи + лазерное облучение
0.015	0.11	0.015	0.08
0.015	0.11	0.018	0.08
0.011	0.10	0.012	0.12
0.012	6.12	0.013	0.12

us Мегри 139-В: при исходной выживаемости после рентгеновского облучения, равной 0.01%, последующая лазерная обработка приводит примерно к 10-кратному увеличению выживаемости клеток.

У гаплоидных клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* «дикого» типа, как видно из рис. 2, радиозащитное действие лазерного облучения не регистрируется.

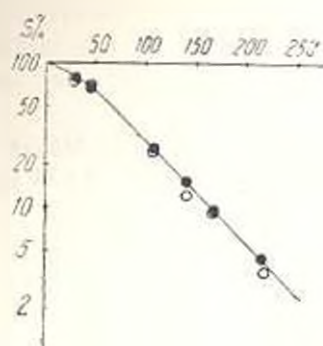


Рис. 2. Кривые выживания гаплоидных клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* «дикого» типа при комбинированном облучении рентгеновским и лазерным излучениями. По оси абсцисс — доза рентгеновского облучения, Гр; по оси ординат — выживаемость, %. Темные символы — Х-лучи, светлые символы — Х-лучи + лазерное облучение в течение 1 мин.

При изучении эффекта восстановления у дрожжей было обнаружено, что он свойствен только клеткам, имеющим два и более набора хромосом; гаплоидные клетки, обладающие одним набором хромосом, к восстановлению неспособны [3, 4]. В пользу представления о диплоид-специфичной репарации, ликвидирующей у диплоидных клеток большую часть первичных повреждений, свидетельствуют следующие факты: повышенная радиорезистентность диплоидных клеток дрожжей

по сравнению с гаплоидными клетками: искусственно полученные диплоидные клетки, не способные к восстановлению, вдвое более радиочувствительны, чем гаплоидные, поскольку у диплоидных клеток благодаря удвоенному числу хромосом имеется как бы вдвое больше «мишеней» и при одинаковой дозе облучения летальные повреждения возникают вдвое чаще; у гаплоидных клеток, дефектных по репарации, радиочувствительность практически не изменяется по сравнению с клетками «дикого» типа, а у диплоидных сильно возрастает.

Таким образом, наличие радиозащитного эффекта гелий-неоновое-лазерного излучения у диплоидных клеток, способных к репарации лучевых повреждений, и отсутствие таковых у гаплоидных, не способных к репарации, свидетельствуют в пользу представления о связи радиозащитного действия низкоинтенсивного лазерного излучения с активацией репарационных систем клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виссариан К. Ш., Симеони Н. В., Авакян Ц. М., Арутюнян А. Г. Радиобиология, 25, 4, 557—560, 1985.
2. Виссариан К. Ш., Симеони Н. В., Авакян Ц. М. Биолог. ж. Армении, 29, 3, 200—203, 1986.
3. Корогодик В. И., Лю А.-Шенг. Цитология, 1, 4, 379—386, 1959.
4. Корогодик В. И., Билуши В., Маркова Л. И., Шехтман Я. Л. Радиобиология, 3, 1, 39—44, 1963.

Поступило 17.V 1988 г

Биол. ж. Армении, № 1, (42), 1989

УДК 578.088:547.963.4

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КОМПЛЕКСОВ МЕДЬ (II)—АЛЬБУМИН С ТИОЦИАНАТОМ НАТРИЯ

Р. А. АСАТУРЯН

Ереванский физический институт ГКАЭ СССР

Методом ЭПР изучалось взаимодействие ранее идентифицированных нами двух типов комплексов медь (II)—альбумин с тиоцианатом натрия при pH 5.5 (тип 1) с гидрофильным и при pH 9.5 (тип 2)—гидрофобным окружениями. С ростом концентрации SCN^- для комплексов типа 1 наблюдалось большее уменьшение интенсивности и уширение сигналов ЭПР, чем для комплексов типа 2. Постулируется процесс переноса электрона SCN^- на металл в комплексе для комплексов типа 1 в виде: $Cu(II)-BCA+SCN^- \rightarrow Cu(I)-BCA-SCN$. Образовавшиеся реакционно-способные радикалы SCN должны рекомбинировать:

$2SCN \rightarrow (SCN)_2$ или $SCN + SCN^- \rightarrow [SCN_2]^-$ и $SCN + SCN^- \rightarrow [SCN_2]^{2-}$.

Сокращения: BCA—бичий сывороточный альбумин.

փոխազդեցությունը 1 տիպի կոմպլեքսը հիդրոֆիլ շրջակայքում ստացվում է $pH=5.5$ դեպքում, իսկ 2 տիպի կոմպլեքսը հիդրոֆոբ շրջակայքում՝ $pH=9.5$: SCN^- -ի կոնցենտրացիայի աճին զուգընթաց 1 տիպի կոմպլեքսի համար նկատվել է էՊՆ ազդանշանների բնութագրության ավելի մեծ նվազում և լայնացում, քան 2 տիպի կոմպլեքսի համար: Հաջվի առնելով պղնձի (II) բարձր էլեկտրաբացասականությունը և արդիացման պոտենցիալի փոքր արժեքը պոտոուլտրաֆուլետ SCN^- -ից մետաղի վրա էլեկտրոնի փոխանցման պրոցես հիմնականում 1 տիպի կոմպլեքսի համար՝ $Cu(II) - BSA - SCN^- - Cu(I) - BSA - SCN^-$ տեսքով, Առաջացած ռեակցիոնընդունակ SCN ռադիկալները պետք է ռեկոմբինացվեն:

The interaction of our earlier identified two types of copper (II)—albumine complexes with the sodium thiocyanate was studied by the ESR method at $pH=5.5$ (type 1) with hydrophilic and at $pH=9.5$ (type 2) with hydrophobic environments. For the type 1 complexes the ESR signals became weaker and wider with the growing concentration of SCN^- ions than they did in the case with the type 2 complexes. With regard to the high electronegativity and low oxidizing potential of copper (II), the electron transfer from SCN^- ions to the metal was postulated mainly for complexes of type 1 as $Cu(II) - BSA + SCN^- - Cu(I) - BSA - SCN^-$. The produced reactive SCN radicals must recombine.

EXAFS-спектроскопия—принцип неопределенности Гейзенберга—электроотрицательность—окислительный потенциал.

Комплексы $Cu(II)$ -BSA являются простой и удобной моделью большинства активных центров медьсодержащих ферментов. Результаты, полученные для нее, могут быть полезны при изучении свойств таких ферментов.

Ранее комплексы $Cu(II)$ -BSA изучались методами ЯМР [1, 2], ЭПР [2, 5—8] и EXAFS-спектроскопии [8]. Показано, что в зависимости от pH образуется два типа комплексов—один при низких значениях pH (тип 1), другой при $pH \geq 9$ (тип 2). В комплексах типа 1 медь окружена двумя атомами азота Гис-9 и Гис-18 молекулы BSA и двумя атомами кислорода молекулы воды [1]; комплексы типа 2 состоят из центрального атома меди (II), окруженного четырьмя атомами азота молекулы BSA, находящимися на расстоянии $2.04 \pm 0.01 \text{ \AA}$ от меди (II) [8].

В работе [11] изучено взаимодействие BSA с NaSCN микродилатометрическим методом и выявлены незначительные изменения объема молекулы BSA по сравнению с таковыми в присутствии $Cu(II)$ [1, 12] или додецилсульфата натрия [2, 13].

Целью данной работы являлось изучение методом ЭПР взаимодействия комплексов $Cu(II)$ -BSA типов 1 и 2 с тиоцианатом натрия.

Материал и методика эксперимента описаны ранее [2].

Результаты и обсуждение. На рис. 1 представлены спектры ЭПР комплексов $Cu(II)$ -BSA типа 1 (спектр а) и типа 2 (спектр б) до и после добавления тиоцианата натрия. Сравнивая спектры а и б можно заметить, что интенсивность спектра б уменьшилась относительно таковой контрольного спектра а. Для спектров в и г такое уменьшение интенсивности очень незначительно. Кроме того, из спектров а и б при pH 5.5 видно как центральная линия поглощения уширяется при

добавлении анионов SCN^- , а из спектров *в* и *г* при pH 9,5 это уширение практически незначительно.

Кривые зависимости относительной интенсивности центральной компоненты спектров ЭПР от концентрации SCN^- при двух значениях pH приведены на рис. 2. Кривая при pH 5,5 (*а*) лежит ниже кривой при pH 9,5 (*б*) и ее интенсивность при 100 мМ концентрации SCN^- в два раза меньше, чем при pH 9,5.

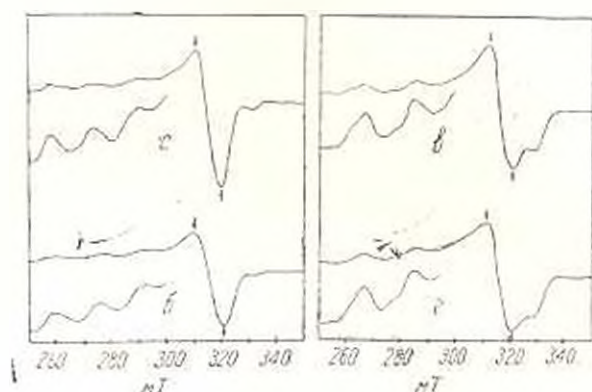


Рис. 1. Спектры ЭПР комплексов Cu(II)-BCA при -190°C и значениях pH 5,5 (*а* и *б*) и 9,5 (*в* и *г*). Спектры *а* и *в* — контрольные, *б* и *г* — после добавления 100 мМ SCN^- . Стрелки указывают на точки максимального наклона, между которыми измерялась ширина линии ΔH . Под каждым спектром слева проведена повторная запись компонент СТС, при усилении в 1 раз больше.

Как было ранее нами показано методом ЯМР [1] по уширению компонент спектра от протонов молекул воды в комплексе типа 1 центральный атом металла имеет доступ к растворителю через две связанные с ним молекулы воды. Данные, полученные ранее методами ЭПР и EXAFS спектроскопии для комплексов типа 2, свидетельствуют о связывании Cu(II) с четырьмя атомами азота молекулы BCA [7, 8]. Гидрофильное окружение в комплексе типа 1 при pH 5,5 и малые размеры аниона SCN^- на наш взгляд, позволяют им сблизиться, чего нельзя сказать относительно комплексов типа 2, которые находятся в гидрофобном окружении. Такие стерические условия, по-видимому, создают необходимые предпосылки для контакта между комплексами типа 1 и анионами SCN^- при pH 5,5, в результате которого можно было ожидать связывания комплексов типа 1 с этими анионами, так как координационное число у Cu(II) может быть ≥ 4 .

Для проверки этого предположения были проведены специальные эксперименты при комнатной температуре. Были изучены спектры ЭПР гидратированной меди (II) с концентрацией 5 мМ в растворе с анионами SCN^- с концентрацией 120 мМ. Спектры ЭПР до и после добавления SCN^- не меняли свою форму, и, кроме того, в таком спектре ЭПР не наблюдалась сверхтонкая структура от взаимодействия неспаренного электрона меди (II) со своим ядром со спином $3/2$, как это наблюдалось, к примеру, при взаимодействии меди (II) с гидрокси-

дом изоникотиновой кислоты [10] или меди (II) с триглицидом [9]. Кроме того, прогрев или хранение такого раствора приводят к его обесцвечиванию и исчезновению сигнала ЭПР.

Таким образом, проведенные эксперименты показали, что медь (II) при контакте с анионами SCN^- не связывается с ними в комплекс, т. е. протекает реакция, в результате которой константа диссоциации гораздо больше константы связывания меди (II) с SCN^- .

На рис. 3 показана зависимость ширины линии спектров ЭПР между точками максимального наклона ΔH при pH 5,5 (а) и pH 9,5 (б). Видно, что при pH 5,5 кривая уширения резко возрастает даже при концентрации SCN^- 20 мМ, а затем, при 60 мМ, она начинает вы-

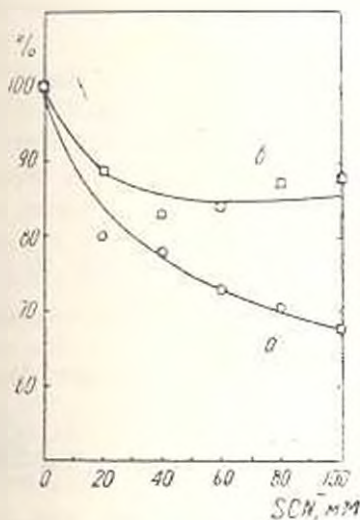


Рис. 2.

Рис. 2. Зависимость относительной интенсивности спектров ЭПР от концентрации анионов SCN^- при значениях pH 5,5 (а) и 9,5 (б).

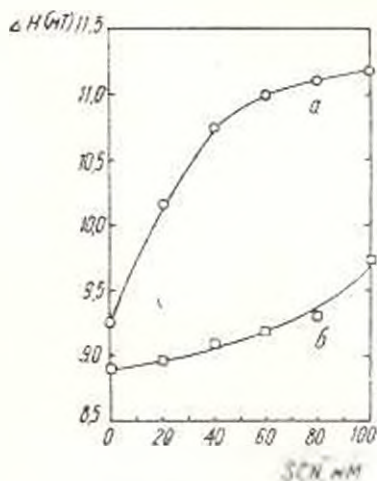


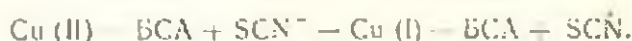
Рис. 3.

Рис. 3. Зависимость ширины линии (ΔH) спектров ЭПР от концентрации анионов SCN^- при значениях pH 5,5 (а) и 9,5 (б).

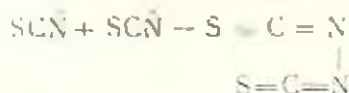
ходить на начальный участок плато; дальнейшее добавление SCN^- не приводит к существенному уширению сигнала ЭПР. При pH 9,5 ширина линии проявляет очень слабую тенденцию к увеличению даже при максимальной концентрации SCN^- . При 100 мМ концентрации SCN^- и pH 5,5 увеличение ширины линии в 2 раза больше, чем при pH 9,5. Такие зависимости уширения сигналов ЭПР при различных значениях pH могут быть обусловлены тем обстоятельством, что в соответствии с принципом неопределенности Гейзенберга $\Delta W \cdot T_1 \geq \hbar/2$, где ΔW — ширина линии спектра ЭПР, T_1 — время спин-решеточной релаксации, уширение должно быть обусловлено укорочением времени T_1 . При pH 5,5 значение T_1 с ростом концентрации SCN^- должно укорачиваться быстрее, чем при pH 9,5, так как при pH 5,5 имеет место большее уширение сигнала, чем при pH 9,5.

Таким образом, существует однозначная корреляция между относительным уменьшением интенсивности сигнала ЭПР и его уширением при pH 5,5 в зависимости от добавления SCN^- . Это позволяет, на наш

взгляд, утверждать, что происходит перенос электрона с SCN^- на металл в основном для комплексов типа I по схеме:



Образовавшиеся радикалы SCN как реакционноспособные должны рекомбинировать. Возможно, что схема их рекомбинации такова:



Данные о высокой электроотрицательности меди (II) ($\chi=2.1$) [3] и малой величине ее окислительного потенциала ($E^\circ=153$ мВ) [4] подтверждают, что процесс переноса электрона должен иметь место.

ЛИТЕРАТУРА

1. Асатуриян Р. А. Биол. ж. Армении 36, 570—574 (1983).
2. Асатуриян Р. А., Лусарярян К. С. Биол. ж. Армении, 39, 208—212, 1986.
3. Бацаков С. С. Экспериментальные основы структурной химии. М., 1986.
4. Коттон Ф., Уилкинсон Д. Основы неорганической химии. М., 1979.
5. Asaturian R. A. Preprint Yerevan Phys. Inst., 716 (31)—84.
6. Asaturian R. A. Preprint Yerevan Phys. Inst., 717 (32)—84.
7. Asaturian R. A. Gen. Physiol. Biophys., 5, 105—118, 1986.
8. Asaturian R. A., Avakian Ts. M., Ershov A. V., Ageev A. I., Kozlov M. A. J. Physique, 47, C5—1205—1209, 1986.
9. Falk R.—E., Freeman H. C., Jansson T., Mainstream B. G., Vanngard T. J. Amer. Chem. Soc., 89, 6071—6077, 1967.
10. Hiltnerbrand M., Lohmann W., Penka V., Ehling U. Z. Naturforsch., 30C, 33—36, 1975.
11. Katz S., Crissman J. K., Roberson J. C. J. Biol. Chem., 249, 7892—7895, 1974.
12. Katz S., Shinaberry R. G., Heck E. L., Square W. Biochemistry, 19, 3805—3813, 1980.
13. Katz S., Shaw M. E., Chittag S., Miller J. E. J. Biol. Chem., 247, 5228—5233, 1972.

Поступило 22.VII 1987 г.

Биол. ж. Армении, № 1, (42), 1989

УДК 547.992:547.392.52:547.475.53:577.171.5

ГАНГЛИОЗИД GD_3 —МОДУЛЯТОР БИОСИНТЕЗА ЭИКОЗАНОИДОВ И ИНГИБИТОР ДЕЙСТВИЯ ИОНОФОРА A-23187 В ПОЛИМОРФНОЯДЕРНЫХ ЛЕЙКОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА*

А. Г. ПАНОСЯН, М. Э. БАРИКЯН

Институт медицинской радиологии МЗ АрмССР, Ереван

Показано, что предварительная обработка гранулоцитов ганглиозидом GD_3 резко снижает влияние ионофора A 23187 на эйкозаноидный каскад (высвобождение из клеточных липидов [1- ^{14}C] арахидоновой кислоты и ее трансформацию в продукты липоксигеназы) путей окисления 5-HETE, 12-HETE, 15-HETE, 8-HETE, LTB $_4$, 20-OH-LTB $_4$.

* Часть материалов статьи была представлена на Всесоюзной конференции по биохимии липидов, ИБ, Алма-Ата, 1987.

Сокращения: НК—натуральные киллеры, ПМЯЛЧ—полиморфноядерные лейкоциты человека, GD_3 —11 β (NauAc) $_2$ LacCer, GM_3 —11 β NeuAcLacCer, АК—арахидоновая

ծույց 1 արձան, որ հանդիսանում է ԳԴ₃-ով զրահված թերթիկների նախնական մշակման հստակ ինքնուրույն հեռանկար Ա-23187-ի ազդեցությանը բացառապես լիպիդների [1-¹⁴C] — արախիդոնիկ և նրա լիպոօքսիգենազային օրգանական պրոդուկտների՝ 5-²⁶ՏԾ, 12-²⁶ՏԾ, 15-²⁶ՏԾ, D²⁶ՏԾ, LTB₄, 20-OH-LTB₄, արանհանրապեսի վրա:

Ganglioside GD₃ sharply reduces ionophore A-23187 stimulated release of [1-¹⁴C] — arachidonic acid from cellular lipid and subsequent transformation into the products of lipoxygenase pathways of oxidation: 5- HETE, 12- HETE, 15- HETE, D¹⁵HETE, LTB₄, 20- OH-LTB₄.

Лейкоциты человека поликорпорноядерные — эйкозаноиды — ганглиозиды.

Известно, что структура и состав ганглиозидов меняются при злокачественном росте и что в плазме опухоленосителей резко увеличивается содержание опухолеассоциированных ганглиозидов, в особенности GD₃ и GM₃ [1, 10]. По-видимому, опухолевые ганглиозиды поступают в плазму путем усиленного «сбрасывания» с поверхности опухолевых клеток [2, 13, 15]. Показано, что *in vitro* ганглиозиды GD₃ и GM₃ подавляют цитотоксическую активность НК-клеток и повышают Т-супрессорную активность [3-5], тогда как ганглиозиды иной структуры таким свойством не обладают. На этом основании высказано предположение, что повышение содержания ганглиозидов GD₃ и GM₃ в крови опухоленосителей является фактором, способствующим подавлению резистентности [1]. Один из возможных механизмов иммуносупрессорного действия ганглиозидов состоит в активации липоксигеназ и биосинтезе эйкозаноидов, которые, как известно, в значительной степени влияют на цитотоксичность НК-клеток (см. напр., [8, 9, 11, 12, 14]). В связи с этим мы изучили влияние ганглиозида GD₃ на метаболизм арахидоновой кислоты в ПМЯЛЧ.

Материал и методика. Получение суспензии ПМЯЛЧ (нейтрофилы-эозинофилы-базофилы, 96:3:1) и примесь тромбоцитов, и также включение [1-¹⁴C]-АК (60 Ки/ммоль, Amersham) в ПМЯЛЧ проводили по описанным методикам [7]. К 6,5 мл суспензии отмытых от свободной [1-¹⁴C]-АК ПМЯЛЧ (40×10⁶ клеток/мл) в буферном растворе (50 мМ трие HCl, 0,1 М NaCl), содержащем АТФ (1 мМ), CaCl₂ (0,5 мМ) и дисодиевую соль ЭДТА (1 мМ), прибавляли 30 мкл 2×10⁻³ М ганглиозида GD₃ в ДМСО. Смесь инкубировали при интенсивном встряхивании 10 мин и добавляли 65 мкл этанольного раствора ионофора А-23187 (Calbiochem, Behring). Конечная концентрация ионофора в инкубационной среде составляла 2 мкМ. В контрольных опытах вместо раствора ганглиозида GD₃ и ионофора добавляли такие же количества соответствующих растворителей. Общая продолжительность инкубации во всех опытах составляла 15 мин. Через 5 мин после добавления ионофора реакцию останавливали прибавлением 15 мл метанола, смесь центрифугировали 10 мин при 4000×g, супернатант отделяли и прибавляли 5 мкл простагландин 13₂ (Institute of Chemistry AN Эст. ССР) в качестве внутреннего стандарта. Раствор фильтровали, выпаривали до объема 6 мл, разбавляли водой до 10 мл (рН 8,0) и пропускали через мембрану с диаметром поров 0,45 мкм с сорбентом Sep-Pac C18 (Waters), предварительно промытым метанолом и водой (по 20 мл). Вещества элюировали 20 мл воды, 5 мл смеси метанол—

вода, LTB₄ — лейкотриен В₄, ННТ — (12 S)-12-гидроксис-5 Z, 8 E, 10 E — гидрокси-триеновая кислота, 5-HETE — (5 S)-5-гидроксис-6 E, 8 Z, 11 Z, 14 Z-гидрокси-тетраеновая кислота, 12-HETE — (12 S)-12-гидроксис-5 Z, 8 Z, 10 E, 14 Z-гидрокси-тетраеновая кислота, 15-HETE — (15 S)-гидроксис-5 Z, 8 Z, 11 Z, 13 E-эйкозатетраеновая кислота, 14 R, 15 S-14, 15-дигидроксис-5 Z, 8 Z, 10 E-эйкозатетраеновая кислота.

вода—уксусная кислота в соотношении 85:15:0,0; (рН 3,5) и 10 мл метанола. Водно-метанольный раствор упаривали до объема 2 мл, подкисляли 1н HCl до pH 3 и экстрагировали 10 мл хлороформа. Хлороформный слой промывали водой, уцаривали досуха, остаток растворяли в 100 мкл этанола и анализировали с помощью обращенно-фазовой ВЭЖХ (LKB-Biochrom) на колонке с гидрофобным сорбентом Lichrosorb-RP18 (5 мкм), используя в качестве подвижной фазы систему метанол—вода—уксусная кислота, 75:25:0,01, рН 3,5. Скорость потока—1 мл/мин, детекция при 280 (12 мин) и 235 нм (20 мин). Собирали фракции по 1 мл, из каждой фракции отбирали пробы по 100 мкл и измеряли в них количество ^{14}C с помощью β -сцинтилляционного счетчика SL-4221 (Rozhke-Bioelectronic). Контроль дробирования метаболитов АК с Sep-Pak проводили с помощью ТСХ на сорбенте в системе хлороформ—метанол—уксусная кислота—вода, 60:8:1:0,8. Пики радиоактивности обнаруживали с помощью радиоавтограмм.

Ганглиозид GD_2 , выделенный из порошкового молока [6], был любезно предоставлен Н. В. Прокопюк (ВКИЦ АМН СССР), метастабильным ганглиозидом—В. П. Шевченко (Институт молекулярной генетики АН СССР). Динамику включения ганглиозида в лейкоциты изучали путем добавления к 10 мл суспензии ПМЯЛЧ 100 мкл раствора $[^3\text{H}]\text{-GD}_2$ (0,1 мКи, 120 Ки/моль—конечная концентрация ганглиозида 10^{-7}M) и отбора на инкубационной среде проб (по 1 мл). Пробы центрифугировали 5 мин при 4000Xg, осадок отмывали буферным раствором (ресуспендирование и повторное центрифугирование) и измеряли в нем радиоактивность.

Результаты и обсуждение. Инкубирование ганглиозида GD_2 с ПМЯЛЧ показало, что его связывание с клетками достигает максимального значения уже через 5 мин после добавления к клеточной суспензии.

При стимуляции ПМЯЛЧ ионофором А-23187 наблюдается резкое увеличение высвобождения АК и усиление биосинтеза эйкозаноидов (табл.). Этот эффект ионофора почти полностью снимается, если

Образование метаболитов $[1\text{--}^{14}\text{C}]\text{-AK}$ (в % к контролю) при стимуляции гранулоцитов ионофором А-23187 в присутствии ганглиозида GD_2 и без него**

Метаболит	Контроль	А-23187	+А-23187
5-НЕТЕ	100	1125 $\pm$ 80	129 $\pm$ 15
12-НЕТЕ	100	750 $\pm$ 4	59 $\pm$ 18
15-НЕТЕ	100	162 $\pm$ 120	225 $\pm$ 31
ННТ	100	200 $\pm$ 20	110 $\pm$ 15
1,13,14-ОНЕТЕ	100	540 $\pm$ 24	260 $\pm$ 21
20-Н-1-ГР ₁	100	259 $\pm$ 43	65 $\pm$ 17
Σ	100	519 $\pm$ 22	92 $\pm$ 7

* Количество образовавшегося метаболита оценивали по радиоактивности в образце (вычисленном при ВЭЖХ) и пересчете на 10^6 клеток (внутренний стандарт—простагландин B_2).

** Приведены усредненные результаты трех параллелей.

*** Суммарная радиоактивность всех метаболитов $[1\text{--}^{14}\text{C}]\text{-AK}$ на 10^6 клеток (в % к контролю).

клетки предварительно обработать ганглиозидом GD_2 . Особенно сильно GD_2 подавляет влияние ионофора на синтез монооксигенослов. Активность циклооксигеназы, о которой судили по количеству образовавшейся ННТ, также значительно ниже того уровня, который наблюдался в отсутствие ганглиозида. Внимания заслуживает также следующее обстоятельство: несмотря на то, что 12-НЕТЕ образуется и при-

сутствии GD_3 приблизительно в таком же количестве (2 пмоль/ 10^5 клеток), как и в среде без ганглиозидов, радиоактивной метки во фракции 12-НЕТЕ в несколько сотен раз меньше. Этот любопытный факт приводит к выводу, что ганглиозид GD_3 блокирует действие ионифора А-23187 на внутриклеточные источники $[1-^{14}C]$ АК в значительно большей степени, чем высвобождение АК из эндогенных источников, не содержащих радиоактивной метки.

Таким образом, в присутствии ганглиозидов GD_3 подавляется стимулированное ионифором образование монооксикислот, в частности, 5-НЕТЕ, предшественник которой—5-НРЕТЕ является стимулятором НК-клеток [8]. Возможно, что эффект GD_3 и лежит в основе его супрессорного действия на неспецифический иммунитет.

Авторы выражают глубокую признательность чл.-корр. АН СССР Л. Д. Бергельсону за плодотворное обсуждение работы и ценные замечания при подготовке статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дятловицкая Э. В., Бергельсон Л. Д. Успехи совр. биол., 102, 5, 763—784, 1986.
2. Дятловицкая Э. В., Фомина-Агеева Е. В., Бергельсон Л. Д. ДАН СССР, 271, 1511—1513, 1983.
3. Дятловицкая Э. В., Синицина Е. В., Лемновская А. Ф., Бергельсон Л. Д. Биохимия, 49, 432—436, 1984.
4. Дятловицкая Э. В., Ключарева Т. Е., Матвеева В. А., Бергельсон Л. Д. Биохимия, 50, 1514—1516, 1985.
5. Дятловицкая Э. В., Сускова В. С., Емец В. И., Бергельсон Л. Д. ДАН СССР, 288, 1497—1499, 1986.
6. Дятловицкая Э. В., Ахмед-Заде А. Прием биол. и микробол., 14, 399—401, 1983.
7. Пакосян А. Г. Биоорганическая химия, 11, 264—269, 1985.
8. Bray R. A., Brahm Z. J. Immunol., 139, 1783—1790, 1985.
9. Goodwin J. S., Ceuppens J. J. Clin. Immunol., 3, 297—315, 1983.
10. Nakomori S. Ann. Rev. Biochem., 50, 733—764, 1981.
11. Ramstedt U., He J., Wigzell H., Sjöberg C. N., Samuelsson E. J. Immunol., 135, 3134—3138, 1985.
12. Rola-Pleszczynski M., Dargatzis I., Sirois P. Biochem. Biophys. Res. Commun., 113, 531—537, 1983.
13. Shaposhnikova G. I., Pechasova N. V., Buznikov G. A., Zvezdina N. P., Topilina N. A., Bergelson L. D. Eur. J. Biochem., 149, 567—570, 1985.
14. Webb D. R., Nowowiejski L., Healy C., Rogers I. J. Biochem. Biophys. Res. Commun., 104, 1617—1624, 1982.
15. Young W. W., Bergman C. A., Wollock D. M. J. Biol. Chem., 261, 2279—2284.

Поступило 29.VI 1988 г.

ВЛИЯНИЕ АНТИМУТАГЕНОВ ОА-5965 и ПЕ-2590 НА АКТИВНОСТЬ ЛИПОКСИГЕНАЗЫ СОЕВЫХ БОБОВ. РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КРЫС И ТОРМОЖЕНИЕ РОСТА САРКОМЫ-45

А. Г. ПАНОСЯН, М. Н. ЛЕБЕДЕВА, К. В. ГЕВОНДЯН, С. А. ПАПОЯН

Институт медицинской радиологии МЗ АрмССР, Ереван

Показано, что антимутагены ОА-5965 и ПЕ-2590 ингибируют окисление арахидоновой кислоты в 15-гидропероксиэйкозатетраеновую кислоту липоксигеназой соевых бобов. Оба соединения увеличивают радиочувствительность крыс при облучении, что подтверждает предположение о том, что активации липоксигеназ—адаптивная реакция организма на действие ионизирующего излучения. ПЕ-2590 сдерживает подавление роста саркомы-45 рентгеновскими лучами.

Ցույց է տրված, որ ՕԱ—5965 և ՊԵ—2590 խիտացնում են ախաի ռեպիդի օքսիդացումը 15-հիդրոպերօքսիէյկօզատետրաէնօւթի՝ յիւնի 15—հիդրօքսիպերօքսիէյկօզատետրաէնօւթի օքսիդացման ինիցիատօրը եւ խանգարում է յիւնի յիմարօքսիդացումը և ճառագայթաճարման ժամանակ ժնձաղետի և առատների օքսիդացումները, որը հաստատում է այն ենթադրությունը, որ յիպօքսիդացիայի ակտիվացումը օրգանիզմի ադապտիվ ռեակցիան է իոնացնող ճառագայթների ազդեցության նկատմամբ: ՊԵ—2590-ը կասեցնում է սննդակների ճառագայթների ճարձիկ առկումա—45-ի աճի արգելանքը:

It was shown that antimutagens OA—5965 and PE—2590 inhibit arachidonic acid oxidation into the 15—hydroperoxyeicosatetraenoic acid by soy-bean lipoxygenase. Both of them enhance rad-sensitivity of rats, which proves the assumption that activation of lipoxygenases is an adaptive reaction of organism to the action of ionizing radiation. PE—2590 reduces the X-rays induced suppression of sarcoma—45 growth.

Липоксигеназа—радиочувствительность—опухоль.

Известно, что ионизирующее излучение приводит к гибели клеток и подавляет их пролиферацию [12]. Его действие на деление клеток и их дифференциацию приводит к хромосомным нарушениям (мутациям), нарушениям дифференциации эмбриональных клеток (тератогенезу) и неопластической трансформации клеток (канцерогенезу) [12].

В последние годы стало известно, что в эти процессы активно вовлечены эйкозаноиды [9]. Простагландин E_1 и тромбоксан A_2 проявляют антимутагенное действие, предотвращая вызываемое γ -облучением повреждение ДНК лимфоцитов и клеток костного мозга [7]. Простагландины E_2 , D_2 и I_2 подавляют пролиферацию и синтез ДНК гладкомышечных клеток сосудов [6, 14], простагландин $F_{2\alpha}$, наоборот, активизирует эти процессы [6]. Простациклин является сильным антиметастатиком [10]. 12-НЕТЕ—ингибитор биосинтеза простациклина—ингибирует пролиферацию гладкомышечных клеток и клеток нейробластомы [15]. Вместе с тем известно, что ингибиторы 12-липоксигеназы эпидермиса замедляют рост опухолей, вызываемый канцерогена-

Сокращения: НЕТЕ—гидроксиэйкозатетраеновая кислота, ПНЕТЕ—гидропероксиэйкозатетраеновая кислота.

ми [13]. Лейкотриены также являются промоторами пролиферации эндотелия и эпителия [11], они стимулируют синтез ДНК в культуре эпидермальных кератиноцитов [11]. 15-НРЕТЕ, наоборот, ингибирует митогенез лимфоцитов [8].

Нами было изучено влияние двух новых соединений—ОА-5965 и ПЕ-2590, проявляющих антимуtagenную активность [1, 2], на образование 15-НРЕТЕ (кислением арахидоновой кислоты изолированным ферментом липоксигеназы соевых бобов) и выживаемость крыс при облучении.

Материал и методика. Инкубацию арахидоновой кислоты с липоксигеназой соевых бобов проводили по несколько измененной методике, описанной в работе [5]. К 20 мкл водного или этанольного раствора (10^{-4} М) ПЕ-2590 и ОА-5965 соответственно прибавляли 2 мл $1/15$ М фосфатного буфера, рН 7,4, 50 мкл раствора липоксигеназы соевых бобов (1 мг/мл, 123500 е. е.) и 1 мл 1 мМ раствора (этанол—фосфатный буфер, 1:29) арахидоновой кислоты. Смесь инкубировали при 25° в течение 10 мин. Реакцию останавливали добавлением 1,5 мл 1N HCl, прибавляли 1 мкг простагландины B_2 (100 мкл этанольного раствора, 0,01 мг/мл) и экстрагировали 20 мл хлороформа, хлороформ промывали водой, упаривали досуха, остаток растворяли в 100 мкл метанола и анализировали с помощью ВЭЖХ на колонке 259X4 мм с Liсhrosorb RP-18, 5 мкм. Система растворителей: метанол—вода—уксусная кислота, 78:22:0,01; 1 мл/мин. Детекция—280 нм (5 мин, ПГВ₂) и 235 нм (Р—20 мин, 15-НРЕТЕ).

Опыты с облучением проводили на белых беспородных крысах массой 160—180 г с помощью аппарата РММ-17 (0,5 мм Св, 1 мм Al, кожно-фокусное расстояние—60 см, 30 р/мин).

Результаты и обсуждение. Как видно из табл. 1 и 2, оба соединения ингибируют образование 15-НРЕТЕ и увеличивают радиочувствительность крыс при облучении. Это, возможно, связано с подавлением биосинтеза эйкозаноидов, активация которого является, по-видимому, компенсаторной реакцией организма на действие ионизирующего излучения [3].

Таблица 1 Влияние ОА-5965 и ПЕ-2590 на образование 15-НРЕТЕ, % к контролю

Соединение	Концентрация, М			
	Контроль	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
ОА-5965	100	—	—	13,8*
ПЕ-2590	100	20,3*	11,0*	2,0*

* $p < 0,05$

Радиосенсибилизирующее действие исследуемых соединений могло бы быть полезным, если бы оно проявилось с большей селективностью к опухолевым клеткам, которые, как известно, более чувствительны к ионизирующему излучению.

С этой целью мы изучили влияние ПЕ-2590 на процесс торможения роста саркомы-45 рентгеновскими лучами (табл. 3). Как видно из табл. 3, ПЕ-2590 сдерживает торможение роста опухоли рентгеновскими лучами, что свидетельствует о неспецифичности действия ПЕ-2590 на опухолевые клетки.

Таблица 2. Влияние ОА-5965 и ПЕ-2590 на выживаемость и среднюю продолжительность жизни крыс при облучении

Группа животных воздействие	Количество животных	Доза об- лучения, мг/крысу	Средний вес живот- ных, г	Доза облу- чения, Гр	ЛД ₅₀ неце- ства, мг/кг	Выжива- емость, %	Средняя продолжи- тельность жизни, дни
Биоконтроль	50	—	160—180	—	—	100	30
Контроль облучения	50	—	160—180	5.25	—	58	23.2
ПЕ-2590 + облучение	50	2.125	160—180	5.25	3000	26	15.2
ПЕ-2590 + облучение	50	8.5	160—180	5.25	3000	16	13.6
ОА-5965 + облучение	50	15	160—180	5.25	2200	23	17.8
ОА-5965 + облучение	50	60	160—180	5.25	2200	40	18.7

Такой эффект может быть связан как с подавлением биосинтеза 15-НРЕТЕ—ингибитора митогенеза лимфоцитов, так и с подавлением образования других продуктов липоксигеназного окисления арахидоно-вой кислоты, в частности, 12-НРЕТЕ—ингибитора роста опухолевых кле-ток [15].

Таблица 3. Влияние ПЕ-2590 на торможение роста саркомы-45 крыс при действии рентгеновских лучей*

Группа животных	Воздействие	Число жи- вотных	Доза излу- чения, Р	Средняя масса жи- вотных, г	Доза ПЕ-2590, мг/крысу	Площадь поверхности опухоли, см ²	Торможе- ние роста опухоли, Т (%)	Достовер- ность, Р
1	Биоконтроль	10	5	100	160—180	—	—	—
2	Саркома-45	10	5	100	160—180	—	—	—
3	Саркома-45, об- лучение	10	5	100	160—180	4.59±0.59	0	—
4	Саркома-45, об- лучение, ПЕ-2590	10	5	100	160—180	2.71±0.50	41.2	0.05
5	Саркома-45, об- лучение, ПЕ-2590	10	5	100	160—180	4.28±0.42	6.7	0.05
						3.43±0.42	25.3	0.05

* Крысы подвергали местному облучению, воздействуя на опухоль рентгеновским излучением, начиная с 11 дня после прививки саркомы-45. За две до облучения животным 4 и 5 групп перорально вводили 0,5 мл водного раствора ПЕ-2590. Контрольные измерения проводили через 5 дней со дня начала лучевой терапии.

Таким образом, представление о том, что ингибиторы липоксигеназы могут быть эффективными агентами, тормозящими рост опухоли [4], не носит универсального характера.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бартанян С. А., Аюбян Т. Р., Нароникян Е. Г. и др. Авт. свид. № 784266. 1.8.1980.
2. Нораян А. С., Оганесян А. Ш., Аветисян Г. М. и др. Авт. свид. № 1287522. 1.9.1986.
3. Никосян А. Г., Джинналян К. О., Гевондян К. В. и др. Радиобиология, 27, 6, 770—775, 1987.
4. Bailey J. M., Bryant R., Low C. et al. Cell Immunol., 67, 112—120, 1982.
5. Beneytout J. L., Brunrand A., Allais D. et al. Prostaglandins, 31, 535—544, 1986.
6. Cornicelli D. G., Hattner J. J., Milo G. E. et al. Lipids, 14, 194—202, 1983.
7. Das E. N., Ramu Devi G., Rao K. P., Rao M. S. Prostaglandins, 29, 911—920, 1985.
8. Gaulde N., Rabinovitch H., Fredon M., Rigaud M. Eur. J. Immunol., 12, 773—777, 1982.

9. Hayaishi O., Yamamoto S. *Advances in Prostaglandin, Thromboxane and Leukotriene Research*, 15, N. - Y., Raven Press, 1987.
10. Honn K., Glone B., Scoff A. *Science*, 212, 1270—1272, 1980.
11. Kragballe K., Desjarlais L., Voorhees J. J. *Brit. J. Dermatol.*, 113, 43—49, 1985.
12. Livesey J. C., Reed D. J., Adamson L. F. *Radiation Protective Drugs and their Reaction Mechanisms*, Park Ridge, New Jersey, Noyes Publications, 146, 1985.
13. Nakadate T., Aizy E., Yamamoto S., Kato R. *Prostaglandins*, 39, 357—369, 1985.
14. Drekhov A. N., Pertov V. V., Kadryashov S. A. *et al.* *Atherosclerosis*, 60, 101—110, 1986.
15. Smith D. L., Willis A. L., Mahmud I. *Prostagl. Leukotr. Med.*, 16, 1—10, 1984.

Поступило 29.VI 1988 г

Биол. ж. Армении, № 1, (42), 1989

УДК 577.352.352.316:612.111:612.014.462.4

ЭФФЕКТЫ АНТИОКСИДАНТОВ И ИНГИБИТОРОВ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ НА ИНДУЦИРОВАННЫЕ ОБМЕННЫЕ ПОТОКИ K^+ И H^+ В ЭРИТРОЦИТАХ

А. В. ГЮНЬХАНДЖЯН

Ереванский филиал Всесоюзного научного центра хирургии АМН СССР

При активировании Ca^{2+} -зависимого калиевого канала эритроцитов человека β -блокатором обзиданом ингибиторы митохондриальных процессов олигомัยцин, ДЦКД, антимицин, ингибитор НАДН-дегидрогеназы плазматических мембран атебрин, антиоксидант ионол (но не α -токоферол) в большей степени подавляют скорости выхода K^+ и входа H^+ . При индуцировании калиевого канала Ca^{2+} -ионофором А23187 ингибирующее действие олигомыйцина, ДЦКД и антимицина менее выражено; ионол и атебрин увеличивают, а α -токоферол уменьшает утечку K^+ . Обсуждаются механизмы влияния этих соединений на Ca^{2+} -зависимый транспорт K^+ в эритроцитах.

Մարդկային էրիթրոցիտներում β -բլոկատոր օբզիդանով Ca^{2+} —կախված կալիումի կանալի ակտիվացման ժամանակ միտոքոնդրիալ պրոցեսների ինհիբիտորներն օլիգոմայցին, ԴԶԿԴ-ն, անտիմիցինը, պլազմատիկ մեմբրանների ՆԱԴԽ—զինդրոգենազայի ինհիբիտոր ատեբրինը, անտիօքսիդանտ իոնոլը (բայց ոչ α -տոկոֆերոլը) մեծ չափով ճնշում են K^+ -ի ելքի և H^+ -մուտքի արագությունները: Ca^{2+} -իոնոֆոր Ա23187-ով կալիումի կանալի ինդուցման դեպքում օլիգոմայցին, ԴԶԿԴ-ի և անտիմիցինի ինհիբիտորային ազդեցությունը արտահայտված է ավելի պակաս, իսկ ատեբրինը ավելացնում է, իսկ α -տոկոֆերոլը նվազեցնում է K^+ -ի դուրս մղումը: Քննարկվում է այդ ելույթների ազդեցության մեխանիզմը Ca^{2+} -կախված K^+ -ի արանագորտի վրա էրիթրոցիտներում:

By β -blocker obsidan activation of Ca^{2+} -dependent K^+ channel of human erythrocytes, the inhibitors of energetic processes oligomycin, DCCD, antimycin, inhibitor of plasma membrane NADH-dehydrogenase atebrian, antioxidant ionol (but not α -tocopherol) oppress in great degree the rates of K^+ efflux and H^+ influx. By Ca^{2+} -ionophore A23187 induction of K^+ channel the inhibitory effect of oligomycin, DCCD and antimycin is

Сокращения: ДЦКД—N, N'-дидецилогексилкарбодимид, НАДН-никотинамид-адениндинуклеотид восстановленный.

less expressed. Ionol and atebtrin increase the loss of K^+ , and α -tocopherol reduces it. The mechanisms of effect of these compounds on Ca^{2+} -dependent K^+ transport in erythrocytes are discussed.

Эритроциты—обзидан— Ca^{2+} -ионофор A23187— Ca^{2+} -зависимый калиевый канал—ингибиторы энергетических процессов—антиоксиданты.

Известно, что ионофор двухвалентных катионов A23187 и β -блокатор пропранолол (обзидан), увеличивая количество Ca^{2+} в цитоплазме, активируют Ca^{2+} -зависимый калиевый канал в эритроцитах [10, 11, 13, 17, 19—21, 23, 24]. Было отмечено, что ингибиторы энергетических процессов митохондрий олигомицина и антимицина уменьшают стимулируемую как A23187, так и пропранололом утечку K^+ из эритроцитов [19, 24]. В литературе имеются данные о влиянии ингибитора дыхания и окислительного фосфорилирования и антиоксиданта ионола на выход K^+ из митохондрий, индуцированный фосфатом и ионами железа [3] или снижением pH среды инкубации [1, 5]. В этих работах постулируется взаимосвязь систем индукции ионного транспорта митохондрий с системой окислительного фосфорилирования и с реакциями перекисного окисления и гидролиза фосфолипидов. Για эритроцитах же, помимо олигомицина и антимицина, не изучено влияние других ингибиторов энергетического метаболизма, а также антиоксидантов на вызываемые как пропранололом, так и ионофором A23187 калиевые потоки через мембрану. Не выяснено, сопровождается ли процесс выхода K^+ из клетки движением других ионов, например, H^+ , и как действуют ингибиторы энергетических процессов и антиоксиданты на протонные потоки. Между тем анализ действия этих соединений на калиевую и протонную проницаемости может дать информацию о механизмах перераспределения ионов в эритроцитах и о структурах, вовлеченных в ионный транспорт.

В настоящей работе мы исследовали влияние ингибиторов энергетических процессов митохондрий олигомицина, ДЦКД, антимицина, цинаида и азила, ингибитора НАДН-дегидрогеназы плазматических мембран атетбринна [7], антиоксидантов ионола и α -токоферола на K^+ - H^+ обмен в эритроцитах человека, инкубируемых в присутствии Ca^{2+} с A23187 или обзиданом. Для сравнения проверено действие этих же соединений на выход K^+ , индуцируемый переносчиком K^+ валиномицином, т. е. в условиях, когда транспорт K^+ не зависит от концентрации Ca^{2+} в цитоплазме.

Материал и методы. Эритроциты выделяли из смеси гепаринизированной крови практически здоровых людей центрифугированием. Затем клетки два раза промывали в 150 мМ NaCl.

Измерения концентрации K^+ и H^+ в суспензии эритроцитов изучали с помощью K^+ - («Стутиг», ЧССР)—и H^+ - (Radiometer, Дания)—селективных электродов, соединенных в одной ячейке и подключенных через милливольтметр к самописцам.

Мембранный потенциал эритроцитов (ΔE) определяли по методу, основанному на измерении pH интробуферной суспензии после стабилизации электрода (pH_{ex}) и pH внутри клетки (pH_{in}) [12] в последующем вычислении по формуле Нернста $\Delta E = -59 \Delta pH$, где $\Delta pH = pH_{ex} - pH_{in}$. pH_{ex} измеряли, варьируя NaCl в среде инкубации. Например, при 150 мМ NaCl в среде pH_{ex} составляет около 7,4, а $\Delta E = 11 - 12$ мВ;

при 50 мМ NaCl и 200 мМ сахаразы среднее значение pH_{ex} приблизительно равно 6,93, а $\Delta E = +12 \div +13$ мВ. pH_i оценивали, вызывая гемолиз клеток сапонином [25].

Скорость выхода K^+ , наблюдаемую в течение 15 мин, выражали в ммоль/л мин на л эритроцитов.

Для опытов использовали A23187 («Calbiochem»), обзидан («Изис-Хем», ГДР), олигомицин, ДЦКД, антимицин, валиномицин, ионол (4-метил-2,6-дитрбтилфенол), N-этилмалеимид («Serva»), азид, цизид («Sigma») и реактивы советского производства классификации «о.с.ч.» или «х.ч.». Атебрин был любезно предоставлен в Институте эпидемиологии, вирусологии и медицинской паразитологии МЗ АриССР.

Результаты и обсуждение. На рис. 1 показана типичная картина влияния ДЦКД (олигомицина, антимицина) на Ca^{2+} -зависимый калиевый канал, активируемый обзиданом. Отметим, что выход K^+ из эритроцитов в присутствии обзидана сопряжен со входом протонов внутрь. Скорость выхода K^+ с 3,08 ммоль/мин-л в контроле (рис. 1 А) снижается до 0,35 ммоль/мин-л (рис. 1 Б), т. е. ДЦКД почти на 90% ингибирует выходящий калиевый поток. Вход H^+ внутрь при этом полностью подавляется.

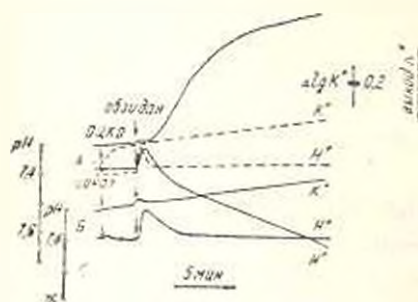


Рис. 1. Ингибирование индуцируемого обзиданом K^+ - H^+ обмена в эритроцитах ДЦКД и ионолом. 0,1 мл плазмы отцентрифугированных клеток внесено в 3 мл среды, содержащей 150 мМ NaCl, 0,1 мМ KCl и 1 мМ $CaCl_2$. А (—) — через 10 мин инкубации добавлено 0,2 мМ обзидана; (---) — кроме обзидана внесено 66 мкМ ДЦКД. Б — помимо обзидана присутствует 0,1 мМ ионола. $t = 25^\circ$.

В таблице показаны результаты действия ингибиторов энергетического метаболизма митохондрий, атебрина, антиоксидантов и SH-ре-

Влияние исследуемых соединений на K^+ - H^+ -обмен, индуцируемый разными способами

Исследуемые соединения	Обзидан (0,2 мМ)		A23187 (6,6 мкМ)		Валиномицин (0,6 мкМ)	
	K^+	H^+	K^+	H^+	K^+	H^+
Олигомицин (13,3 мкМ)	$+73 \pm 2,5$	$+100 \pm 0$	$+23 \pm 4$	-55 ± 6	$+5 \pm 4$	-20 ± 10
ДЦКД (66 мкМ)	$+88 \pm 1$	$+100 \pm 0$	$+24,5 \pm 6$	$62 \pm 14,5$	$+5 \pm 4,5$	-10 ± 9
Антимицин (18 мкМ)	$+88 \pm 12$	$+100 \pm 1$	$+45 \pm 8$	$+30 \pm 12$	$+50 \pm 10$	-74 ± 30
Атебрин (0,25 мМ)	$+66 \pm 3,5$	$+100 \pm 0$	$+21 \pm 13$	$+31 \pm 2$	-32 ± 16	$+7 \pm 5$
N-этилмалеимид (0,2 мМ)	$+92 \pm 1$	$+100 \pm 0$	-6 ± 3	$+7 \pm 5$	$+3 \pm 2$	0 ± 0
Ионол (0,1 мМ)	$+66,5 \pm 15$	$+93,5 \pm 4$	-32 ± 6	-73 ± 29	-70 ± 18	-110 ± 10
α-Токоферол (0,1 мМ)	$+9 \pm 1$	$+10 \pm 1$	$+63 \pm 5$	$+100 \pm 0$	$+64 \pm 2$	$+100 \pm 0$

* Показан процент ингибирования (+) или активации (—) по отношению к контролю. Среда инкубации и температура те же, что и в подписи под рис. 1 только в среде с ионолом и A23187 $t = 19^\circ$. Даны средние результаты 3—5 измерений.

агента N-этилмалеимида на индуцируемые обзиданом, A23187 и валиномицином обменные потоки K^+ и H^+ . Необходимо сказать, что во всех этих случаях потоки K^+ и H^+ не скомпенсированы. Количество вышедшего K^+ всегда превышает количество протонов, вошедших внутрь. Очевидно, электронейтральность сохраняется за счет симпорта вместе с K^+ анионов, скорее всего Cl^- .

Из таблицы видно, что при стимуляции кальевого канала A23187 уменьшение скорости выхода K^+ и входа H^+ под действием митохондриальных ингибиторов и N-этилмалеимида менее выражено, чем в случае с обзиданом. Влияние олгномицина, ДЦКД и N-этилмалеимида на транспорт K^+ , индуцируемый валиномицином, также незначительно или практически отсутствует. Антимицин же ингибирует выток K^+ , но вход H^+ внутрь при этом даже усиливается.

Атебрин угнетает сопряженный K^+ - H^+ -обмен в присутствии обзидана, но усиливает скорость вытока K^+ , стимулируемого как A23187, так и валиномицином (табл.). При этом скорость входа H^+ или подавляется (в случае с A23187) или не изменяется (в случае с валиномицином).

Отметим, что добавление водорастворимых ингибиторов метаболизма цианида и азиды в обычно используемых концентрациях (1 мМ) не отражается на кинетике транспорта K^+ , вызванного указанными выше способами.

Весьма интересный эффект оказывают на перераспределение ионных потоков антиоксиданты. Если при индуцировании выхода K^+ A23187 и контроле (рис. 2 А) скорость утечки K^+ равна 2,37 ммоль/мин/л, то α -токоферол (0,1 мМ) доводит эту скорость до 0,76 ммоль/мин/л (рис. 2 Б), т. е. ингибирует почти на 70%. При увеличении концентрации α -токоферола до 1 мМ степень торможения скорости практически не изменяется. Противоположное действие оказывает ионол (рис. 2А). Даже концентрация 0,06 мМ вызывает увеличение выхода K^+ на 25% и существенно усиливает вход внутрь протонов. Отметим, что это действие ионола проявляется лишь при температурах ниже 20°. С увеличением температуры, в условиях, представленных на рис. 2, ионол перестает влиять на скорость вытока K^+ , скорость же входа H^+ даже уменьшается.

Способности ионола увеличивать обменные потоки K^+ и H^+ даже при температурах выше 20° четко выражена при сдвиге мембранного потенциала в сторону положительных значений и уменьшении количества Ca^{2+} в среде инкубации (рис. 3). Если при 150 мМ NaCl в среде ($\Delta E \approx -12$ мВ) ионол увеличивает скорость выхода K^+ на 35% (рис. 3 А), то при 50 мМ NaCl ($\Delta E \approx +13$ мВ) в 5 раз (рис. 3 Б). Увеличение K^+ - H^+ -обмена ионолом наблюдается при положительном мембранном потенциале и температурах выше 20° и 1 мМ Ca^{2+} в среде.

В случае с валиномицином α -токоферол предотвращает, а ионол активирует K^+ - H^+ -обмен даже при температурах выше 20° (табл.)

Эти же антиоксиданты несколько иначе действуют на транспорт ионов и присутствии обзидана. Если ионол подавляет выход K^+ и вход H^+ (рис. 1 Б), то α -токоферол весьма слабо затрагивает потоки K^+ и H^+ (табл.).

В чем же причина столь разного действия исследуемых соединений на транспорт K^+ и H^+ , индуцированный вышеуказанными способами?

Возможно, что α -токоферол, встраиваясь в мембрану эритроцитов, способен за счет длинной изопреноидной цепи стабилизировать липидный бислой [8, 9], ограничивая подвижность переносчика Ca^{2+} (A23187) или K^+ (валяномидин) и тем самым ингибируя выток K^+ . Ионов же, очевидно, подобным структурирующим эффектом не обладает. Скорее всего, он вызывает нарушение упаковки фосфолипидного бислая.

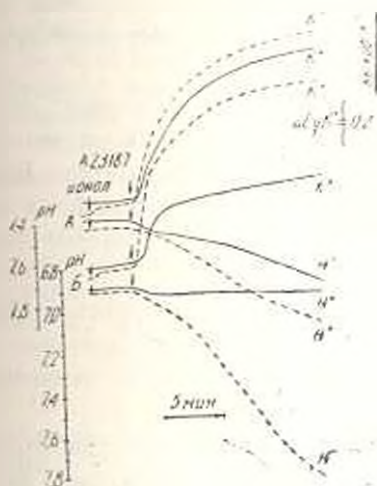


Рис. 2.

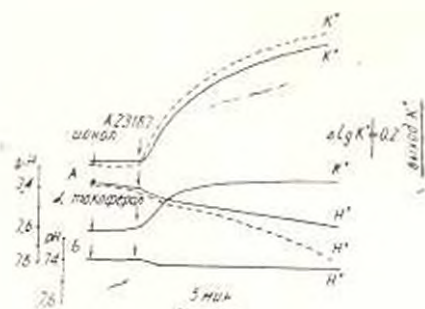


Рис. 3.

Рис. 2. Действие антиоксидантов на кинетику вытока K^+ и входа H^+ в эритроцитах в присутствии A23187. Условия инкубации те же, что и в подписи под рис. 1. А (—) — добавлено 6,6 мкМ A23187; (---) — кроме A23187 внесено 0,06 мМ ионола. Б — помимо A23187 добавлено 0,1 мМ α -токоферола. 1—19°.

Рис. 3. Влияние изменения мембранного потенциала эритроцитов на индуцированные A23187 потоки K^+ и H^+ в присутствии ионола. А — 0,1 мл плотно отцентрифугированных клеток внесено в 3 мл среды инкубации, содержащей 150 мМ NaCl, 0,1 мМ KCl и 0,1 мМ $CaCl_2$. Б — 0,1 мл клеток внесено в 3 мл среды, содержащей 50 мМ NaCl, 200 мМ сахаразы, 0,1 мМ KCl и 0,1 мМ $CaCl_2$. Во всех случаях добавлено 6,6 мкМ A23187. Пунктирными линиями отмечены опыты, в которых присутствует 0,1 мМ ионола, $t=25^\circ$.

Известно, что с понижением pH водной фазы в интервале от 7,5 до 5,5 ионифор A23187 резко уменьшает экстракцию Ca^{2+} из водной в органическую фазу [16]. Поскольку, как было отмечено выше, при изменении ΔE в сторону положительных значений происходит подкисление среды инкубации, то уменьшение выхода K^+ из эритроцитов (рис. 3Б) объясняется понижением количества внутриклеточного Ca^{2+} . Можно предположить, что ионол в присутствии A23187 и 0,1 мМ Ca^{2+} трансформирует эритроциты, что и приводит к увеличению входа Ca^{2+} в цитоплазму и, таким образом, к усилению обменных потоков K^+ и H^+ . Добавим, что в работе [2] была выявлена способность ионола вызывать изменение формы эритроцитов. Наряду с этим, при более кислых

pH среды инкубации увеличение трансмембранного градиента концентрации протонов в свою очередь может вызвать дополнительное увеличение входа внутрь H^+ и, соответственно, выхода K^+ .

При отрицательных же ДЕ, когда рН_{вн} порядка 7.4 и вход Ca^{2+} в эритроциты увеличен, концентрация Ca^{2+} , равная 1 мМ, может сама по себе приводить к трансформации эритроцитов. Возможно, в этом случае (при $I > 20$) вход внутрь H^+ уменьшается за счет активации ионным каналом дополнительного выхода Cl^- . При этом выток K^+ не изменяется. При температурах же ниже 20° структура липидного бислоя несколько «заморожена» и усиление выхода K^+ и входа H^+ даже при концентрации Ca^{2+} , равной 1 мМ, можно объяснить дестабилизирующим действием холода.

Увеличение поволом индуцируемого валиномицином ионного обмена (табл.), возможно, происходит также из-за усиления протонной проницаемости мембран вследствие трансформации эритроцитов. Весьма необычное действие антимицина, который угнетает выток K^+ и при этом усиливает вход внутрь протонов, может быть обусловлено ингибированием транспорта Cl^- .

Действие же атетрина, который, как и холода, стимулирует индуцируемую А23187 и валиномицином утечку K^+ , но ингибирует или не влияет на вход протонов, очевидно, является результатом активации выхода Cl^- .

Механизм переноса Ca^{2+} в клетки под действием пропранолола в настоящее время не вполне ясен. Есть данные, что β -блокаторы ингибируют кальмодулин-активируемую Ca^{2+} -АТФазу эритроцитов [14], вследствие чего и увеличивается приток Ca^{2+} в клетки. Незначительное влияние α -токоферола на выток K^+ можно объяснить тем, что этот антиоксидант не затрагивает структуры, формирующие калиевый канал. Отметим, что пропранолол вызывает изменения в липидном матриксе эритроцитов, которые происходят при участии белков и кислых фосфолипидов [18]. Можно полагать, что ингибирующее действие холода, олигомицина, ДЦКД, антимицина и атетрина обусловлено их взаимодействием с липид-белковыми комплексами, обладающими способностью регулировать Ca^{2+} -зависимый транспорт K^+ . (Подобным образом могут действовать и олигомицин, ДЦКД и антимицин при индуцировании ионных потоков А23187, хотя тут возможны и другие эффекты ионофора на проницаемость, вследствие чего ингибирующее действие менее выражено). Не исключено, что в состав этих структур входят окислительно-восстановительные ферменты, имеющие тиоловые группы. Известно, что и олигомицин, и ДЦКД, помимо ингибирования H^+ -АТФазы митохондрий, могут связываться с НАДН-дегидрогеназой [4, 22]. Антимицин же ингибирует в митохондриях перенос электронов на участке от цитохрома *b* к цитохриму *c* [4]. В эритроцитах же были обнаружены НАДН-дегидрогеназная активность [15, 26] и наличие в мембране цитохрома *b* [6]. Отметим также, что все вышеперечисленные ингибиторы, подавляющие Ca^{2+} -зависимый выход K^+ , стимулируемый пропранололом, обладают большой гидрофобностью и несут в своем составе циклические структуры.

Таким образом, можно прийти к выводу, что механизм влияния ингибиторов энергетического метаболизма и антиоксидантов на выток K^+ , стимулируемый активаторами Ca^{2+} -зависимых калиевых каналов и переносчиком K^+ , может иметь различную природу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Драгунова С. Ф., Новгородов С. А., Шарышев А. А., Ягужинский Л. С. Биохимия, 46, 1242—1248, 1981.
2. Исаков И. И., Королев Н. П., Селин Б. К., Лал В., Вундерлих Э., Пликет Ф. Научн. докл. высш. шк. Биол. науки, 5, 35—40, 1986.
3. Кудзика Л. Ю., Юрков Н. С., Полтева Н. А., Евтодиченко Ю. В., Кондрашова М. Н. Биохимия, 2, 154—159, 1979.
4. Мецлер Д. Биохимия, 2, М., 1980.
5. Новгородов С. А., Маршанский В. Н., Ягужинский Л. С. Биохимия, 49, 185—192, 1984.
6. Bruder G., Bretsher A., Franke W. W., Jarosh E. D. Biochim. Biophys. Acta, 600, 739—755, 1980.
7. Crane F. B., Low H. FEBS Lett., 68, 153—156, 1976.
8. Diplock A. T. Acta Vitaminol. Enzymol., 4, 303—301, 1982.
9. Diplock A. T., Lucy J. A. FEBS Lett., 25, 201—210, 1973.
10. Lake W., Rasmussen H., Goodman D. B. P. J. Membrane Biol., 32, 93—113, 1977.
11. Lew V. L., Simonsen L. O. J. Physiol. (Gr. Brit.), 318, 69, 1980.
12. Macey R. L., Adorante J. S., Orme F. W. Biochim. Biophys. Acta, 512, 284—295, 1978.
13. Manninen V. Acta Physiol. Scand. Suppl., 355, 1—76, 1970.
14. Meltzer H. L., Kassir S. Biochim. Biophys. Acta, 755, 452—456, 1983.
15. Miner C., Lopes-Burillo S., Garcia-Sancho J., Herreros B. Biochim. Biophys. Acta, 727, 266—272, 1983.
16. Pfeiffer D. R., Taylor R. W., Lardy H. A. Ann. New York Acad. Sci., 307, 402—423, 1979.
17. Reed P. W. J. Biol. Chem., 256, 3489—3493, 1976.
18. Rogers J. A., Fetageri G. V. Biochem. Pharmacol., 35, 2259—2261, 1986.
19. Sanchez A., Garcia-Sancho J., Herreros B. FEBS Lett., 110, 65—68, 1980.
20. Sarcadi B., Gardos G. In: The enzymes of biological membranes Ed. A. N. Martonosi. New York, London, Plenum Press, 3, 193—204, 1985.
21. Sarcadi B., Szasz J., Gardos G. J. Membrane Biol., 26, 357—370, 1976.
22. Sollaz M. Trends in Biochem. Sci., 9, 309—312, 1984.
23. Stampe F., Vestergaard-Bogind B. Biochim. Biophys. Acta, 815, 313—321, 1985.
24. Szasz J., Sarcadi B., Gardos G. J. Membrane Biol., 35, 75—93, 1977.
25. Vestergaard-Bogind B., Bennecon P. Biochim. Biophys. Acta, 688, 37—44, 1982.
26. Zamudio J., Cellino M., Canessa-Fisher M. Arch. Biochem. Biophys., 129, 336—345, 1969.

Поступило 30.IX 1988 г.

СТАБИЛИЗАЦИЯ БИСЛОЙНЫХ ЛИПИДНЫХ МЕМБРАН МЕСТНЫМИ АНЕСТЕТИКАМИ

Л. Г. МИКАЕЛЯН, А. К. КАРАПЕТЯН

Ереванский физический институт ГКАЭ СССР

На основании экспериментальных кривых $\lg \tau \sim 1/U$, а также значений поверхностного натяжения и удельной электрической емкости БЛМ из общих липидов мозга и яичного фосфатидилэтаноламина вычислены значения линейного натяжения кромки поры γ , характеризующего устойчивость БЛМ в электрическом поле в теории электрического пробоя мембран. Показано, что МА, тримеканин, пропранолол и бензоканин стабилизируют структуру БЛМ, увеличивая γ . Предполагается, что аналогичный механизм лежит в основе стабилизирующего действия АЛС на биологические мембраны.

$\lg \tau \sim 1/U$ փորձնական կորերի, ինչպես նաև ուղեղի և յարմար իզոլանտի իզոլանտի և յարմար իզոլանտի իզոլանտի կազմում երկնային իզոլանտի մարմնի (ԲԼՄ) մակերևութային լարվածության և տեսակարար ուղեղային արժեքների հիման վրա հաշվված է անջրի եղբի զնային լարվածությունը γ որը, ըստ մարմնի էրկտրական իզոլանտի տեսության, էրկտրական զնային ԲԼՄ կազմում բնութագրող հիմնական պարամետրն է: Չորս է արված, որ անջրային անհատական արժեքները, պրոպրանոլոլը և բենզոկանինը կազմում են ԲԼՄ, մեծացնելով γ -ը: Անջրային, որ կենսաբանական թաղանթների վրա ամֆիֆիլ դեղանյութերի կազմում, աղեղային իմրում ընկած է Լույսա-տիկ մեխանիզմ:

The values of linear tension of pore edge γ , characterizing BLM stability of electric field in the theory of electrical breakdown of membranes are calculated on the basis of experimental curves $\lg \tau \sim 1/U$ and the values of surface tension and specific capacity of BLM composed of brain total lipids and egg phosphatidylethanolamine. The local anesthetics—trimecaine, propranolol and benzocaine—are shown to stabilize the BLM structure by increasing γ . It is assumed that the stabilizing action of amphiphilic drugs on biological membranes is based on an analogous mechanism.

Мембраны бислоиные липидные местные анестетики.

Общим свойством амфифильных поверхностей—активных соединений, в том числе и лекарственных (МА, транквилизаторы, бета-адренергические блокаторы и др.), является их способность увеличивать устойчивость (стабилизировать) биологических мембран к различным типам лизиса при низких и уменьшать ее (дестабилизировать) при высоких концентрациях [22]. Поэтому, как правило, кривые доза—эффект имеют бифазный характер. Влияние высоких, дестабилизирующих концентраций амфифилов на биологические мембраны обычно необратимо, поскольку связано с сольubilизацией мембранных компонентов. В большинстве случаев фаза дестабилизации наблюдается при ККМ амфифилов [12].

Сокращения: МА—местные анестетики, БЛМ—бислоиные липидные мембраны, АЛС—амфифильные лекарственные соединения, ККМ—критическая концентрация мицеллообразования

Молекулярный механизм стабилизирующего действия АЛС на биологические мембраны в настоящее время неизвестен. Существующие теории (текучесть мембраны [19], расширение мембраны [16], фазовые переходы [26]), хотя и базируются на прочном фундаменте многочисленных экспериментальных данных, подтверждающих справедливость правила Мейера-Овертона, тем не менее испытывают затруднения при объяснении эффектов низких, стабилизирующих концентраций АЛС на биологические мембраны (критический анализ этих теорий проведен недавно [13]).

Тот факт, что «мембранными стабилизаторами» являются соединения самой различной химической природы, указывает на неспецифический характер их действия на биологические мембраны и первичную «мишень» — липидный матрикс.

Плоские БЛМ являются относительно простой, удобной и адекватной модельной системой для изучения роли липидного матрикса биологических мембран в мембранотропных эффектах АЛС. Несмотря на это, систематические исследования этого вопроса в литературе отсутствуют. Исключение составляет, пожалуй, только работа Оки [18], в которой показано, что низкие концентрации МА прокаинового ряда увеличивают, а высокие — уменьшают сопротивление БЛМ по постоянному току и устойчивость к разрушающему действию асимметрично добавленных ионов кальция. Увеличение сопротивления БЛМ по постоянному току при действии низких концентраций гексабарбитала и тетракаина обнаружено также Пилучетти с соавт. [20]. Недавно [21] было показано, что субклинические и близкие к клиническим концентрации пропранолола, дибукаина и лидокаина также увеличивают удельное электрическое сопротивление БЛМ [2]. В последние годы разработаны теория электрического пробоя мембран и экспериментальные методы изучения физико-химического механизма этого процесса на БЛМ [9]. Используя метод изучения устойчивости БЛМ в электрическом поле, мы показали, что низкие концентрации АЛС увеличивают среднее время жизни (τ) БЛМ при данном потенциале [3–5]. В работе [4] была проведена приближенная оценка изменения линейного натяжения кромки поры γ в мембране (см. формулу в разделе «Материал и методика») от концентрации бензокаина, которая показала удовлетворительное совпадение с ходом кривой зависимости $\lg \tau$ БЛМ от концентрации бензокаина.

В настоящей работе проведена более корректная оценка параметра γ в контроле и при действии трех МА — тримекана, пропранолола и бензокаина на устойчивость БЛМ в электрическом поле.

Материал и методика. Мембраны формировали нанесением капли липидного раствора на 1-миллиметровое отверстие в перегородке, разделяющей экспериментальную камеру из тефлона на два эквивалентных отсека. Исследовали мембраны из липидов или декан-гептаиловых растворов (20 мг липидов в 1 мл растворителя) общих липидов мозга быка, выделенных по Мюллеру с соавт. [17], и яичного фосфатидилхолина производства Дальневосточного государственного университета. Температура и электролитный состав водных растворов даны в объяснении к таблице. Время жизни (τ) БЛМ определяли по обычной методике [9]. Степеньку постоянного напряжения подавали на БЛМ от генератора Г-6-28 с использованием хлорсеребряных электродов, непосред-

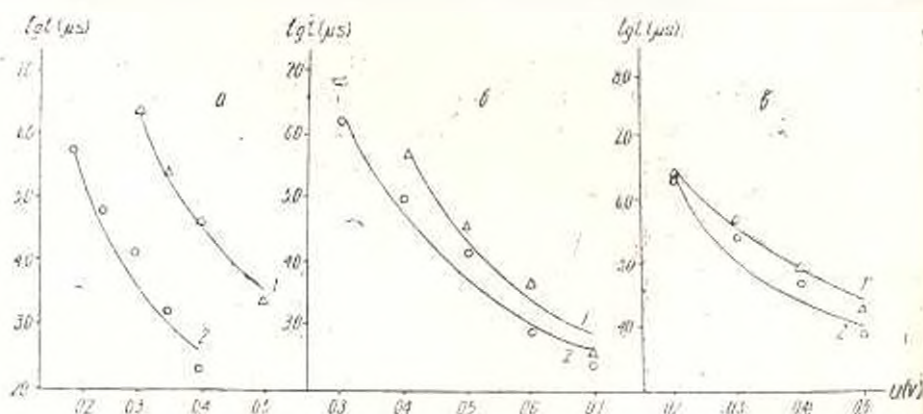
ственно контактирующих с раствором электролита. Регистрацию $\bar{t}$ БЛМ проводили на запоминающем осциллографе С8-13. Процесс формирования БЛМ контролировали с помощью бинокля МБС-2. Электрическую емкость БЛМ определяли на переменном токе частотой 159 Гц и амплитудой ± 20 мВ. Поверхностное натяжение (σ) мембран оценивали по изменению электрической емкости в условиях гидростатического давления через мембрану [1]. Аптечные препараты тримеканигидрохлорида и пропранололгидрохлорида вносили в водный раствор, в котором формировали мембраны. Кристаллический бензокаин из-за низкой растворимости в воде растворяли в метаноле и для приготовления конечного мембраноформирующего раствора смешивали с хлороформ-метанольным экстрактом липидов.

Вычисление величины линейного натяжения кромки поры в БЛМ проводили в соответствии с представлениями [9], согласно которым $\bar{t}$ БЛМ в электрическом поле зависит от линейного натяжения:

$$\bar{t} \sim \Lambda \exp \left\{ \frac{\pi \epsilon^2}{kT (\epsilon + 0.5 C U^2)} \right\},$$

где kT — характерная тепловая энергия, C — удельная электрическая емкость, ϵ и ϵ_m — диэлектрические постоянные воды и гидрофобной области мембраны соответственно. Величину γ определяли по данной формуле из экспериментальных кривых $\lg \bar{t} \sim I(U)$ методом наименьших квадратов.

Результаты и обсуждение. На рисунке представлены кривые $\lg \bar{t} \sim I(u)$ в контроле и при действии тримеканина, пропранолола и бензокаина. Видно, что все препараты увеличивают $\bar{t}$ БЛМ относительно контроля. Наиболее сильный эффект стабилизации наблюдается при действии $1,75 \times 10^{-5}$ М тримеканина на БЛМ из фосфатидилэтаноламина. На basis из общих липидов пропранолол в концентрации 10^{-4} М более эф-



Зависимость $\lg \bar{t}$ БЛМ от напряжения: сплошные линии — теоретические кривые, символы — экспериментальные точки: кружки — в отсутствие местных анестетиков, треугольники — в присутствии (а) $1,75 \times 10^{-5}$ М тримеканина, (б) 10^{-4} М пропранолола, (в) 10^{-3} М бензокаина. Мембраны из чистого фосфатидилэтаноламина (а) и общих липидов (б и в). Количество мембран на точку менее 20-ти; величина символов соответствует средне-квадратичному отклонению.

фективен, чем бензокаин в концентрации 10^{-3} М. Необходимо отметить, что использованные концентрации анестетиков являются субклиническими или близкими к клиническим. Согласно литературным данным, их клинические концентрации соответственно равны: для тримеканина 10^{-4} М [8], пропранолола $2,4 \times 10^{-4}$ М [21] и бензокаина 10^{-3} М и более [25].

Выбор концентраций МА, использованных в настоящей работе, определяли либо величиной максимального эффекта стабилизации при получении кривой доза—эффект [4], либо заметным увеличением σ БЛМ при действии различных низких концентраций пропранолола и тримекаина.

Для вычисления величины γ необходимо знать значения величины σ и C БЛМ. Результаты измерений этих параметров даны в таблице. Из представленных данных видно, что σ БЛМ увеличивается в присутствии всех трех МА, причем тримекаин и бензокаин более эффективны, чем пропранолол. Полученные контрольные значения σ БЛМ из общих липидов— $1,75 \times 10^3$ и $3,5 \times 10^3$ Н/м в одном случае ниже, в другом—выше известных в литературе значений для этого липида ($2-3 \times 10^3$ Н/м) [19, 20]. Эти расхождения в величинах σ , как нам кажется, связаны с различным электролитным составом водных растворов, использованных нами в экспериментах с бензокаином и пропранололом, а также в водных растворах, в которых был определен этот параметр [6, 7].

Величины удельной электрической емкости, поверхностного натяжения и линейного натяжения кромки поры БЛМ в контроле и в присутствии трех местных анестетиков

Анестетик	$C_m \times 10^{-3}$ Ф/м ²	$\gamma_m \times 10^3$ Н/м	$\gamma \times 10^{-11}$ Н
Тримекаин *	5.63 ± 0.30 (5.04 ± 0.06)	2.45 ± 0.10 (1.3 ± 0.3)	1.29 (0.89)
Пропранолол **	4.95 ± 0.20 (4.42 ± 0.40)	4.18 ± 0.14 (3.5 ± 0.3)	1.60 (1.25)
Бензокаин ***	2.6 ± 0.11 (3.42 ± 0.40)	4.40 ± 0.33 (1.75 ± 0.13)	0.83 (0.73)

В скобках даны контрольные значения параметров БЛМ. * небуферный 0,1 М раствор KCl, температура 25°C, ** 0,1 М раствор KCl, К₂А фосфатный буфер, pH 7,2, температура—22°, *** 1 М KCl, трис-HCl буфер, pH 7,2, ЭДГА (5×10^{-6} М), температура—22°.

В отличие от поверхностного натяжения удельная емкость БЛМ при действии МА изменяется неоднонаправленно. Данные таблицы показывают, что тримекаин и пропранолол увеличивают, а бензокаин уменьшает значение этого параметра. Тем не менее оба результата согласуются с литературными данными. Тьен [23] показал, что пропранолол в концентрации 10^{-6} М увеличивает удельную электрическую емкость бислов от $3,5$ до $4,2 \times 10^{-3}$ Ф/м². С другой стороны, согласно Ашкрофту с соавт. [10], нейтральный бензиловый спирт уменьшает удельную емкость децитиловых бислов на 15%. Такое разнонаправленное действие катионных (пропранолол и тримекаин) и нейтральных (бензиловый спирт и бензокаин) МА на удельную электрическую емкость липидных бислов может быть связано с их различной локализацией в мембране [11, 14, 18].

Вычисление значений γ по кривым a — b на рисунке с использованием значений σ и C показало, что все три МА увеличивают линейное натяжение кромки поры в БЛМ. Разность между «вытянутыми» и контрольными величинами составляет соответственно: для тримекаина—0,4, пропранолола—0,35 и бензокаина—0,10. В пределах одного и то-

го же липида пропранолол более эффективен, чем бензокаин. Этот результат отражает относительную анестетическую эффективность этих препаратов. Вместе с тем близкие значения γ , полученные при действии тримеканна и пропранолола на БЛМ из различных липидов, также хорошо коррелирует с их анестетической потенцией.

Таким образом, результаты настоящей работы показывают, что близкие концентрации МА стабилизируют структуру плоских липидных бислоев, увеличивая их устойчивость в электрическом поле. Это увеличение устойчивости БЛМ связано с увеличением как поверхностного натяжения бислоев, так и, что более существенно, с возрастанием значения линейного натяжения кромки поры в БЛМ.

Полученные данные свидетельствуют в пользу липидной концепции стабилизирующего действия АЛС на биомембраны [15] и могут быть привлечены также для объяснения механизма местной анестезии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кругляков И. М., Ровин Ю. Г. Физиология черных углеводородных пленок. 33, М., 1978.
2. Микаелян Л. Г., Карапетян А. К., Курян Е. И. Биол. ж. Армении. 36, 566—570, 1983.
3. Микаелян Л. Г., Карапетян А. К., Айжян С. А. Биол. ж. Армении. 38, 29—37, 1985.
4. Микаелян Л. Г., Карапетян А. К., Айжян С. А. Биол. ж. Армении. 39, 241—244, 1986.
5. Микаелян Л. Г., Карапетян А. К., Айжян С. А. X Всесоюз. конф. по биохимии нервной системы, тезисы, 133, Горький, 1987.
6. Пекашев В. А., Берестовский Г. Н. Физико-химические свойства бимолекулярных липидных мембран. ВИНТИ № 1888-27 деп., 12, Пушкино, 1975.
7. Пастушенко В. Ф., Черномордик Л. В., Чизмаджев Ю. А. Бюлл. мембран, 2, 813—819, 1985.
8. Пряжичникова Н. Т. Успехи в создании лекарственных средств, 227—270, М., 1973.
9. Чизмаджев Ю. А., Черномордик Л. В., Пастушенко В. Ф., Абишор Н. Г. Биоп физика мембран, т. 2, Итоги науки и техники 161—266, М., 1982.
10. Ashcroft R. G., Coster H. G. L., Smith J. M. Nature, 269, 819—820, 1977.
11. Brasseur R., Ruyschaert J. M., Chantoin P. Biochem. Biophys. Acta, 815, 341—350, 1985.
12. Fernandez M. S. Biochem. Biophys. Acta, 597, 83—97, 1980.
13. Franks N. P., Lieb W. R. Nature, 300, 487—492, 1982.
14. Kelusky F., Smith J. C. Mol. Pharmacol., 26, 314—321, 1984.
15. Lee A. G. Nature, 262, 545—548, 1976.
16. Matubayns N., Ueda J. Anesthesiology, 59, 541—546, 1983.
17. Mueller P., Rudin D. O. Laboratory Techniques in Membrane Biophysics (ed. by Passow H., Stampfl R.), 141—156, Springer-Verlag, Berlin, 1969.
18. Ohki S. Biochem. Biophys. Acta, 219, 18, 1970.
19. Pang K. Y., Braxwell B. L. M., Chang L., Sommer T. F., Miller K. W. Mol. Pharmacol., 18, 84—90, 1980.
20. Peluchetti D., Razzetti M., Guria A. Experientia, 31, 569—570, 1975.
21. Roth S., Seeman P. Nature, 213, 284—285, 1971.
22. Seeman P. Pharmacol. Rev., 24, 583—655, 1972.
23. Shi P., Tien T. H. Biophys. Acta, 859, 125—143, 1986.
24. Skellern P., Michaelis L. Biophys. Struct. Meth., 10—1—9, 1983.
25. Saratz-Kurtz G., Hanch C. P., Krupp P. Eur. J. Pharmacol., 11, 125, 1970.
26. Trudell J. R. Anesthesiology, 46, 5—10, 1977.

Поступило 29 III 1988 г.

ФОСФОЛИПИДЫ И ПРОЦЕССЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОТЕКЕ МОЗГА, ВЫЗВАННОМ ТЕТРАЭТИЛОЛОВОМ

А. Ю. ПОГОСЯН, Л. М. ОВСЕЯН, К. Г. КАРАГЕЗЯН

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР, Ереван

Установлено, что ЭОМ сопровождается уменьшением в митохондриальной фракции количества монофосфоновитидов, сфингомиелинов, фосфатидилхолинов и возрастанием содержания лизофосфатидилхолинов, фосфатидилсеринов, фосфатидилэтанолламинов и кардиолипинов. В микросомальной фракции имеет место уменьшение количества монофосфоновитидов, фосфатидилхолинов, фосфатидилэтанолламинов, увеличение уровня лизофосфатидилхолинов и сфингомиелинов.

ЭОМ характеризуется накоплением гидроперекисей и перекисей в общем гомогенате и микросомальной фракции как в аскорбат- так и в НАДФН-зависимых системах перекисления.

Հաստատվել է, որ ուղեղի էքսպերիմենտալ օտեկը ուղեկցվում է միտոքոնդրիումների ֆրակցիայում մոնոֆոսֆոնուկլեոթիդների, սֆինգոմիելինների և ֆոսֆատիդիլխոլինների քանակի նվազմամբ և լիզոֆոսֆատիդիլխոլինների, ֆոսֆատիդիլսերինների, ֆոսֆատիդիլէթանոլամինների և կարդիոլիպիների քանակի մեծացմամբ: Միկրոսոմալ ֆրակցիայում իջնում է ԼժՆԿԼ-Ֆոսֆոնուկլեոթիդների, ֆոսֆատիդիլխոլինների, ֆոսֆատիդիլէթանոլամինների քանակը և մեծանում է լիզոֆոսֆատիդիլխոլինների և սֆինգոմիելինների մակարդակը: Էքսպերիմենտալ ալոստեր ընտելացրվում է ընդհանուր և միկրոսոմալ ֆրակցիայում գերօքսիդների և իզոֆերոքսիդների կուտակմամբ: Ինչպես անիոքրատ-, այնպես էլ НАДФН-կախում բնեղող գերօքսիդացման սխեմաներում:

It was established that experimental oedema of brain in mitochondrial fractions was accompanied by the decrease of monophosphonositides, sphingomielines, phosphatidylcholines and increase of the content of lizosphosphatidylcholines, phosphatidylserins, phosphatidylethanolamines and cardiolipins. In microsomal fractions the experimental oedema was accompanied by the decrease of monophosphonositides, phosphatidylcholines, phosphatidylethanolamines and increase of the level of lizosphosphatidylcholines and sphingomielines. The experimental oedema was characterized by the accumulation of hydroperoxides and peroxides in the general homogenate and microsomal fraction of ascorbate and NADPH-dependent systems of peroxidation.

ЭОМ—фосфолипиды—НОЛ.

Отек головного мозга относится к числу наиболее распространенных и крайне тяжелых осложнений в клинике самых разнообразных заболеваний [2, 6]. В основе происходящих при этом метаболических изменений лежит в первую очередь нарушение структуры и функции нейромембран, обусловленное преимущественно отклонениями в них качественного и количественного состава основных компонентов клеточной

Сокращения: ЭОМ—экспериментальный отек мозга; НОЛ—перекисное окисление липидов; НФП—ферментативное аскорбат-зависимое перекисное окисление липидов; ФП—ферментативное НАДФН-зависимое перекисное окисление липидов.

мембраны—фосфолипидов. Количественные изменения последних сопровождаются расстройством микроструктуры, физико-химических свойств и основных функций мембран, в частности, прочности, проводимости, ферментативной активности, избирательной проницаемости в отношении различных метаболитов и ионов.

Исходя из вышесказанного, мы предприняли исследования по изучению количественного состава фосфолипидов в гомогенате, в митохондриальной и микросомальной фракциях головного мозга белых крыс в норме и при ЭОМ.

Материал и методика. Исследования проводили на беспородных белых крысах обоего пола массой 180—200 г, содержащихся на обычном пищевом рационе. ЭОМ вызвали внутрибрюшинным введением тетраэтилолоха в дозе 10 мг на 1 кг массы животного. Его критерием служили увеличение в мозговой ткани содержания общей воды и сдвиги в показателях его микроструктуры. Об увеличении количества воды при формировании отека мозга судили по весовым различиям сухих остатков мозговой ткани, тщательно высушенной при 110° до постоянной массы. Гомогенизирование мозговой ткани проводили в среде, содержащей 0,25 М сахарозу и 0,001 М трис HCl буфер, pH 7,4. Субклеточные органеллы отделяли центрифугированием ядер при 900 g, митохондрий при 13000 g в течение 20 мин (центрифуга К-24), микросом при 105000 g на протяжении 120 мин (центрифуга ВAK-601) [7].

Фракционирование индивидуальных фосфолипидов проводили методом одномерной восходящей хроматографии в тонком слое силикагеля (марки KSK) с использованием системы растворителей: хлороформ—метанол—аммиак (65:35:5). Фосфолипидные пятна идентифицировали с помощью соответствующих свидетелей. Минерализацию липидного фосфора осуществляли в среде с серной и азотной кислотами и выражали в мкг на 1 г влажной ткани [8].

Содержание гидроперекисей липидов определяли с помощью цветной реакции с тиоцианатом аммония при максимуме поглощения 480 нм [8]. Об активности перекисного окисления судили по содержанию малонового диальдегида, образующего с тиобарбитуровой кислотой окрашивание, интенсивность которого регистрировали спектрофотометрически при длине волны 535 нм [3]. Количество перекисей пересчитывали на 1 мг белка данной фракции [11].

Результаты и обсуждение. Как показали результаты исследований (табл. 1), ЭОМ сопровождается накоплением в микросомальной фракции мозга и в общем гомогенате гидроперекисей и вторичного продукта пероксидирования липидов—малонового диальдегида, образующихся как в аскорбат-, так и в НАДФН-зависимых системах перекисления. Первичный механизм зарождения свободных радикалов при ЭОМ остается проблематичным, хотя из литературных данных известно, что развитие патологических процессов в мозговой ткани характеризуется определенным стимулированием реакций радикалообразования [9]. Показано, что основное количество свободных радикалов образуется во фракции фосфолипидов, что особенно характерно для возбужденных состояний организма [4].

Как уже отмечалось, ПОЛ преимущественно затрагивает фосфолипидные компоненты клетки. Как явствует из табл. 2, ЭОМ сопровождается уменьшением в митохондриальной фракции мозга количества монофосфоинозитидов, сфингомиелинов, фосфатидилхолинов и возрастанием содержания лизофосфатидилхолинов, фосфатидилсеринов, фосфатидилэтаноламинов, кардиолипинов. В микросомальной фракции

Таблица 1. Содержание гидроперекиси и малонового диальдегида в общем гомогенате и микросомальной фракции головного мозга при его экспериментальном отеке

Условия опыта	Микросомальная фракция				Общий гомогенат			
	контроль		опыт		контроль		опыт	
	НФП	ФП	НФП	ФП	НФП	ФП	НФП	ФП
Гидроперекиси, Ед., мг белка	0.519 ± 0.04	0.08 ± 0.03	0.731 ± 0.03 P < 0.002 n = 10	0.584 ± 0.02 P < 0.01 n = 10	0.119 ± 0.06	0.292 ± 0.05	0.648 ± 0.03 P < 0.001 n = 10	0.492 ± 0.04 P < 0.001 n = 10
Малоновый диальдегид, нмоль/мг белка	2.07 ± 0.07	1.42 ± 0.08	3.04 ± 0.17 P < 0.001 n = 8	2.07 ± 0.1 P < 0.001 n = 8	1.662 ± 0.02	0.810 ± 0.07	1.857 ± 0.02 P < 0.001 n = 7	1.044 ± 0.02 P < 0.01 n = 7

имеет место уменьшение уровня фосфатидилхолинов, монофосфолипидов, фосфатидилэтаноламинов и увеличение лизофосфатидилхолинов и сфингомиелинов.

Таблица 2. Количественный состав индивидуальных фосфолипидов (% от суммы фосфолипидов) в общем гомогенате, митохондриальной и микросомальной фракциях головного мозга при его экспериментальном отеке

Фракция фосфолипидов	Общий гомогенат		Митохондриальная фракция		Микросомальная фракция	
	конт- роль, %	опыт, n=12, %	конт- роль, %	опыт, n=7, %	конт- роль, %	опыт, n=7, %
Монофосфолипиды	11.92	10.82	13.06	7.38	15.74	11.42
Лизофосфатидилхолины	15.67	17.20	2.75	12.96	7.05	9.93
Сфингомиелины	26.70	25.26	8.60	3.87	8.14	9.89
Фосфатидилхолины	29.15	28.72	38.63	37.58	39.58	36.62
Фосфатидилсерины	6.22	6.20	29.54	30.11	25.11	25.06
Фосфатидилэтаноламины	5.10	6.26	1.34	4.79	4.39	4.09
Кардиолипиды	5.15	5.55	2.87	3.31	—	—
Суммарные фосфолипиды	2073.5	1958.3	52.30	11.35	29.23	26.9

* Суммарные фосфолипиды выражены в мкг Р₂ влажной ткани.

Отмеченное нами уменьшение фосфатидилхолинов в обеих фракциях и в общем гомогенате согласуется с данными литературы, свидетельствующими о резком падении их содержания в области максимального выраженного отека мозга [10].

Согласно полученным результатам, ЭОМ характеризуется увеличением содержания лизофосфатидилхолинов в митохондриальной, микросомальной фракциях мозга и в общем гомогенате. В литературе имеются сведения о росте свободных жирных кислот, продуктов их окисления и лизофосфолипидов и повышении проницаемости катионов через митохондриальную мембрану, таких, например, как ионы кальция, переносчиками которых, в частности, являются гидроперекиси как первичные продукты ПОЛ [1]. Увеличение количества лизофосфолипидов может быть обусловлено, с одной стороны, повышением активности фосфолипазы А₂, с другой — некоторым ингибированием фосфатидогениза, связанным, на наш взгляд, с ослаблением функциональной активности ацилтрансферазных процессов. Эти соображения нуждаются в дальнейшем экспериментальном подтверждении.

Полученные результаты подтверждают бытующую в настоящее время точку зрения о важном значении стабильного состояния фосфолипид-фосфолипидных соотношений. Смысл отмеченного постоянства заключается прежде всего в поддержании строго определенного набора фосфолипидов в спектре этих соединений, характерного для данной биологической системы, чем и обуславливается так называемое липидное окружение различных протеинов, например, ферментов, во многом являющихся липидзависимыми.

В дальнейшем предполагается изучить роль измененного статуса липид-липидных соотношений в мозге при его экспериментальном отеке в регуляции каталитических свойств мембраносвязанных, липидзависимых ферментов. Это главным образом касается ферментов, которые принимают активное участие в регуляции процессов трансмем-

бранного переноса ионов, обуславливающих в известной степени процессы водонакопления в данной биологической системе и ответственных, по-видимому, за формирование определенных звеньев процесса отекообразования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Архипенко Ю. В., Каган В. Е., Козлов Ю. П. Биохимия, 48, 435—441, 1983.
2. Бакай Л., Ли Д. В кн.: Отек мозга (под ред. Э. И. Канделя). М., 1969.
3. Владимиров Н. А., Арляков А. И. В кн.: Перекисное окисление липидов и биологических мембранах (под ред. Г. М. Франка). М., 1972.
4. Вагин Ю. Е., Кондратов В. Е., Буракова Е. Б. В кн.: Биокислородные окислители (под ред. И. Н. Нянова). М., 1975.
5. Зубер В. Л. В кн.: Методы биохимических исследований (под ред. М. И. Прохоровой). Л., 1982.
6. Квитницкий-Рыжов Ю. И. В кн.: Отек и набухание галлиного мозга (под ред. А. М. Гуревича). Киев, 1978.
7. Крекс Е. М., Красильникова В. И., Патрикасон М. В. Журн. эволюц. биологии и физиологии, 4, 211—243, 1968.
8. Романова Л. А., Сталина И. Л. В кн.: Современные методы в биохимии (под ред. В. Н. Ореховича). М., 1977.
9. Bloch M. C., Wirts K. W. A., Scherphof A. I. Biochim. et Biophys. Acta, 233, 61—75, 1971.
10. Ishii S., Halper P., Kelly W. A., Evans J. P. J. Neurosurg, 16, 152—166, 1960.
11. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. J. Biol. Chem., 193, 265—275, 1951.

Поступило 27 X 1988 г.

Биол. ж. Армения, № 1, (42), 1989

УДК 577.135.3

ИНГИБИРОВАНИЕ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ КРУННОГО РОГАТОГО СКОТА НЕКОТОРЫМИ АМИНОКИСЛОТАМИ

А. А. ДАВТЯН, М. Л. ГЕВОРКЯН

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

Показано, что L-аминокислоты орнитин, лизин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, α-аминоизомасляная кислота и норвалин конкурентно ингибируют аргиназу печени крупного рогатого скота, а α-аминомасляная кислота является ингибитором смешанного типа. Разветвленные аминокислоты являются наиболее эффективными ингибиторами фермента. Установлено также, что в присутствии орнитина чувствительность фермента к воздействию температуры возрастает; это указывает на специфичность взаимодействия указанной аминокислоты с аргиназой.

Վերը խոսքով, որ L-ամինաթթուներ օրնիտինը, լիզինը, վալինը, լեյցինը, իզոլեյցինը, պրոլինը, α-ամինաիզովալաթթվի և նորվալինը մրցակցորեն ազդեցություն են խոսքով նշված ֆերմենտի ակտիվությանը: Բաժանաչ ամինաթթուները ազդեցություն են ցուցաբերում ֆերմենտի ջերմաստիճանի նկատմամբ: Ստացված արդյունքները ցուցանում են ֆերմենտի և ամինաթթուների միջև առկա հարաբերակցությունը:

Сокращения: АИМК—аминоизомасляная кислота; АМК—аминомасляная кислота

Էֆֆեկտիվ արգինազինհիբիթոր օրնիտինը առկայությունը զննարարած ածուխ է ֆերմենտի զգայունությանը օրնիտինի ազդեցության նկատմամբ որը մկայում է արգինազի հետ հզվալ ածինաբիթոր փոխադրեցության տարածումը Թիան Կա.

It is shown that L-amino acids ornithine, lysine, valine, isoleucine, leucine, proline, α -amino isobutyric acid and norvaline are competitive inhibitors of big-horned cattle liver arginase. γ -amino butyric acid is the inhibitor of mixed type. The branched chain amino acids are most effective inhibitors of this enzyme. It is established that in the presence of ornithine thermosensitivity of arginase increases; it indicates the specificity of interaction of this amino acid with arginase.

Արգինազ — ամինոկիսկոտն.

Реакция, катализируемая аргиназой, ингибируется некоторыми природными аминокислотами. В настоящее время установлено, что лизин, орнитин, пролин, изолейцин, валин и лейцин являются эффективными ингибиторами аргиназы печени млекопитающих [8—10, 12, 13]. Однако в отношении характера ингибирования и эффективности взаимодействия этих аминокислот с аргиназой мнения исследователей расходятся. В работе [10] показано, что α -аминокислоты являются неконкурентными ингибиторами аргиназы печени быка. Другие исследователи [12] обнаружили конкурентное ингибирование этого фермента разветвленными аминокислотами и аланином. Лизин, орнитин и пролин, по мнению большинства авторов, являются конкурентными ингибиторами аргиназы печени млекопитающих [1, 7, 11—13]. Как полагает Бедино [6], с помощью орнитина, который является продуктом каталитической реакции, осуществляется аллостерическая регуляция аргиназы печени быка.

В настоящей работе представлены результаты изучения влияния ряда аминокислот на активность аргиназы печени крупного рогатого скота. Определены характер ингибирования и величины констант ингибирования (K_i), изучено также влияние аминокислот-ингибиторов на термостабильность аргиназы.

Материал и методика. Исследования проводили на коммерческом лиофилизированном препарате аргиназы печени крупного рогатого скота фирмы Reanal (Венгрия). Величину K_i определяли по методу Диксона [1]. Средние значения K_i вычисляли на основании 5—7 опытов. Растворы фермента в концентрации $4.2 \cdot 10^{-7}$ М готовили из 0.5 М глицинового буфера (рН 9.5). Активность аргиназы определяли по методу Ратнер, как описано ранее [2].

В работе использовали препараты L-орнитина HCl, L-лизина HCl, L-гистидина HCl и других L-аминокислот, DL-норвалина, DL- α -АМК, DL- α -аланина-DL-пролина, D-аргинина, D-валина, аденина—фирмы Reanal (Венгрия).

Результаты и обсуждение. Изучение влияния различных аминокислот на аргиназу печени крупного рогатого скота показало, что лизин, орнитин, валин, лейцин, изолейцин, норвалин, α -АМК, пролин и α -АМК снижают активность фермента. Причем все перечисленные аминокислоты, кроме АМК, являются конкурентными ингибиторами этой аргиназы. На рис. 1 даны графики Лайнуивера-Бэрка, демон-

стрирующие конкурентный характер ингибирования аргиназы орнитинном и пролином. Аналогичные зависимости были получены и для других аминокислот. Конкурентный характер ингибирования исследуемы-

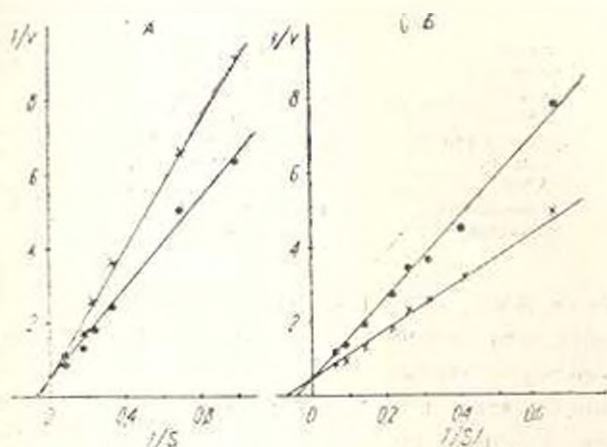


Рис. 1. Определение характера ингибирования аргиназы пролином (А) и орнитинном (Б) методом Лайнуивера-Берка. Концентрации пролина—114 и 57 мМ, орнитина—12 и 6 мМ.

ми аминокислотами подтверждают также величины констант ингибирования методом Диксона (рис. 2). Значения констант ингибирования аргиназы аминокислотами приведены в табл. 1, из которой видно, что наиболее сильными ингибиторами аргиназы являются разветвленные аминокислоты. Принимая во внимание, что величина K_m для этого

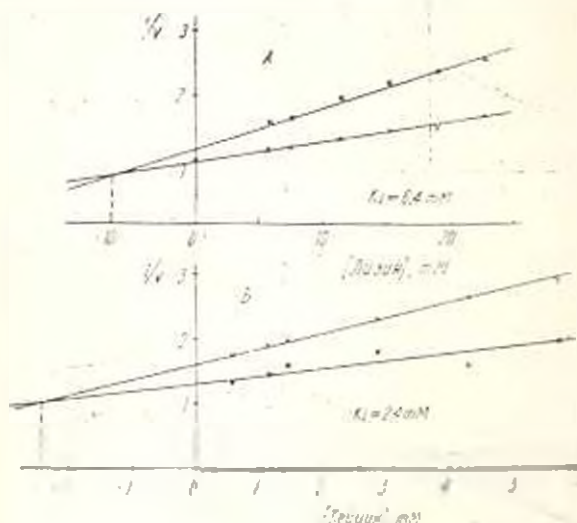


Рис. 2. Графическое определение величин констант ингибирования аргиназы лизинном (А) и лейцином (Б) методом Диксона. Концентрации аргинина—6,4 и 3 мМ.

препарата аргиназы, определенная по методу Лайнуивера-Берка, равна 6,8 мМ, можно заключить, что связывание указанных аминокислот с активным центром фермента происходит более эффективно, чем с субстратом.

Таблица 1. Величины констант ингибирования аргиназы аминокислотами (рН 9,5)

Аминокислота	Тип ингибирования	K_i (мМ)
L-лизин	конкурентный	6,1
L-орнитин	конкурентный	3,8
L-вален	конкурентный	1
L-лейцин	конкурентный	2,4
L-изолейцин	конкурентный	1
L-пролин	конкурентный	21
L-АМК	смешанный	28
DL-норилан	конкурентный	3,4
DL-АМК	конкурентный	36

Что касается АМК, то она является ингибитором смешанного типа. Эта аминокислота способна взаимодействовать и с чистым ферментом и с фермент-субстратным комплексом. С помощью методов Диксона и Корнш-Боудена показан смешанный характер ингибирования аргиназы печени крупного рогатого скота АМК и определены величины $K_i = 28$ мМ и $K_i' = 3,8$ мМ для чистого фермента и фермент-субстратного комплекса соответственно (рис. 3). Эти данные показывают, что

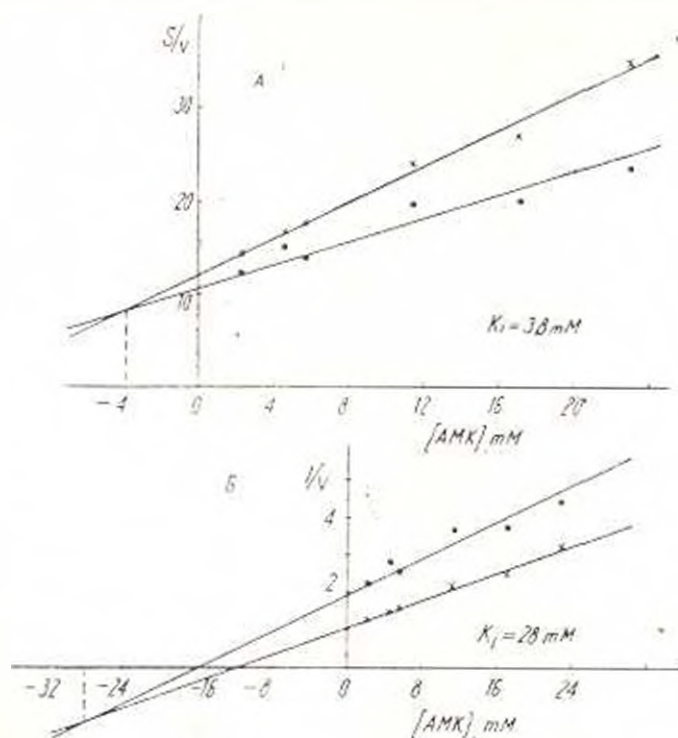


Рис. 3. Определение величин констант ингибирования аргиназы АМК методами Диксона (Б) и Корнш-Боудена (А). Концентрации аргинина в пробах—5,4 и 10,8 мМ.

АМК предпочтительнее связывается с фермент-субстратным комплексом. По-видимому, конформационные изменения, происходящие в аргиназе в результате образования фермент-субстратного комплекса, со-

создают благоприятные условия для связывания этой аминокислоты с аргиназой.

Оксипролин, норлейцин, ГАМК, цистеин, фенилаланин в концентрациях 23 мМ в растворе не снижают активность аргиназы, а цитруллин, треонин, серин, тирозин, триптофан, гистидин в тех же концентрациях даже несколько повышают ее (табл. 2).

Таблица 2. Влияние аминокислот на активность аргиназы (концентрации аминокислот—23 мМ, рН 9,5)

Аминокислота	Актив- ность, %	Аминокислота	Актив- ность, %
L-оксипролин	100	L-триптофан	120
L-цистеин	100	L-цитруллин	128
DL-фенилаланин	100	L-треонин	146
DL-норлейцин	100	β-гистидин	128
ГАМК	100	L-тирозин	138
L-серин	120		

В одной из работ [12] было показано, что аланин конкурентно ингибирует аргиназу печени быка ($K_i = 17,3$ мМ). Однако в наших экспериментах добавление 23 мМ аланина не влияло на активность аргиназы. В присутствии 120 мМ аланина активность фермента снижается на 35%, а при наличии 240 мМ на 50%. Таким образом, аланин является очень слабым ингибитором аргиназы печени крупного рогатого скота.

Дипептид, содержащий ингибирующие аминокислоты аланил-пролин, не оказывает влияния на активность аргиназы. В присутствии 57 мМ его в растворе лишь несколько увеличивается активность фермента (на 25—30%). D-аргинин не гидролизруется этим ферментом, а D-валин не оказывает ингибирующего влияния.

Некоторыми авторами было обнаружено конкурентное ингибирование аргиназы печени быка аденином с константой ингибирования 0,7 мМ [11] и 14 мкмоль [14]. Однако в наших экспериментах аденин в концентрации 4,6 мМ в растворе не оказывал влияния на исследуемый фермент.

На основании полученных результатов можно заключить, что наличие аминогруппы в α-положении, по-видимому, является необходимым условием для обеспечения связывания аминокислот в активном центре фермента. ГАМК по нашим, а также литературным данным [12], не ингибирует аргиназу печени быка. Отсутствие ингибирования аминокислотами не в α-положении показано и в работе [10]. α-Кетокислоты, соответствующие этим аминокислотам, также не влияют на аргиназу печени быка [12].

В процессах связывания аминокислот с каталитическим участком фермента важную роль играет длина углеродной цепочки. Удлинение ее на один углерод существенно изменяет ингибиторные свойства аминокислоты. Так, аланин ингибирует аргиназу только при высоких концентрациях (см. выше). АМК является ингибитором смешанного типа ($K_i = 28$ мМ), норвалин конкурентного ($K_i = 3,4$ мМ), а норлейцин не влияет на активность фермента. Высокое сродство разветвленных ами-

нокислот к аргиназе может свидетельствовать о том, что в составе активного центра ее имеется гидрофобный участок, с которым легко связываются боковые цепи этих аминокислот.

Важное значение в процессах связывания ингибиторов с аргиназой, по-видимому, имеет и заряд боковой цепи аминокислоты. Как показано в работе [12], диаминамасляная и диаминопропионовая кислоты являются конкурентными ингибиторами аргиназы печени быка. Таким образом, наличие аминокислотной группы в боковой цепи аминокислоты не мешает связыванию ее в активном центре фермента, в то время как появление полярной OH-группы (треонин, оксипролин), по нашим данным, приводит к потере ингибиторных свойств. Полученные данные позволяют предположить, что в процессах связывания субстрата и аминокислот-ингибиторов в активном центре аргиназы, кроме заряженных групп фермента, обеспечивающих связывание соответственно гуанидиновой и карбоксильной групп, участвуют также функциональная группа, образующая связь с α -аминогруппой, а также гидрофобные аминокислотные остатки. Дальнейшие исследования в этом направлении, очевидно, позволят получить новые сведения об особенностях строения и функционирования активного центра аргиназы.

При сравнении полученных данных с имеющимися в литературе сведениями можно заметить, что характер ингибирования этими аминокислотами аргиназ, выделенных из печени разных млекопитающих, различен. Так, АМК, по нашим данным, — ингибитор смешанного типа, а Гласс и Ноке показали конкурентный характер ингибирования аргиназы печени крысы этой аминокислотой [9]. Для аргиназы печени овцы Гласс является ингибитором смешанного типа, тогда как, по нашим, а также литературным данным [12], эта аминокислота является одним из неэффективных конкурентных ингибиторов аргиназы печени быка. Для одной из форм аргиназы печени человека оригинал является ингибитором смешанного типа [5], хотя аргиназа печени быка конкурентно ингибируется этой аминокислотой [12]. Очевидно, это можно объяснить различиями в строении активного центра печеночных аргиназ у млекопитающих. При совместном введении этих аминокислот ингибирующее влияние их суммируется. В присутствии одновременно двух или трех аминокислот-ингибиторов в растворе активность фермента снижается суммарно — на столько, на сколько снижает ее каждая из аминокислот в отдельности при добавлении к нативному ферменту. Очевидно, все эти аминокислоты связываются с одним и тем же участком в активном центре фермента. Этот факт представляет существенный интерес, так как присутствие в клетке небольших количеств нескольких из этих аминокислот может привести к значительному ингибированию активности фермента, что указывает на возможную роль их в процессах регуляции активности аргиназы в клетках печени.

Было изучено также влияние этих аминокислот на термостабильность аргиназы. В экспериментах по изучению термостабильности, проведенных нами ранее, были использованы относительно высокие концентрации фермента — $8,3 \cdot 10^{-6}$ М [3] (температура полуинактивации — 74°). При концентрации аргиназы $4,2 \cdot 10^{-7}$ М температура полуинакти-

вазии снижается до 70° (рис. 4). В результате нагревания величина K_m фермента несколько уменьшается (после инкубации аргиназы при 65° в течение 10 мин величина K_m составляет 5 мМ). Это свидетельствует о том, что воздействие температуры приводит к таким изменениям конформации вблизи активного центра, которые увеличивают срод-

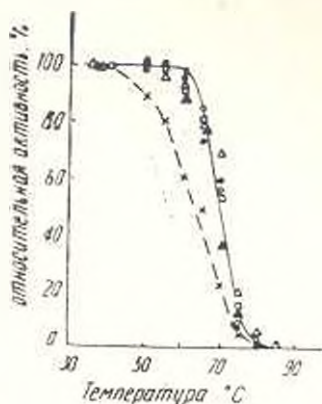


Рис. 4. Термоллабилизация аргиназы печени крупного рогатого скота в присутствии аминокислот-ингибиторов. ● — контроль, Δ — лизин, (22 мМ), □ — валин (6,2 мМ), ○ — пролин (60 мМ), х — орнитин (24 мМ), ▲ — АМК (20 мМ). Растворы аргиназы с аминокислотой инкубировали на водяной бане в течение 10 мин при соответствующей температуре, затем охлаждали и определяли активность

ство фермента к субстрату, хотя скорость реакции снижается. Как видно из рис. 4, лизин, валин, АМК и пролин не влияют на чувствительность аргиназы к воздействию температуры. Однако добавление орнитина в раствор делает фермент более лабильным. При выдерживании аргиназы при 53° в присутствии орнитина в течение 10 мин активность снижается на 20%, тогда как без него при этой температуре сохраняется 100% активности. Температура полуинактивации снижается в присутствии орнитина до 64°, что свидетельствует о специфическом взаимодействии этой аминокислоты с аргиназой. Возможно, кроме активного центра орнитин способен связываться с аргиназой и в других участках макромолекулы, что может вызвать изменения в структуре фермента, отражающиеся на его термостабильности. Возможно также, что при нагревании сродство фермента к орнитину возрастает, что также может привести к резкому падению активности аргиназы в данных условиях. Следует отметить, что, по нашим данным [3], в присутствии орнитина в большей степени, чем в присутствии других аминокислот наблюдается частичная защита аргиназы от инактивации при взаимодействии с трипсином.

Бедню [6] обнаружены отклонения от гиперболической кинетики у аргиназы печени быка при pH 9,5 в присутствии орнитина. В наших экспериментах, однако, ни в присутствии орнитина, ни в присутствии какого-либо другого ингибитора отклонений от гиперболической кинетики каталитической реакции аргиназы не обнаружено (рис. 1). Возможно, дополнительное взаимодействие орнитина с аргиназой и имеет место, но оно не отражается на кинетике каталитической реакции в данных условиях.

1. Аалчуджян Н. Х. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1983.
2. Геворкян М. Т., Закарян А. К., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 27, 9, 44—49, 1974.
3. Геворкян М. М., Чубарян С. В., Туманян Т. Р., Торчян Р. О. Биолог. ж. Армении, 32, 4, 314—318, 1986.
4. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты. М., 2, 1982.
5. Bascut L., Cabetto J., Velliz M., Gonzales A. Biochim. biophys. acta, 128, 1, 149—154, 1966.
6. Bedino St. Ital. J. Biochem., 28, 4, 264—276, 1977.
7. Bertho J., Colombo J.—P., Bachmann C. Biochem. J., 175, 2, 449—454, 1978.
8. Carvajal N., Cederbaum S. D. Biochim. biophys. acta, 870, P 34, 2, 161—184, 1986.
9. Glass R. D., Elex W. E. J. Biol. Chem., 218, 16, 5785—5789, 1973.
10. Hunter A., Downs C. E. J. Biol. Chem., 157, 2, 427—446, 1945.
11. Pace C. A., Mead-R. A. Biochim. biophys. acta, 658, 2, 410—412, 1981.
12. Patk W. K., Nockumson S., Kim S. Biochem. Med., 19, 1, 39—46, 1978.
13. Rao R. V. R., Reddi R. R., Swami K. S. Int. J. Biochem., 4, 19, 62—70, 1973.
14. Rosenfeld J. L., Dutta S. P., Chheda G. B., Tittsch G. L. Biochim. biophys. acta, 110, 1, 184—186, 1973.

Получено 9.XI 1987 г.

Биолог. ж. Армении, № 1, (42), 1987

УДК 615.214.21

РЕЗЕРПИНОПОДОБНЫЕ ПСИХОТРОПНЫЕ СРЕДСТВА И ПОИСК НЕИРОЛЕПТИКОВ СРЕДИ ПРОИЗВОДНЫХ ИНДОЛОХИНОЛИЗИДИНА

Э. М. АРЗАНУНЦ

Институт тонкой органической химии им. А. Л. Миджояна
АН АрмССР, Ереван

Описаны известные психотропные средства, близкие к резерпину по структуре или механизму действия. Приведены также потенциальные нейротропические вещества—октагидроиндохинолизидины, содержащие в структуре, как и резерпин, индольный фрагмент.

Ներկայացված են նախնի պիրроլային կապեր, որոնք կառուցվածքով և ազդեցության մեխանիզմով մոտ են ռեզերպինին: Տեղեկատվ են նաև պոտենցիալ նեյրոտրոպիկ սիտակոնոլիզիդիններ, որոնք կառուցվածքով, ինչպես և ռեզերպինը, պարունակում են ինդոլային ֆրագմենտ:

The known psychotropic drugs, which are close in structure or mechanism of action to reserpine, have been reviewed on a comparative aspect. Potential neurotropic substances—octahydroindolizidines, containing in their structure, similar to reserpine, an indole fragment, have also been described.

Сокращения: 5-ОТФ—5-кетотрифенил-фан; 5-ОТ—серагонин; ИА—нораздреналин.

Современная психиатрия характеризуется бурным развитием медикаментозной терапии психических расстройств. Одним из первых антипсихотических средств является нейролептик резерпин—индольный алкалоид, выделенный из индийского растения раувольфии змеевиной в 1952 году. Фармакологи резерпина и других алкалоидов раувольфии посвящено большое число экспериментальных и клинических исследований, обобщенных в ряде монографий и обзоров. Механизм центрального, особенно антипсихотического действия резерпина, остается пока еще не вполне выясненным. Известно, что резерпин нарушает способность внутриклеточного резервирования моноаминов в результате ингибирования Mg^{++} -зависимой АТФ-азы, фермента, обеспечивающего «закачку» катехоламинов и серотонина в гранулы [5]. Следствием ингибирования является опустошение свободных запасов медиаторов. В связи с наличием осложнений и значительного числа побочных эффектов удельный вес резерпина в клинической психофармакологии резко уменьшился [3].

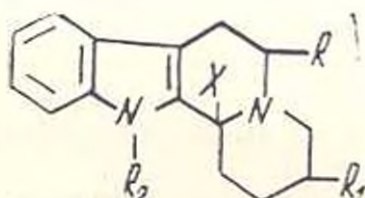
С целью создания синтетических заменителей алкалоида Шнайдер и Бросси в Базеле получили новую группу соединений—гексагидробензохинолизидины [14, 15], которые по своей структуре не принадлежат к индольным алкалоидам, таким как резерпин, но имеют общие фармакологические свойства и биохимический механизм действия. Клиническое применение в ряду бензохинолизидинов нашли тетрабеназин [10] и бензхинамид [15]. Бензохинолизидины отличаются друг от друга по фармакологической активности, но ни один из них не обладает таким сильным и продолжительным действием, как резерпин.

Одним из направлений в поиске нейролептических средств явился синтез соединений, содержащих в молекуле, как и резерпин, индольный фрагмент. С этой целью в Институте фармакологии АМН СССР начиная с 50-х годов велись исследования по синтезу конденсированных систем индола, в том числе карболина и карбазола. Среди 26 производных γ -карболина с различными заместителями в ароматическом и пиперидиновом ядрах наиболее интересным представляется соединение карбидин, фармакологические свойства которого подробно изучены Барковым [3]. На основании химических наблюдений препарат рассматривается и как нейролептик и как антидепрессант. Близким к карбидину по структуре и типу нейротропного действия является его эзеллиновый аналог—каразедин [3].

В последние годы Харбертом и сопр. [8] исследована нейролептическая активность в ряду 5-арил тетрагидро- γ -карболина. Среди них флуорофенил производное пиперидиндола флутропин проявляет в эксперименте выраженные нейролептические свойства. Среди производных пиперазинил карбазола определенный интерес представляет препарат BW-234 V фирмы «Wellcome» США, который на основании результатов экспериментальных исследований рекомендуется авторами как потенциальное нейролептическое средство, не вызывающее экстрапирамидных расстройств [7].

В ряду β -карболинов не обнаружены вещества, обладающие нейролептической активностью. Однако структурные аналоги тетрагидро- β -карболинов октагидропроизводные хинолизины рекомендуются в американских патентах в качестве седативных и транквилизирующих средств, а в голландском патенте указывается на ретерпиноподобные свойства замещенных индолохинолизидинов [2], что послужило основанием для синтеза в ИТОХ АН АрмССР индолохинолизидинов с аугулярным (при C_{12}) метильным радикалом [6] и позднее соединений, имеющих заместители у атома азота индольного кольца [1]. Структурные формулы этих соединений представлены в табл. 1.

Таблица 1. Производные октагидроиндолохинолизины



№№ п.п.	X	R	R ₁	R ₂
1	CH ₃	H	H	H
2	CH ₃	H	CH ₃	H
3	CH ₃	H	C ₂ H ₅	H
4	CH ₃	H	C ₃ H ₇	H
5	CH ₃	H	C ₄ H ₉	H
6	CH ₃	CH ₃	H	H
7	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H
8	CH ₃	CH ₃	C ₂ H ₅	H
9	CH ₃	H	CH ₃	CH ₃
10	CH ₃	H	C ₂ H ₅	CH ₃
11	CH ₃	H	C ₃ H ₇	CH ₃
12	CH ₃	H	C ₄ H ₉	CH ₃

Ниже приводятся результаты изучения психотропной активности синтезированных индолохинолизидинов, зависимости действия от структуры.

Материал и методики. Использованы беспородные белые мыши обоего пола массой 18—22 г и крысы—150—180 г. Изучали влияние соединений на повышение двигательную активность, тонус скелетной мускулатуры. Соединения вводили под кожу в дозах 1, 10, 50 и 100 мг/кг. Определяли ED_{50} для активных соединений, которые вводили мышам внутривенно.

Для изучения влияния на депримирующие эффекты резерпина соединения вводили подкожно мышам в дозе 10 мг/кг за 1 час до внутривенной инъекции резерпина (1 мг/кг), хлорам—в дозе 20 мг/кг спустя 18 ч после нейротоксика (2,5 мг/кг). Регистрировали изменения поведения, температуры и плазмой шели до и спустя 1, 3, 5 и 24 ч после введения резерпина. Исследовали также влияние соединений (20 мг/кг) на эффекты синтетических пембутала (20 мг/кг), хлорам (700 мг/кг) и тексокала (60 мг/кг). Продолжительность сна определяли до времени исчезновения и появления рефлекса выпрямления.

В опытах на мышах изучали влияние соединений (10 мг/кг) на токсичность фенимина (20 мг/кг) у животных (по 10 мышей в группе), на ареколиновый (25 мг/кг) тремор, корчоватые судороги (90 мг/кг), влияние на аноморфинные (30 мг/кг) гипотонию и стереоинию. Соединения вводили за 45 мин до стимуляторов. Влияние на встряхивания головы у мышей, вызываемые 5-ОТФ, определяли путем введения соединений подкожно в дозе 10 мг/кг до внутривенного введения 5-ОТФ (50 мг/кг).

В опытах *in vivo* изучали влияние соединений на содержание 5-ОТ и НА в гомогенатах мозга крыс. Содержание 5-ОТ и НА определяли спустя 1 час после инъекции соединений в дозе 10 мг/кг. Амины выделяли из гомогенатов методом ионообменной хроматографии и определяли спектрофотометрически [4].

Экспериментальные данные обработаны статистически по Стьюденту-Фишеру и Лигитилу-Уилкоксоу.

Результаты и обсуждение. Как показали исследования, индолохинолизидины без заместителя при пиррольном атоме азота, а также N-метил замещенные соединения (табл. 1, №№ 1—12), введенные мышам и крысам в дозах 10, 20 и 100 мг/кг, вызывают отчетливое угнетение поведения животных: малоподвижность, скученность, замедление дыхания. Наряду с этим, отмечено понижение температуры. Наиболее выраженным седативным и гипотермическим действием обладают соединения 1, 2, 6 и 9. Интенсивность гипотермии—функция дозы. Через 3—5 ч температура животных приближается к исходной. Соединение 2 даже в дозе 1 мг/кг понижает кожную температуру мышей на 3,4° в течение 30 минут. У крыс, леченных соединениями 1, 2, 6, 9 и 10, отмечено небольшое сужение глазной щели—блефароптоз. Крысы спонтанно принимают необычные позы, напоминающие состояние катаlepsии. Катаlepsия сохраняется более 5 ч и не усиливается с увеличением дозы.

Исследованные соединения не влияют существенно на депримирующие эффекты резерпина, противодействуя в некоторой степени лишь развитию блефароптоза. Соединение 2 потенцирует спотворное действие нембутала, гексенала и уретана ($P < 0,05$), а соединение 9—только гексенала ($P < 0,001$). Остальные соединения не влияют на эффекты спотворных. Индолохинолизидины не влияют на токсичность фенамина у мышей и на гиперкинез, вызванный у мышей введением 5-ОТФ.

Соединения 2 и 9 усиливают в течение 3 ч гипотермический эффект апоморфина, противодействуя апоморфиновой стереотипии, и не влияют на коразоловые судороги и ареколиновый тремор у мышей. ЛД₅₀ соединений 2 и 9 у мышей составляют 119,0 (110,9—127,7) и 92,0 (88,9—95,1) мг/кг соответственно.

Таблица 2. Влияние индолохинолизидинов 1 и 2 на содержание 5-ОТ и НА в мозге крыс через 1 час после их введения в дозе 10 мг/кг

	5-ОТ, мкг/г	НА, мкг/г
Контроль	0.36±0.02	0.33±0.03
Соединение 1	0.45±0.03	0.42±0.02; $P < 0.02$
Соединение 2	0.68±0.03	0.37±0.02
	$P < 0.05$	

Индолохинолизидины 1 и 2 повышают содержание 5-ОТ мозга крыс на 21 и 78% соответственно спустя 1 час после инъекции (табл. 2). После введения соединения 2 уровень 5-ОТ сохраняется на 26% выше контрольного даже через 3 ч и восстанавливается лишь через 18 часов.

Уровень НА в мозге крыс повышается на 27% только после введения соединения 1. Остальные соединения не влияют существенно на его количество в мозге.

Таким образом, индолохинолизидины с ангуляриой метильной группой без заместителя при пиррольном атоме азота, а также N-метилзамещенные соединения вызывают у мышей и крыс, подобно резерпину, симптомы депрессивного действия: угнетение поведения, катапексию, гипотермию, блефароптоз.

В результате исследования психотропных свойств 12 производных индолохинолизидина выраженное нейролептическое действие выявлено у соединения 2, имеющего метильный радикал у третьего углеродного атома (условное название индохин). В отличие от резерпиноподобных средств угнетающее действие этого соединения сопровождается повышением содержания серотонина в мозге в связи с ингибиторным торможением дегаминирования амина. Результаты клинической апробации показали, что индохин оказался эффективным при лечении перекро выраженных вегетативных и параноидных состояний, сопровождаемых внутренним беспокойством. Однако индохин существенно уступает аминазину, тизерпину, амитриптилину, успешно используемым клиницистами для лечения больных в рамках «больших психозов».

Арсенал нейролептических средств пополняется новыми препаратами, принадлежащими к разным классам химических соединений и обладающими разными спектрами фармакологического действия. Большой практический и теоретический интерес представляют два нейролептика принципиально иной химической структуры, содержащей индольный фрагмент оксипертин [12] и молиндон [11]. В последние годы нейролептическая активность выявлена также у некоторых индольных производных флуоробутирофенона, известных под названием бириперон и милонперон [13].

Итак, существующие нейролептические средства, близкие к резерпину по структуре или механизму действия, не представляют однородной в химическом отношении группы. В связи с тем, что, согласно научным прогнозам, психотропные средства будут занимать одно из ведущих мест в фармакологии будущего, поиск веществ, обладающих антипсихотической активностью, весьма перспективен среди соединений с различной химической структурой, в том числе и среди производных индола, известных своей широкой биологической активностью [9].

ЛИТЕРАТУРА

1. Аветян В. Г., Мисропян Л. Г., Шахматова Р. К., Широкий Ф. Р., Арзуманян Э. М., Саркисян Н. С. Хим.-фарм. ж., 5, 44—48, 1982.
2. Патент Голландский 109.512 (1963), С. А. 62. 10438, 1965. Патент США 3.151.110 (1964), С. А. 61.16080, 1964.
3. Рагаский К. С. Фармакология нейролептиков. М., 1976.
4. Сафразбекян Р. Р., Арзуманян Э. М. Лаб. дело, 1, 226—227, 1977.
5. Успенский А. Е. Ж. невропатол. и психиатр., 6, 943—947, 1981.
6. Широкий Ф. Р., Аджамян Л. В., Шахматова Р. Р., Геряев Г. Т. Арм. хим. ж., 20, 8, 649—656, 1967.

7. Ferris R. M., Harfenist M., McKenzie G. M., Cooper B., Soroco F. E., Maxwell R. A. *J. Pharm. Pharmacol.*, 31, 388—390, 1982.
8. Herbert Ch. A., Plattner J. J., Welch W. M., Weissman A., Koe B. K. *J. Med. Chem.*, 23, 635—643, 1980.
9. Krishna C. J., Pooran Ch. *Die Pharmazie*, 37, 1, 1—13, 1982.
10. Lingjaerde O. *Acta psychiat. scand.*, 31, 170, 1963.
11. Meller E., Friedman E. J. *Pharmacol. Exp. Ther.*, 220, 3, 609—615, 1972.
12. Moroji T., Okayama T., Hagiya Y., Sekiguchi K. *Arzneim.-Forsch.*, 36, 5, 801—808, 1986.
13. Negwer M. *Organic-chemical drugs and their synonyms*. Berlin, 2, 7057, 7269, 1987.
14. Pleischer A., Frossi A., Gey K. F. *Intern. Rev. of Neurobiol.*, 4, 275—305, 1962.
15. Scriabine A., Weissman A., Finger K. F., Delahunt C. S., Constantine J. W., Scheider J. A. *Jama*, 191, 4, 276—279, 1961.

Поступило 23.X 1987 г.

О СОСТОЯНИИ ВОДЫ В МЕМБРАНЕ

В. Б. АРАКЕЛЯН

Ереванский физический институт ГКАЭ СССР

Мембрана—вода.

Считается, что вода в мембране находится в виде отдельных молекул, причем эти молекулы расположены в дефектах углеводородных хвостов—кинках [4]. Однако не исключена возможность, что вода в мембране может находиться также в виде микроскопических капель [1]. Такая возможность может реализоваться, если поверхностное натяжение на границе водной капли с углеводородом гораздо ниже, чем на макроскопической границе вода—углеводород. Проведем расчет зависимости поверхностного натяжения сферической капли воды от радиуса $\sigma(r)$, основываясь на данных работ [2, 5, 6]. Согласно [5, 6], свойства воды у гидрофобной поверхности отличаются от свойств объемной воды, и для описания поведения воды вблизи поверхности вводят параметр порядка η , который равен нулю в глубине водной фазы ($\eta = 0$) и некоторому значению $\eta = \eta_0$ на границе раздела. Энергия взаимодействия гидрофобной поверхности с водой имеет вид [6]

$$W = \int (\eta^2 + \xi^2 (\nabla \cdot \eta)^2) dv, \quad (1)$$

где ξ —характерная длина изменения параметра порядка ($\xi = 10 \text{ \AA}$ [5]), а интегрирование идет по объему капли. Из условия минимума W можно получить уравнение для η

$$\eta = \frac{\xi^2}{r^2} \frac{d}{dr} \left(r^2 \frac{d\eta}{dr} \right). \quad (2)$$

Решение (2) с учетом граничного условия $\eta(R) = \eta_0$ (R —радиус капли) имеет вид

$$\eta(r) = \eta_0 \frac{R \operatorname{sh}(r/\xi)}{r \operatorname{sh}(R/\xi)}. \quad (3)$$

Поставив (3) в (1), получим энергию сферической капли

$$W = \frac{4\pi R^2 \eta_0^2 \xi}{\operatorname{sh}^2(R/\xi)} \left(\frac{1}{2} \operatorname{sh}(2R/\xi) + \frac{\xi}{2R} (1 - \operatorname{ch}(2R/\xi)) \right). \quad (4)$$

Для плоской границы раздела $\eta^2 \xi = \sigma(\infty)$ [2], и тогда (4) можно переписать в виде

$$W = 4\pi R^2 \sigma(R), \quad (5)$$

$$\sigma(R) = \frac{\sigma(\infty)}{\operatorname{sh}^2(R/\xi)} \left(\frac{1}{2} \operatorname{sh}(2R/\xi) + \frac{\xi}{2R} (1 - \operatorname{ch}(2R/\xi)) \right). \quad (6)$$

Заметим, что при $R \gg \xi$ $\sigma(R) = \sigma(\infty)$, а при $R \ll \xi$ $\sigma(R) = R \sigma(\infty) / (3\xi)$, т. е. с уменьшением радиуса капли поверхностное натяжение уменьшается и при $R=0$, $\sigma=0$. На границе макроскопических фаз $\sigma(\infty) = 50$ эрг/см² [3], а для капли с $R=5$ Å из формулы (6) получим $\sigma = 8,3$ эрг/см². Поверхностная энергия согласно (5) будет при этом составлять 6,2 кТ (где k —постоянная Больцмана, T —температура), если же использовать макроскопическое значение σ , то получим 37,1 кТ. Эти числа показывают, что вероятность образования микроскопических капель с реальным значением σ на 13 порядков выше, чем оценки по макроскопическим значениям σ .

Выражаю благодарность Ю. А. Чизмаджеву и В. Ф. Пастушенко за полезные дискуссии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пастушенко В. Ф. Биофизика, 19, 2, 227—231, 1984.
2. Лейкиш С. Л., Глазер Р. В., Черноморских Л. В. Биол. мембраны, 3, 9, 944—951, 1986.
3. Адамсон А. Физическая химия поверхностей. М., 1979.
4. Träubel H. J. Membrane Biol., 4, 193—209, 1971.
5. Israelachvili J. N., Pashley R. M. J. Colloid and Interface Sci., 93, 500—514, 1984.
6. Marcelja S. Crit. Chem. Acta, 49, 347—377, 1977.

Поступило 14.XI 1988 г.

Биолог. ж. Армения, № 1, (12), 1989

УДК 612.35:537.2

ИОННАЯ ПРОНИЦАЕМОСТЬ БИСЛОЙНЫХ МЕМБРАН ИЗ ЛИПИДОВ ЭРИТРОЦИТОВ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКОГО ПОЛЯ

Г. Г. АРЦРЯНИ, Р. А. МАНУКЯН, С. А. БАДЖИНЯН

Ереванский медицинский институт

Мембраны бислойные липидные—эритроциты—электростатическое поле

Сильные электрические поля вызывают значительное увеличение проницаемости эритроцитарных мембран для моновалентных катионов в результате образования и увеличения размеров гидрофильных пор [5, 6, 9]. Ранее нами было показано, что воздействие ЭСП *in vivo* приво-

Сокращения: БЛМ—бислойные липидные мембраны, ЭСП—электростатическое поле

дит к повышению кислотной и осмотической резистентности эритроцитов крыс, что свидетельствует об упрочении эритроцитарных мембран [4]. Изучение липидного компонента эритроцитарных мембран после воздействия ЭСП представляет для нас определенный интерес, поскольку, являясь основой структурной организации мембран, липидный бислой обеспечивает эффективный транспорт ионов и без участия белковых транспортных систем. В настоящей работе представлены результаты исследования проводимости БЛМ, приготовленных из эритроцитарных липидов, для катионов Na^+ , K^+ , Ca^{2+} после воздействия ЭСП.

Материал и методика. Опыты проводили на беспородных крысах-самцах массой 120—150 г. Кровь после декапитации животных собирали в пробирки с 3%-ным раствором натрия. Эритроциты осаждали при 1000 об/мин в течение 10 мин и трижды отмывали изотоническим раствором (150 мМ NaCl , 10 мМ трис, pH 7.3). Липиды экстрагировали по методу Фолча [7]. Из высушенного липидного экстракта формировали бислойные мембраны по методу Мюллера [10]. Электрические измерения проводили при помощи высокоомного электрометра, используя пару хлорсеребряных электродов, погруженных в растворы KCl , NaCl , CaCl_2 (0.1 М) [2], при температуре 22—24°. Проводимость определяли по формуле $g = 1/\rho$, где ρ — удельное сопротивление мембраны (ом·см²). Результаты измерений представлены в виде графиков зависимости $\lg g$ от исследованных экспозиций поля.

Были проведены 2 серии экспериментов. В I серии исследовали проницаемость БЛМ из липидов эритроцитов крыс, подвергшихся воздействию ЭСП напряженностью 2 кВ/см, длительностью час, сутки, 6 сут по 6 ч ежедневно. ЭСП создавали при помощи установки, описанной в работе [1]. Во II серии опытов липиды, полученные из эритроцитов интактных животных, и чистый лецитин подвергали часовому воздействию ЭСП, после чего определяли проводимость БЛМ, приготовленных из этих липидов. Методом ТСХ проводили качественный анализ эритроцитарных липидов, разлагаемых в системе хлороформ—метанол—вода в соотношении 65:25:4.

Результаты и обсуждение. Результаты исследований (рис. а) показали, что часовая экспозиция *in vivo* приводит к увеличению проницаемости для Ca^{2+} на полтора порядка, для Na^+ и K^+ — более чем на порядок. При суточной экспозиции изменений не наблюдается, а после длительного пробного воздействия имеет место увеличение проводимости для Ca^{2+} по сравнению с контролем на порядок.

Часовая экспозиция ЭСП *in vitro* (рис. б) приводит к увеличению проницаемости для всех катионов на порядок. В опытах с лецитином, подвергшимся часовому воздействию поля, наблюдался противоположный эффект. Здесь имели место уменьшение проницаемости для Na^+ и Ca^{2+} в 10 раз.

Хроматография липидов не выявила изменений в качественном составе эритроцитарных липидов после воздействия ЭСП.

Как показали результаты наших исследований, часовое воздействие *in vivo* и *in vitro* приводит к односторонним сдвигам проводимости БЛМ. Следует отметить, что воздействию *in vitro* липиды подвергались в атмосфере азота с целью ингибирования возможных процессов окисления [3]. Говорить о конкретных механизмах изменения проницаемости липидного бислоя после воздействия ЭСП преждевременно. Однако мы можем предположить, что наблюдаемые эффекты являются следствием модификации полярных головок фосфолипидов из-за перераспределения заряда на них. Последнее в свою очередь

представляет собой истаточный эффект поляризации и деполяризации липидных молекул при наложении и снятии внешних ЭСП. Перераспределение и изменение заряда полярных головок в бислой может привести к фазовому переходу, образованию в бислой сквозных ионных каналов, изменению проницаемости, о чем свидетельствуют литературные данные [8, 11].

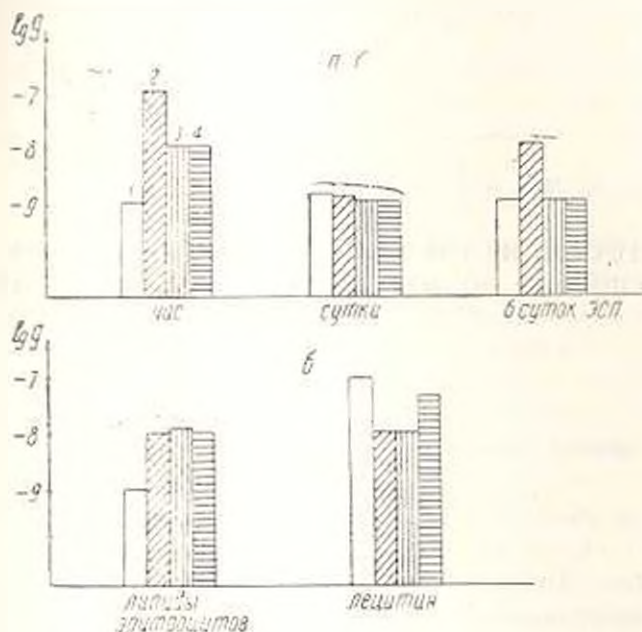


Рис. а. Проницаемость БЛМ из липидов эритроцитов после воздействия ЭСП *in vivo*; б. проницаемость БЛМ из липидов эритроцитов и лецитина, подвергшихся часовому воздействию ЭСП *in vitro*. 1—контроль; 2—проницаемость Ca²⁺; 3—Na⁺; 4—K⁺.

Как следует из полученных результатов, изменение липидной проницаемости имеет место после кратковременного воздействия ЭСП *in vivo* и *in vitro*. Это, по-видимому, является следствием непосредственного действия ЭСП на липиды, о чем свидетельствует также отсутствие изменений в липидном составе эритроцитов после воздействия ЭСП всех исследованных экспозиций.

Анализируя результаты наших исследований и некоторые литературные данные, мы можем заключить, что ЭСП является физическим фактором, воздействие которого приводит к модификации липидного компонента эритроцитарных мембран.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арцруни Г. Г. Мат-лы научн. конф. мол. уч., посвящ. 25-му съезду КПСС. 32, Ереван, 1975.
2. Баджиян С. С. Биолог. ж. Армении, 2, 6, 1976.
3. Владихиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
4. Манукян Р. А., Арцруни Г. Г. Тез. докл. 11 конф. по пробл. физ-хим биологии и биотехнологии в медицине. 39, Ереван, 1986.

5. Ben-Sasson Sh., Naaman J., Grover N. B. *Analyt. Quant. Cytol.*, 1, 4, 309—314, 1982.
6. Deuticke B. Hooper—Seyler's *Z. Physiol.*, 365, 3, 229—230, 1984.
7. Folch P. J., Lees M., Sloane—Stanley G. H. *J. Biol. Chem.*, 226, 1, 497—509, 1957.
8. Kimura J., Ikegami A. In *Abstr. 6th Internat. Biophys. Congress.*, 131, 1978.
9. Kinosita K., Tsong T. Y. *Biochim et Biophys. acta*, 554, 2, 479—497, 1979.
10. Mueller R., Rudin R., Tien G. *Nature*, 3, 1963.
11. Trauble H., Eibl H. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 71, 214—219, 1974.

Енолог. ж. Армении, № 1, (42), 1989

УДК 533.37

СВОБОДНОРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПЕЧЕНИ КРЫС, ПОДВЕРГШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКОГО ПОЛЯ

Г. Г. АРЦРУНИ, А. Г. ОГАНОВА

Печень—свободные радикалы—электростатическое поле

В литературе [3, 4, 7] приводятся данные, свидетельствующие о влиянии ЭСП на окислительно-восстановительные процессы в биологических системах. Переносчиком электронов в окислительно-восстановительных процессах являются соединения свободнорадикального типа (СР), дающие характерный сигнал ЭНР с g -фактором, близким к g -фактору свободного электрона [1]. Соответственно уровень свободнорадикальной активности (концентрация СР) может служить показателем интенсивности окислительно-восстановительных процессов.

В настоящей работе приводятся результаты исследования методом ЭНР-спектроскопии свободнорадикальной активности целостной ткани печени крыс, подвергшихся воздействию ЭСП.

Материал и методика. Эксперименты проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 150—180 г, которых подвергали воздействию ЭСП напряженностью 2000 в/см. Продолжительность воздействия составляла один час, сутки, и 6 дней в сутки. ЭСП создавали при помощи установки, описанной в работе [2]. Сразу после воздействия ЭСП животных декапитировали, извлеченную печень помещали в специальную форму, которую погружали в жидкий азот [5]. Получаемая таким образом таблетка служила образцом для ЭНР-измерений. Образцы хранили при температуре жидкого азота. Во избежание влияния циркадных ритмов контрольные и экспериментальные заборы проводили в одно и то же время.

Спектры ЭНР регистрировали на ЭНР-спектрометре типа ЭНР-В X-диапазона в специальной кварцевой ювенте при температуре паров жидкого азота. Концентрацию свободных радикалов в образце оценивали по относительной интенсивности наибольшей компоненты спектра с g -фактором 2,004. В качестве репера относительной интенсивности сигнала использовали третью и четвертую компоненты спектра Mn^{2+} в поликристаллической решетке MgO , стационарно закрепленного в боковом отверстии резонатора. Относительная ошибка измерения не превышала 10%. Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием критерия Фишера—Стьюдента.

Результаты и обсуждение. В таблице приведены значения относительной интенсивности сигнала ЭПР целостной ткани печени после воздействия ЭСП разных экспозиций. Как видно, часовое воздействие ЭСП вызывает увеличение концентрации СР, суточная экспозиция не приводит к достоверным изменениям, а длительное дробное воздействие уменьшает концентрацию СР в ткани.

Относительные интенсивности сигналов ЭПР печени крыс, подвергшихся воздействию ЭСП

Длительность воздействия ЭСП	Контроль	Час	Сутки	Неделя
Количество животных	23	22	21	22
Относительная интенсивность сигнала	1.51 ± 0.05	1.73 ± 0.08	1.51 ± 0.05	1.25 ± 0.07
		$P < 0.05$	$P > 0.05$	$P < 0.01$

Сопоставление этих данных с результатами проведенного нами ранее [6] исследования свободно-радикальной активности митохондрий указывает, что реакция целостной ткани на воздействие ЭСП отличается от реакции митохондрий при аналогичных экспозициях поля: концентрация СР в митохондриях ниже контрольной. Совокупность приведенных данных указывает на то, что под воздействием ЭСП повышается концентрация немитохондриальных СР, т. е. активируются немитохондриальные процессы окисления.

Принимая во внимание тот факт, что в общую интенсивность сигнала целостной ткани печени основной вклад (более 50%) вносят СР митохондрий [1], можно оценить степень активации немитохондриального окисления. Так, после суточного воздействия концентрация СР в митохондриях уменьшается вдвое, в то же время в целостной ткани она практически не изменяется. Подобные соотношения могут иметь место при условии увеличения концентрации немитохондриальных СР более чем на 50%. При часовой экспозиции концентрация СР в митохондриях не претерпевает достоверных сдвигов, и очевидно, что наблюдаемое повышение свободно-радикальной активности целостной ткани обусловлено соответствующим увеличением концентрации немитохондриальных СР. После недельной экспозиции изменения концентрации СР в митохондриях и целостной ткани однонаправлены и близки по величине, следовательно, концентрация немитохондриальных СР в этом случае меняется незначительно.

Результаты проведенного анализа согласуются с имеющимися данными о том, что под воздействием ЭСП повышается окислительно-восстановительный потенциал и усиливается перекисное окисление, а также с количественной оценкой зависимости этих параметров от длительности экспозиции [3, 4].

Таким образом, ЭСП оказывает разнонаправленное действие на свободнорадикальную активность различных звеньев окислительных систем клеток печени.

1. Ажила Я. И. Медико-биологические аспекты применения метода электронного парамагнитного резонанса. М., 1983.
2. Арицруни Г. Г. Мат-лы научн. конф. мол. ученых. 32, Ереван, 1975.
3. Арицруни Г. Г., Межлумян Л. М., Саакян Р. А. Биол. ж. Армении, 33, 11, 1185--1188, 1980.
4. Арицруни Г. Г., Тер-Маркосян А. С. Биол. ж. Армении, 31, 7, 739—741, 1978.
5. Коваленко О. А., Анфилова Т. В., Соколов В. С., Чибрикин В. М. Биофизика, 16, 4, 663, 1971.
6. Мкртчян С. А., Арицруни Г. Г. Биол. ж. Армении, 31, 7, 750—757, 1978.
7. Пирузян Т. А., Арицруни Г. Г., Роминян Г. В., Кутузов А. Д. Изв. АН СССР, сер. биол., 5, 450—456, 1976.

Поступило 2 III 1988 г.

Биол. ж. Армении, № 1, (42), 1989

УДК 577.1

ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ ТКАНЕЙ ЖЕЛУДКА И ТОНКОГО КИШЕЧНИКА

Г. М. МИНАСЯН, А. С. ОГАНЕСЯН

Кироваканский педагогический институт, Институт биохимии
АН АрмССР, Ереван

Излучение ионизирующее—желудок—тонкий кишечник—активность антиоксидантная.

Ранее нами было показано, что желудок и тонкий кишечник белых крыс вырабатывают и выделяют в кровь определенные факторы, обладающие антиоксидантными свойствами. Вместе с тем установлено снижение их активности при экспериментальной язве желудка. По некоторым данным, при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки наблюдается усиление свободно-радикального перекисного окисления липидов—повышение содержания МДА в сыворотке и эритроцитах крови [2, 3].

Известно, что при ионизирующем излучении, наряду с множественными метаболическими, морфологическими и функциональными нарушениями в различных органах, имеют место также тяжелое расстройство деятельности желудочно-кишечного тракта, снижение устойчивости живого организма к радиационному повреждению. Между тем при экранировании почек наблюдаются менее тяжелые лучевые повреждения, смертность животных резко снижается и примерно через 30 дней по внешнему виду и по поведению они не отличаются от здоровых [4].

Сокращения: МДА—малондиальдегид; ПОЛ—перекисное окисление липидов.

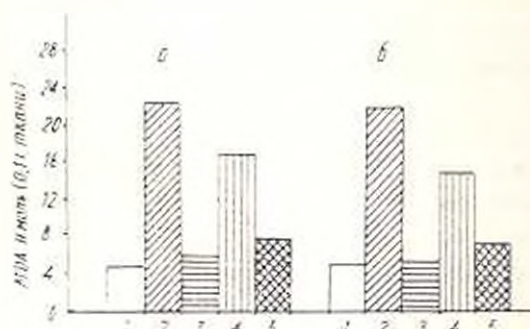
Имеем в виду вышесказанное, мы провели ряд экспериментов (на белых крысах) по изучению влияния рентгеновского облучения (800 Р, общее, однократное) на антиоксидантную активность желудочной и кишечной тканей. Исследовали влияние гомогенатов этих органов облученных животных на ПОЛ в печеночной ткани здоровых животных по методике Владимирова и Арчакова [1]. Опыты проводили в разные сроки после облучения начиная с 8-го дня, когда были явно выражены повреждения (таблица).

Морфологическая картина крови животных в различные сроки после облучения

Дни после облучения	Без экранирования почек			С экранированием почек		
	количество		содержание гемоглобина, %	количество		содержание гемоглобина, %
	лейкоцитов в 1 мм ³	эритроцитов в 1 мм ³		лейкоцитов в 1 мм ³	эритроцитов в 1 мм ³	
Норма	5600	5300000	82			
8	1200	2500000	32	2800	3500000	62
20	—	—	—	4250	4800000	74
30	—	—	—	5200	5100000	80

Наряду с ухудшением морфологической картины крови, на 8-й день после облучения наблюдалось также резкое ограничение двигательной активности животных, снижение пищевой возбудимости и тяжелое расстройство деятельности желудочно-кишечного тракта.

Как показывает рисунок, в ходе часовой инкубации в результате усиления процессов ПОЛ значительно повышается содержание МДА в печеночной ткани здоровых животных, в присутствии желудочной и кишечной тканей здоровых животных отмечается резкое подавление



Влияние неионизирующего излучения на активность антиоксидантных факторов желудочной (а) и кишечной (б) тканей (на 8-й день после облучения). Интенсивность процессов ПОЛ в печеночной ткани здоровых животных: 1—контроль до инкубации, 2—контроль после инкубации, 3—+гомогенат желудочной или кишечной тканей здоровых животных, 4—+гомогенат желудочной или кишечной тканей облученных животных, 5—+гомогенат желудочной или кишечной тканей облученных животных с экранированием почек.

этих процессов и снижение содержания МДА до исходного уровня. Иная картина наблюдалась в опытах с тканями желудка и кишечника облученных животных. Образование МДА в этих тканях на 8-й день

после облучения подавляется в значительно меньшей мере (рис.). Подобное явление наблюдается и в отношении действия этих факторов на процессы ПОЛ в почечной и мозговой тканях. Как видно, у облученных животных снижается антиоксидантная активность желудочной и кишечной тканей. Интересные результаты были получены при экранировании почек при облучении животных. Как показывают приведенные данные (рис.), в этих условиях антиоксидантная активность желудка и кишечника угнетается в сравнительно меньшей мере, и в течение короткого времени (примерно в течение 30 дней) признаки лучевого поражения постепенно проходят, общее состояние животных улучшается.

Приведенные данные четко показывают, что желудок и тонкий кишечник обладают выраженной антиоксидантной активностью. Под действием ионизирующего излучения, когда проявляются признаки лучевой болезни с тяжелыми нарушениями деятельности желудочно-кишечного тракта, а также резко выраженной лейкопенией, эритропенией, гипогемоглобинемией, значительно угнетается антиоксидантная способность желудка и кишечника. Смертность в этих условиях высокая. Однако при экранировании почек подавление антиоксидантной активности указанных органов менее выражено и через небольшой промежуток времени проходит, а смертность экспериментальных животных значительно снижается.

Наложено полагать, что деятельность желудочно-кишечного тракта в определенной мере находится под контролем почек, так как при их значительном нарушении метаболической и функциональной деятельности указанных органов менее выражено. Ранее [4] нами было высказано мнение о том, что, по-видимому, почки вырабатывают и выделяют в кровь определенное вещество, способствующее защите организма от лучевых повреждений. Приведенные в настоящем сообщении данные подтверждают это предположение и дают основание полагать, что благотворное действие почек осуществляется также через желудочно-кишечный тракт, при этом сохраняется на высоком уровне способность этих органов вырабатывать активные антиоксидантные факторы. Известно, что обострение хронической почечной недостаточности часто сопровождается нарушениями деятельности желудочно-кишечного тракта и, наоборот, при улучшении деятельности почек восстанавливается нормальное функционирование желудочно-кишечного тракта.

Выявление антиоксидантной функции желудка и тонкого кишечника существенно меняет наши представления о деятельности этих органов, позволяя разработать новые подходы к изучению возникновения и к устранению их патологии, а также установлению их связи с общим функциональным состоянием организма. Эти органы, выделяя антиоксидантные факторы, способствуют сохранению устойчивости организма к повреждающим (агентам и внутренним) агентам и сохранению иммунитета на высоком уровне.

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
2. Куликов В. Ю., Ермолева В. В., Колесникова Л. Н. *Вопр. мед. химии*, 25, 3, 289—292, 1979.
3. Куликов В. Ю., Ермолева В. В., Мамонтова Л. Р. *Вопр. мед. химии*, 27, 4, 463—465, 1981.
4. Минасян Г. М. Автореф. канд. дисс. Ереван, 1975.

Поступило 20.VI 1988 г.

Биол. ж. Армении. № 1. (42). 1989

УДК 547.455.623+616.833.181:577.17

ВЛИЯНИЕ ПАРАТИРЕОИДНОЙ СУБСТАНЦИИ НА УТИЛИЗАЦИЮ ГЛЮКОЗЫ ГАНГЛИЯМИ УЛИТКИ

А. С. ТЕР-МАРКОСЯН

Ереванский государственный медицинский институт,
кафедра нормальной физиологии

Одним из важнейших показателей функционального состояния тканей, в том числе и нервной, является ее энергетический обмен. Изменение гормонального фона организма, являясь мощным стимулятором для метаболических перестроек, может вовлечь в этот процесс и энергетический обмен. В ранее проведенных нами исследованиях было выявлено увеличение скорости потребления кислорода митохондриями головного мозга и уменьшение эффективности фосфорилирования при гипофункции околотитовидных желез [2], нарушение выброса тормозного нейромедиатора ГАМК синапсами коры мозга как в условиях дефицита паратиреоидного гормона, так и его действия *in vitro* [3], а также понижение хеморецептивных свойств нейрональной мембраны [4]. Эти результаты и данные литературы [11, 17] прямо или косвенно свидетельствуют о включении паратормона в механизмы регуляции энергетического обмена в нервной ткани.

В связи со сказанным представлялось интересным изучение влияния паратиреоидного гормона на утилизацию глюкозы—основного энергетического субстрата нервной ткани. Для определения эффективности энергетического обмена важным является сопоставление окисления глюкозы по гликолитическому пути с последующим включением в цикл Кребса с ее расщеплением по пентозомонофосфатному пути.

Материал и методы. Исследования проводили на окологлоточных ганглиях улитки *Helix*, являющихся удобной моделью изучения в силу сохранения интактности и условиях их препарирования. Ганглии инкубировали в 2 мл раствора Рингера, содержащего (в мМ): NaCl—85, KCl—4, CaCl₂—2, MgCl₂—14, Трис-HCl—10 (pH 7,0) и 5 мкКи ¹⁴C-глюкозы, 10⁻⁶ М ПТС (Sigma). Инкубацию ганглиев проводили в специальном сосуде, к центру которого была припаяна стеклянная воронка, содержащая

Сокращения: ПТС—паратиреоидная субстанция.

0,1 мл ФЭА—поглотителя CO_2 . Исследования проводили в динамике. Через определенные промежутки времени (1, 5, 10, 15 и 30 мин) собирали ФЭА шприцем через отверстие в крышке сосуда, имеющей резиновую прокладку, которая препятствовала потерям CO_2 . Затем сразу же воронку тем же способом, но уже другим шприцем заполняли новой порцией ФЭА. После последнего сбора ФЭА, насыщенного $^{14}\text{CO}_2$, реакцию останавливали 1 мл 2 НСН₃. Отобранные пробы добавляли в толуоловый центрифугатор. Измерения проводили на синтетическом спектрометре SI-4241 (Intensitiprim, Франция). Эффективность пентозомонофосфатного пути определяли сопоставлением скоростей окисления глюкозы меченной по C_1 и C_6 , об активности же энергетического процесса глюкозы судили по интенсивности окисления $^{14}\text{C}_6$ -глюкозы. В каждом опыте ставили по 3—5 параллелей, полученные значения усредняли. Статистическую обработку указанных средних величин производили по параметрическому критерию Вилкоксона. Сдвиги и количество выделившегося $^{14}\text{CO}_2$ относительно контроля выражали в процентах.

Результаты и обсуждение. Результаты исследования приведены в таблице, из которой следует, что ИТС приводит к подавлению окисления $^{14}\text{C}_6$ -глюкозы во все сроки исследования. Это свидетельствует об уменьшении эффективности ее энергетического обмена. По данным литературы [1, 6], паратгормон в некоторых тканях активизирует гликолиз и, наоборот, подавляет последующие реакции цикла Кребса. Если судить по выходу $^{14}\text{CO}_2$, то в условиях действия ИТС, на всей видности, степень подавления цикла Кребса выше активации гликолиза. Наряду с подавлением процесса образования $^{14}\text{C}_6\text{O}_2$, наблюдается также уменьшение выделявшегося $^{14}\text{C}_1\text{O}_2$, но в меньшей мере, что указывает на активацию пентозомонофосфатного пути. Исключение составила 5-минутная экспозиция, когда имело место угнетение обоих путей окисления глюкозы. Подобную картину мы наблюдали и при изучении влияния ИТС на Ca^{2+} -аккумулирующую способность ганглиев [5]. При этом во все сроки исследования вход Ca^{2+} в ганглии активировался, и лишь на 5-й минуте было обнаружено торможение этого процесса.

Изменение количества высвобождавшегося $^{14}\text{CO}_2$ при окислении глюкозы в условиях действия ИТС, %

Субстрат окисления	Время инкубации, мин				
	1	5	10	15	30
$^{14}\text{C}_6$ -глюкоза	-9.96 $n_1=7, n_2=8$ $P>0.05$	-26.03 $n_1=14, n_2=14$ $P<0.01$	-12.12 $n_1=15, n_2=12$ $P<0.05$	-11.32 $n_1=13, n_2=11$ $P<0.05$	-3.83 $n_1=6, n_2=4$ $P>0.05$
$^{14}\text{C}_1$ -глюкоза	28.91 $n_1=4, n_2=4$ $P=0.05$	-11.06 $n_1=13, n_2=15$ $P<0.05$	-16.65 $n_1=18, n_2=18$ $P<0.01$	-22.00 $n_1=19, n_2=19$ $P<0.01$	19.24 $n_1=14, n_2=15$ $P<0.01$
Эффективность шунта	18.95	14.97	1.53	10.68	15.41

Примечание: n_1 —количество контрольных проб; n_2 —количество опытных проб.

Из приведенных данных следует, что максимальные сдвиги в энергетическом обмене и эффективности пентозомонофосфатного шунта на-

бюлаются через 1 мин после инициации реакции меченой глюкозой, что также хорошо коррелирует с результатами наших предыдущих исследований по изучению Ca^{2+} -аккумулирующей способности синапсом [4] и ганглиев [5] в условиях действия ПТС, а также с данными литературы [12]. Корреляция между изученными параметрами и Ca^{2+} -аккумулирующей способностью ганглиев позволяет предположить, что механизм действия ПТС на утилизацию глюкозы имеет кальцийзависимый характер.

Известно, что паратгормон стимулирует синтез РНК, ДНК и белка [10]. Не исключено, что именно активация пентозомонофосфатного шунта, являющегося основным источником пентол, обеспечивает избыточный синтез нуклеотидов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ньюман У., Ньюман М. Минеральный обмен кости М., 1961.
2. Овсепян Р. С., Тер-Маркосян А. С., Худавердян Д. Н. Проблемы эндокринологии, 27, 5, 75, 1981.
3. Худавердян Д. Н., Крыжановский Г. Н., Тер-Маркосян А. С., Луценко В. К. Тез. докл. Второй конф. по пробл. физико-химической биологии и биотехнологии в медицине. 61, Ереван, 1986.
4. Худавердян Д. Н., Тер-Маркосян А. С., Айрапетян С. Н. Четвертый съезд Арм. физиол. об-ва, Ереван, 93, 1978.
5. Худавердян Д. Н., Тер-Маркосян А. С., Айрапетян С. Н. Кальцийрегулирующая система в норме и патологии, 23, Ереван, 1988.
6. Cohn D. V. Endocrinol., 74, 1, 133, 1964.
7. Cohn D. V., Ellen G. Endocrinol., 79, 5, 1001, 1966.
8. Fang M., Rasmussen H. Endocrinol., 75, 3, 434, 1964.
9. Firschein M. E. Biophys. Acta, 58, 3, 626, 1962.
10. Lili K. Bone behavior. Acad. Press., N. Y., 1973.
11. Salts J. D., De Luca H. F. J. Biol. Chem., 241, 5, 1122, 1966.
12. Strickland M. L., Moore P. L., Pang P. K., Crass T. J. Comp. Physiol., 147, 1, 101, 1982.

Поступило 11 1988 г.

Биолог. ж. Армения № 1, (42), 1989

УДК 577.151.012.2+537.151.042.5:591.434

РОЛЬ ТИОЛОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ В РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ

Г. Т. АДЖИЦ, Л. В. САРКИСЯН, Г. Г. АДЖИЦ

Институт биохимии АН АрмССР, Ереван

Щелочная фосфатаза — глутатион — почки — кишечник.

Полученные нами ранее данные о блокирующем действии высоких концентраций цистина на центр активного центра щелочной фосфатазы [1, 3], равно как и предварительные результаты, свидетельствующие об активировании этого фермента цистином, побудили нас приступить к изучению таких тиоловых соединений, как цистин и глутатион.

Цель настоящей работы состояла в изучении действия соединений, содержащих сульфгидрильные и дисульфидные группы, и, в частности, восстановленного и окисленного глутатиона, цистеина и цистина, на активность щелочной фосфатазы срезов кишок и почек белых крыс, а также на коммерческий препарат щелочной фосфатазы тонких кишок телят.

Материал и методика. Опыты ставили на отрезках 12-перстной части тонких кишок и срезах почек белых крыс массой 100—120 г, а также на очищенном ферменте из слизистой оболочки тонких кишок телят фирмы «Sigma» (США). В качестве субстрата, приготовленного на мидиналозом буфера (рН 9.6), использовали пара-нитро-фенилфосфат в конечной концентрации 2 мМ. Концентрацию фермента в реакционной среде поддерживали в пределах 0,08 Е при заданных стандартных условиях. Об активности фермента судили по нарастающему количеству п-нитрофенола и течение 10 мин при 30°. Количество п-нитрофенола определяли фотометрически на ФЭК-56 М со светофильтром с пропусканием $\lambda=410$ нм [4]. Окисленный и восстановленный глутатион, цистин и цистеин использовали в конечных концентрациях 1,0; 0,5 и 0,1 мМ. В таблицах приведены средние данные 6 опытов.

Результаты и обсуждение. Из табл. 1 видно, что восстановленный глутатион и цистеин резко ингибируют очищенную щелочную фосфатазу при концентрации 1 мМ, а при концентрациях 0,5 и 0,1 мМ отмечается некоторое ослабление этого эффекта. Максимальный активизирующий эффект окисленного глутатиона и цистина наблюдался при их концентрации 0,1 мМ. При возрастании ее в инкубационной смеси он ослабевал или даже отмечалось некоторое ингибирование активности фермента.

Таблица 1. Действие восстановленного и окисленного глутатиона, цистеина и цистина на активность очищенной щелочной фосфатазы, мкг п-нитрофенола на мг ферментативного белка мин

Очищенный фермент	Глутатион восстановленный, мМ				Глутатион окисленный, мМ			
	Норма			Норма	Норма			Норма
	1	0.5	0.1		1	0.5	0.1	
	26.25± 1.06	8.9± 1.05	16.0± 1.4	20.0± 2.95	26.0± 1.06	17.3± 0.49	26.0± 1.06	73.0± 2.03
	P=0.001	P<0.001	P<0.001		P<0.001	P=0	P<0.001	
	Цистеин, мМ				Цистин, мМ			
	Норма			Норма	Норма			Норма
	1	0.5	0.1		1	0.5	0.1	
	26.25± 1.06	5.7± 0.7	13.3± 1.3	16.7± 1.24	26.25± 1.06	26.0± 1.09	29.0± 0.98	35.0± 2.94
	P<0.001	P=0.001	P=0.001		P>0.5	P=0.1	P=0.02	

Наши предыдущие исследования показали различия между данными, полученными на очищенном препарате фермента и гомогенатах. Частичная термоннактивация очищенной щелочной фосфатазы кишок цыплят (фирма «Reanal, BHP») при 45°, 50° приводила к незначительному активированию фермента, а при 65°—к полной потере ее, терм-

инактивация томогенатов кишок цыплят вызвала ступенчатое понижение активности фермента в пределах 40—80° [2].

Изучение действия восстановленного и окисленного глутатиона, цистеина и цистина на активность щелочной фосфатазы срезов кишок и почек белых крыс на следующем этапе исследований показало, что полученные на отрезках кишок данные в целом сходны с результатами опытов по изучению действия цистенин-цистина на очищенный фермент (табл. 2).

Таблица 2. Действие восстановленного и окисленного глутатиона, цистеина и цистина на активность щелочной фосфатазы срезов тонких кишок белых крыс, мкг п-нитрофенола на мг ткани мин

Щелочная фосфатаза	Глутатин восстановленный, мМ				Глутатин окисленный, мМ			
	Норма			Норма	Норма			Норма
	1	0.5	0.1		1	0.5	0.1	
	2.5± 0.04 P<0.001	1.6± 0.06 P<0.001	2.2± 0.09 P<0.001	2.3± 0.04 P<0.01	2.1± 0.07	1.9± 0.07 P<0.001	4.7± 0.14 P<0.001	1.9± 0.05 P<0.02
	Цистенин, мМ				Цистин, мМ			
	Норма			Норма	Норма			Норма
	1	0.5	0.1		1	0.5	0.1	
	2.6± 0.07 P<0.001	1.4± 0.05 P<0.001	2.1± 0.08 P>0.001	2.5± 0.07 P>0.2	1.8±0	1.6± 0.07 P>0.02	2.9± 0.045 P<0.001	2.7± 0.08 P<0.001

Иной результат был получен при изучении окисленной и восстановленной форм глутатиона на активность щелочной фосфатазы почек крыс (табл. 3). Обе формы этого трипептида в концентрации 0,1 мМ

Таблица 3. Действие восстановительного и окислительного глутатиона, цистеина и цистина на активность щелочной фосфатазы срезов почек белых крыс, мкг п-нитрофенола на мг ткани мин

Щелочная фосфатаза	Глутатин восстановленный, мМ				Глутатин окисленный, мМ			
	Норма			Норма	Норма			Норма
	1	0.5	0.1		1	0.5	0.1	
	0.62± 0.02 P<0.001	0.55± 0.016 P<0.001	0.62± 0.007 P=0	1.125± 0.02 P<0.001	0.625 0.09 P<0.001	0.575± 0.018 P<0.001	0.715± 0.001 P<0.001	0.775± 0.02 P<0.002
	Цистенин, мМ				Цистин, мМ			
	Норма			Норма	Норма			Норма
	1	0.5	0.1		1	0.5	0.1	
	0.60± 0.01 P<0.001	0.46± 0.02 P<0.001	0.47± 0.01 P<0.001	0.50± 0.02 P<0.001	0.625± 0.017 P<0.001	0.55± 0.02 P<0.001	0.775± 0.04 P<0.01	1.0± 0.025 P<0.001

вызывали резкое повышение активности почечного фермента. По-видимому, в реализации этого эффекта существенную роль играет не

столько тиоловая группа остатка цистеина, сколько γ -глутамильный остаток. Подобной тканевой специфичности не было обнаружено при изучении регуляторного воздействия цистеина и цистина. Почечный фермент незначительно ингибировался в присутствии высоких концентраций цистеина (1 мМ и 0,5 мМ) и активировался цистином, когда содержание его в инкубационной среде не превышало 0,1 мМ.

Полученные в настоящей работе результаты позволяют высказать ряд предположений: а) относительно более умеренное ингибирование активности щелочной фосфатазы в срезах кишечника связано с наличием нативных протекторов фермента, отсутствующих в очищенном препарате кишечной щелочной фосфатазы. б) существует тканевая гетерогенность между щелочной фосфатазой почек и кишечника. Если в случае с кишечным ферментом наиболее существенная регуляторная роль глутатиона обусловлена блокированием цинка активного центра, то активирование щелочной фосфатазы почек как S-S, так и SH-глутатионом связано с наличием у фермента участка, взаимодействующих с иными группировками на молекуле трипептида (помимо его тиоловых или дисульфидных групп).

ЛИТЕРАТУРА

1. Адоян Г. Г., Саркисян А. В. Биолог. ж. Армении, 34, 8, 841—844, 1981
2. Адоян Г. Г., Саркисян А. В. Биолог. ж. Армении, 36, 9, 769—774, 1983
3. Барсегян В. О., Адоян Г. Г., Саркисян А. В. Биолог. ж. Армении, 34, 4, 341—346, 1981
4. Шлыгин Г. К., Михлин С. Я. Вopr. мед. химии, 1, 461—465, 1955.

Получено 27 XI 1987 г.

Биолог. ж. Армении, № 1, (42), 1989

УДК 576.3.088

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ЛИМФОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА

Г. Г. ОГАНЕСЯН, Т. Ф. САРКИСЯН

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

Химический мутагенез—культура лимфоцитов человека—абerrации хромосом—аскорбиновая кислота.

В последнее время наибольшее внимание исследователей, занимающихся антимутагенезом, привлекают физиологические для организма протекторы, в число которых входит аскорбиновая кислота, известная как протектор против цитостатиков, канцерогенов, ионизирующей радиации и химических агентов [3, 9].

Сокращения: СХО—сестринские хроматидные обмены

Показана антикластогенная активность витамина С по отношению к тренимону и циклофосфамиду при метаболической активации гомогенатом печени крыс в культуре лимфоцитов человека. По отношению к блеомицину витамины С и Е и по отношению к циклофосфамиду витамин Е проявили сокластогенную активность [4, 5].

Витамин С нашел практическое применение в качестве антимуtagens у лиц, контактирующих с бихлорметилловым и хлорметилловым эфирами, а также у рабочих угольной промышленности, у которых обнаружено снижение частоты аберрантных клеток после его профилактического приема [11, 12].

Имеются данные и об отсутствии влияния аскорбиновой кислоты на частоту хромосомных аберраций, индуцированных вирусом гриппа, в половых клетках мыши [7]. Аскорбиновая кислота может проявлять и мутагенную активность, повышая частоту СХО в концентрации 2 мМ при действии тиоТЭФ ($4 \cdot 10^{-4}$ М) и L-этионина ($2 \cdot 10^{-3}$ М) [8]. В концентрации $2 \cdot 10^{-4}$ – $5 \cdot 10^{-4}$ М она оказывает мутагенное действие на клетки китайского хомячка и лимфоциты человека, индуцируя повышение уровня СХО [10].

Таким образом, генетический эффект витамина С не однозначен.

Целью работы являлось изучение модифицирующего эффекта витамина С при действии тиоТЭФ и фотрина в предложенных ранее тест-системах [1].

Материал и методика. В культуре лимфоцитов периферической крови трех здоровых доноров и двух больных инфекционно-аллергической формой бронхиальной астмы методом метафазного анализа аберраций хромосом изучали мутагенный эффект используемых в онкологической практике алкилирующих соединений фотрина и тиофосфамида при его модификации витамином С. Фотрин использовали в концентрациях $0,25 \cdot 10^{-5}$, $0,5 \cdot 10^{-5}$ и $1 \cdot 10^{-5}$ М, тиоТЭФ—0,2; 0,4; 0,6; 1,0 μ /мл, аскорбиновую кислоту— 10^{-4} М.

Лимфоциты культивировали по общепринятой методике [6]. Фотрин, тиоТЭФ и аскорбиновую кислоту вводили в культуру на 18-м часу культивирования, когда большинство клеток находится на стадиях G_1 -S клеточного цикла. Фиксацию культуры проводили на 76-м часу смесью метанола и уксусной кислоты в соотношении 3:1. Препараты окрашивали по методу, предложенному Чеботаревым с соавт. [2].

Метафазный анализ хромосомных аберраций проводили с учетом процента аберрантных клеток, общего количества разрывов на 100 клеток, количества одиночных, парных разрывов и разрывов в обменах на 100 клеток.

Материал для исследований получен из Института гематологии и переливания крови МЗ АрмССР и Республиканской клинической больницы.

Результаты и обсуждение. Результаты обработки культур лимфоцитов периферической крови здоровых доноров представлены в таблице. Поскольку полученные частоты хромосомных аберраций достоверно не различаются у изученных индивидов, то они приводятся нами в суммарном выражении. У здоровых доноров аскорбиновая кислота практически не модифицирует мутагенный эффект тиоТЭФ и фотрина. Только при концентрации фотрина $0,25 \cdot 10^{-5}$ М добавление витамина С в культуру повышает уровень аберрантных метафаз с 9 до 14,28%. У больных бронхиальной астмой наблюдается большой размах вариаций уровня аберраций при разных концентрациях изучаемых веществ и их комбинациях.

Цитогенетический эффект аскорбиновой кислоты при обработке культур лимфоцитов здоровых доноров и больных бронхиальной астмой фотрином и тиюТЭФ

Вариант	Всего клеток	Доля аббер- рантных клеток	Общее число раз- рывов		Одиночных Парных		Разрывы в обменах
			на 100 клеток				
Здоровые доноры							
Тиофосфа- мид	0.2 γ/мл	100	4	4	—	4	—
	+АК	100	5	5	4	1	—
	0.6 γ/мл	90	8.88	8.88	—	8.88	—
	+АК	100	9	9	7	2	—
	150 γ/мл	50	10	12	—	8	4
	+АК	100	10	11	3	8	—
Фотрин	0.25·10 ⁻³ М	100	9	11	1	10	—
	+АК	70	14.28	17.10	2.57	15.71	—
	0.5·10 ⁻³ М	270	15.29	18.51	1.9	15.12	0.74
	+АК	280	19.28	23.21	5.71	16.78	0.72
	1.0·10 ⁻³ М	130	34.61	42.30	3.07	39.23	—
	+АК	260	31	40	6.10	33.50	—
Больные бронхиальной астмой							
Тиофосфа- мид	0.2 γ/мл	200	5	6	2	3	1
	+АК	200	2	2	1	1	—
	0.4 γ/мл	200	6.5	6.5	2.5	4	—
	+АК	200	10	10	3.5	6.5	—
	0.6 γ/мл	200	11.5	12	4	8	—
	+АК	200	6.5	6.5	2	4.5	—
Фотрин	0.25·10 ⁻³ М	150	19.33	22.66	11.33	10	1.34
	+АК	200	12	12.5	3	9.5	—
	0.5·10 ⁻³ М	80	10	13.7	—	13.7	—
	+АК	70	15.71	18.5	5.7	12.8	—
	Контроль	100	3	3	2	1	—
	+АК	100	1	1	1	—	—

Отсутствие протекторной активности аскорбиновой кислоты по отношению к фотрину и тиюТЭФ у больных аллергозами и у здоровых доноров объясняется скорее всего выбранным соотношением концентраций мутагенов и протектора (1:10). По данным Гебхарта и др. [5], антикластогены (в том числе витамин С и Е) активны только при значительном превышении их концентраций по сравнению с концентрацией мутагенов.

Основной вывод данного исследования заключается в том, что протекторный эффект витамина С осуществляется скорее всего за счет механизмов конкурентной защиты.

Авторы выражают благодарность М. З. Нариманову за участие в планировании исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян Р. М. Модификация химического мутагенеза в клетках человека. Ереван, 1983
2. Чеботарев А. Н., Селезнева Т. Т. Бюлл. экпер. биологии и медицины, 85, 2, 242—243, 1978

3. Fujita K., Shinno K., Yimata K., Sato T., Niim H., Shanzo M., Nagatsu T., Takeuchi T. and Umezawa H. *Cancer. Res.*, 42, 309—316, 1982.
4. Orhbart E., Wagner H. and Behnsen H. *Mut. Res.*, 129, 197—206, 184.
5. Gebhart E., Wagner H., Grzbow K. and Behnsen H. *Mut. Res.*, 149, 83—84, 1985.
6. Hangerford D. A. *Stain Technol.*, 40, 333—335, 1965.
7. Kalpagam P., Hanumata P. *Hum. Genet.*, 61, 3, 259—261, 1984.
8. Liellaris T., Mourtelatos D., Dozi—Vassiliades J. *Cytogenet. and Cell Genet.*, 41, 4, 289—214, 1987.
9. Penz K. N. *Life Sci.*, 27, 275—289, 1980.
10. Shambarger R. J. *Mutat. Res.*, 133, 2, 137—149, 1984.
11. Sram R. J., Doblas L., Pustorkov A., Rössner P. and Janda L. *Mut. Res.*, 120, 181—186, 1983.
12. Sram R. J., Samková I., Holá N. *Journal of hygiene, epidemiology, microbiology and immunology.*, 27, 3, 305—318, 1983.

Поступило 1.VI 1988 г.

Биолог. ж. Армения, № 1, (42), 1989

УДК 612.577.17

О РОЛИ СЕРОТОНИНА В РЕГУЛЯЦИИ ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ ПЕТУШКОВ

Г. Х. СААКЯН

Институт физиологии им. Л. А. Орбели АН АРМССР, Ереван

Птица—серотонин—семенники—сперматогенез.

Влияние серотонина на организм животных изучено недостаточно, однако имеющиеся данные свидетельствуют о его ингибирующем влиянии на гипоталамо-гипофизарную систему и функции гонад.

Показано, что серотонин способен оказывать ингибирующее влияние на гонады млекопитающих как через гипоталамо-гипофизарный комплекс [1, 4], так и непосредственно на гонады [3, 5]. Что касается влияния серотонина на организм птиц, то установлено, что он оказывает ингибирующее действие на гипоталамо-гипофизарно-семенниковый комплекс, снижает содержание в крови ЛГ; гонады не реагируют на гонадостимулирующее действие света, которое осуществляется через гипоталамус [2].

Учитывая недостаточность данных о влиянии серотонина на физиологические функции организма птиц и, в частности, отсутствие сведений о его периферическом влиянии, мы поставили задачу изучить особенности роста, развития и воспроизводительной функции у самцов птиц при подкожном введении серотонина.

Материал и методика. Использованы 45 голов неполовозрелых петушков ереванской породы, одинаковых по росту, весу и развитию вторичных половых признаков. Птицы были разделены на три группы по 15 голов и содержались в идентичных условиях.

По достижении 3-месячного возраста петушкам первой группы (контрольная) вводили 1 мл физиологического раствора, и второй и третьей—соответственно по 1 и 5 мг/кг серотонина, растворенного в 1 мл физраствора, подкожно, ежедневно в течение 2 месяцев. В ходе эксперимента изучали: рост петушков—ежемесячным взвешиванием, развитие вторичных половых признаков—появлением их гребня и сережек; сроки по-

лового созревания—путем получения спермы. Началом срока полового созревания считали выделение первого эякулята у данной особи. Сперматогенез изучали исследованием спермы общепринятыми методами. Полученные данные обрабатывали статистически.

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что в период введения серотонина петушки опытных групп несколько отставали в росте ($P>0,2$), после прекращения введения препарата они достигли в массе уровня контрольных животных, а третья группа в конце эксперимента по этому показателю даже незначительно превосходила их, $P>0,2$ (табл. 1).

Таблица 1. Динамика роста петушков

Группы	Возраст, дни	Живая масса, г				
		90	120	150	180	210
I		711±30.24	853±16.14	1083±58.98	1493±78.60	1970±61.39
II		734±12.01	830±30.93	964±36.29	1425±38.05	1955±45.00
III		756±17.64	824±27.36	963±33.9	1611±61.00	2005±80.01

Развитие вторичных половых признаков также протекало неодинаково. Если гребешки и сережки петушков контрольной группы характеризовались хорошим ростом и ярко-красной окраской, то у третьей группы они были недоразвиты и бледны. Вторая группа по этим показателям занимала промежуточное положение.

При исследовании сроков полового созревания выяснилось, что петушки первой и второй групп достигали половозрелости в возрасте 120—130 дней, а к 150—160 дням выделяли сперму среднего качества. Вскрытие птиц в 5-месячном возрасте и морфологическое исследование гонад выявило разницу между группами: семенники петушков третьей группы по массе уступали таковым контрольной группы в два раза ($P<0,001$). Вторая группа по этому показателю отставала от контрольной незначительно, $P>0,2$ (табл. 2). Выяснилось также, что в

Таблица 2. Масса семенников и живая масса петушков в 5- и 7-месячном возрасте

Группы	5 месяцев		7 месяцев	
	масса семенников, г	масса петушков, г	масса семенников, г	масса петушков, г
I	8,281±0,439	1050±70,58	24,720±0,941	2382±97,50
II	7,520±0,411	1000±67,11	21,000±1,685	2076±85,33
III	4,270±0,395	1030±80,25	20,425±1,065	2237±101,52

5-месячном возрасте они выделяли сперму, которая уступала по количеству и качеству сперме контрольных птиц, $P<0,001$ (табл. 3). У петушков III группы в этом возрасте спермопродукция отсутствовала. В 6-месячном возрасте показатели спермопродукции I и II групп улучшились, а у III группы появился первый эякулят с очень низкими показателями.

Таблица 3. Количественные и качественные показатели спермы

Показатели спермы	Возраст, мес.								
	5			6			7		
	Г р у п п ы								
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
Объем эякулята, мл	0,22±0,0164	0,20±0,0026	—	0,31±0,0041	0,29±0,0046	0,10±0,0034	0,32±0,0033	0,30±0,0039	0,25±0,0041
Подвижность спермиев, балл	7,0±0,066	6,0±0,065	—	8,4±0,133	7,5±0,133	1,5±0,066	8,5±0,073	8,4±0,080	8,0±0,12
Количество спер- миев в мл, млрд	0,50±0,0049	0,42±0,0046	—	1,208±0,0206	1,07±0,0233	0,02±0,0013	2,35±0,0175	2,21±0,0230	1,42±0,0178
Количество живых спермиев, млрд	0,35±0,0073	0,30±0,0016	—	1,00±0,0250	0,761±0,0165	—	1,90±0,0035	1,75±0,0230	1,10±0,0128

В 7-месячном возрасте у птиц I группы сперматогенез достиг высокого уровня, в результате чего они выделяли сперму лучшего качества. Одновременно сперма петухов второй группы по качественным и количественным показателям почти достигла уровня контрольной группы. У петухов III группы спермопродукция также улучшилась, что указывает на активацию процесса сперматогенеза (табл. 3).

Вскрытие птиц в 7-месячном возрасте показало, что семенники птиц III группы после прекращения введения серотонина развивались интенсивно и по массе мало чем отличались от семенников II группы ($P < 0,05$), а разница с массой семенников I группы составляла всего 4 г, $P < 0,01$ (табл. 2).

Полученные данные дают основание заключить, что подкожное введение не половозрелым петушкам серотонина в дозе 1 мг/кг приводит к незначительному отставанию роста и развития гонад и некоторому снижению уровня сперматогенеза. При инъекции серотонина в дозе 5 мг/кг задерживается рост и развитие семенников, вторичных половых признаков и сроков полового созревания. После прекращения введения препарата спустя один месяц у петушков наступает половое созревание, а сперматогенез достигает нормального уровня спустя два месяца.

Исходя из результатов настоящих экспериментов, а также основываясь на литературных данных, можно предположить, что ингибирующее влияние серотонина на рост и развитие гонад и на сперматогенез связано с его способностью оказывать сосудосуживающее действие. Сужение кровеносных сосудов, питающих половые железы, уменьшает приток крови и соответственно поступление гонадотропных гормонов, недостаток которых может стать причиной недоразвития семенников. Кроме того, серотонин может влиять на стероидогенез и секрецию половых гормонов. Такое предположение подтверждается результатами работ, проведенных на самках крыс, которым раз в месяц имплантировали 10 мг серотонина в агар-агаре, через 2 месяца было обнаружено 5-кратное снижение тестостерона в крови [6].

Кроме непосредственного влияния на гонады, возможно также изменение гипофизарно-половой системы на уровне центральных звеньев, так как возможность влияния серотонина на гонадотропную функцию гипофиза через головной мозг сохраняется и в случае его периферического введения, ввиду того, что при достаточно высоких дозах он довольно быстро проникает в мозг [7]. Для уточнения механизма действия серотонина при его подкожном введении необходима дальнейшая экспериментальная проверка.

ЛИТЕРАТУРА

1. Науменко С. В., Шишкина Г. Г. Проблемы эндокринологии, 23, 2, 75—78, 1977.
2. Руднева Л. М. Физиолог. ж., 24, 5, 674—680, 1978.
3. Boccalhella A. V., Solgado E. A. Endocrinology, 71, 827—837, 1962.
4. Kamheri J. A., Marot R. S., Porter J. G. Endocrinology, 87, 1—12, 1970.
5. Korman M., Karkinen P., Karkinen K. Ann. Med. Exp. Fenn., 40, 474—478, 1968.
6. Lin C., Kinson G. A. Contraception, 7, 153—163, 1973.
7. Welch K. M., Meyer J. S., Kamb S. J. Neuroendocrinology, 19, 1079—1087, 1972.

Поступило 16.V 1988 г.

ФЕРМЕНТАТИВНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ПОЛУЧЕНИЕ L-АСПАРАГИНОВОЙ КИСЛОТЫ. III. ИММОБИЛИЗАЦИЯ АСПАРТАЗЫ И ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЛУЧЕННОГО БИОКАТАЛИЗАТОРА

В. А. АБЕЛЯН, В. С. МЕЛИКСЕЯН

Институт микробиологии МН АриССР, г. Абовян

Использование свободных клеток и ферментов для получения L-аспарагиновой кислоты из фумарата аммония нецелесообразно, так как получаемый продукт имеет большое количество примесей, которые невозможно использовать вторично и создавать непрерывные процессы.

С целью получения L-аспарагиновой кислоты в проточных системах внутриклеточную аспартазу иммобилизовали методами включения и ковалентного связывания. Наиболее подходящим гелем для иммобилизации методом включения является 5%-ный агар, так как при этом активность фермента сохраняется на высоком уровне—79% от исходной. Можно также с успехом применять зубазидан и альгинат кальция.

При иммобилизации методом ковалентного связывания из исследованных носителей самым подходящим является модифицированный силикагель, который и использован для дальнейших работ.

Оптимальная температура для иммобилизованной аспартазы 50°, но фермент довольно успешно может работать в интервале температур 45—55°. Оптимальный интервал pH 8,0—10,0, но почти 100%-ная трансформация достигается при 8,5—9,5.

Полученный биокатализатор более стабилен при 37°, несмотря на то что при этой температуре активность его составляет примерно 80% от максимальной. При этом иммобилизованная аспартаза может эффективно работать в течение 25—30 дней.

Через биокатализатор на основе фермента раствор предшественника можно пропускать с удельной скоростью до 0,6 час⁻¹.

Конечный продукт получается однородным с выходом 96—97% от потребленного фумарата. При этом не образуется побочных продуктов.

Таким образом, получен высокоактивный и стабильный биокатализатор, который может эффективно работать в течение 30 дней, превращая 96—97% фумарата в L-аспарагиновую кислоту.

8 с., табл. 7, библиогр. 12 назв.

Полный текст статьи деп. в ВИНИТИ, № 8292-B88 от 24 II.1988 г.

Поступило 29.VIII.1988 г.

ФЕРМЕНТАТИВНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ПОЛУЧЕНИЕ L-АСПАРАГИНОВОЙ КИСЛОТЫ. IV. ХАРАКТЕРИСТИКА ИММОБИЛИЗОВАННЫХ КЛЕТОК МИКРООРГАНИЗМОВ— ПРОДУЦЕНТОВ АСПАРТАЗЫ

В. А. АБЕЛЯН, В. С. МЕЛИКСЕЯН

Институт микробиологии АН АрмССР, г. Абовян

Для осуществления процессов биотрансформации целесообразно использовать иммобилизованные клетки, так как при этом появляется возможность создания непрерывно работающих, полностью автоматизированных процессов, способных к длительному функционированию.

С целью получения L-аспарагиновой кислоты из фумарата аммония были исследованы иммобилизованные клетки *Ericinia aridis* и *Bacillus subtilis*—продуцентов аспартазы.

Наибольший процент остаточной активности (90—92%) сохраняется при иммобилизации клеток в агаре. Это, вероятно, обусловлено тем, что углеводы типа агара входят в состав углеводной части клеточной стенки микроорганизмов, что обуславливает более мягкий контакт и взаимодействие внешнего полисахарида и клеточной стенки, меньше нарушая их жизненные функции.

Иммобилизованные клетки *E. aridis* с успехом могут работать в интервале температур 45—55° и pH 8,0—9,0, а *B. subtilis*—при температурах 50—60° и pH 8,0—10,5.

В проточных условиях полученный биокатализатор более стабилен при 37°. После 90 дней непрерывной работы он теряет всего 40% своей исходной активности.

Было показано также, что двухвалентные ионы магния оказывают защитное влияние на аспартазную активность иммобилизованных клеток. При использовании фумарата аммония без добавления ионов магния биокатализатор за 10 дней теряет 42% изначальной активности.

L-аспарагиновая кислота получается однородной с выходом 96—97% от потребленного фумарата.

8 с., табл. 5, библиогр. 12 назв.

Полный текст статьи деп. в ВИНИТИ, № 8293-В89 от 24.11.1988 г.

Поступило 29.VIII 1988 г.

О ВЗАИМОСВЯЗИ ПРИРОДНОЙ РАСТИТЕЛЬНОСТИ С СОСТОЯНИЕМ ПЛОДОРОДИЯ ПОЧВЫ

Э. Ф. ШУР-БАГДАСАРЯН

НИИ почвоведения и агрохимии Госагропрома АрмССР, Ереван

В процессе длительных стационарных исследований в целях улучшения различных по выбитости и эродированности пастбищных угодий в основных вертикальных поясах Армении было выявлено немало фактов тесной взаимосвязи растительности с состоянием плодородия почвы. Так, если, к примеру, в крайне изреженной растительности участвуют такие однолетники, как костер кровельный (*Zerna tectorum* L.), ячмень луковичный (*Hordeum crinitum* (Schreb.) Desf.), бурачек пустынный (*Alyssum desertorum* Stapf.), кнерия испанская (*Quercus hispanica* L.) и т. д., то это указывает на среднюю эродированность каштановых почв с содержанием гумуса не более 1,4–1,8%, физической глины 30–32%.

Но не во всех случаях эта связь бывает абсолютной. Так, при внесении удобрений в сочетании с заповедностью можно создавать на указанном среднеэродированном пастбище сравнительно густой травостой с преобладанием многолетних злаков, тождественный травостою на задернованном участке склона, где мощность почвы на 51–53 см, гумус в верхнем слое почвы на 2,3–2,6%, содержание физической глины примерно 8–11%, водонепрочных агрегатов на 12–14% выше, чем в среднеэродированной каштановой почве. Несоответствие между состоянием созданного путем антропогенного воздействия растительным сообществом и плодородием почвы обусловлено временем, необходимым для воспроизводства растительности (8–10 лет), поскольку смытая почва, в зависимости от рельефа, восстанавливается в течение сотен и тысяч лет.

Хотя случаи отсутствия взаимосвязи между видовым составом растительности и состоянием плодородия почвы часто выявляются при стационарных исследованиях природных кормовых угодий, однако это не противоречит выводу геоботаников и почвоведов о связи растительности и состоянием почвы и лишь указывает на то, что эта связь не абсолютна.

!! с. библиотр. !! назв

Полный текст статьи деп. в ВНИИТИ

Поступило 20 X 1987 г.

ОСОБЕННОСТИ ФЕНОЛОГИЧЕСКОГО ЦИКЛА НЕКОТОРЫХ СОРТОВ ВИНОГРАДА В КОРНЕСОБСТВЕННЫХ И ПРИВИТЫХ НАСАЖДЕНИЯХ

В. О. ЧИЛИНГАРЯН

НИИВВиП Госагропрома АрмССР, пос. Мерцаван

Исследовали некоторые технические и столовые сорта винограда (Урарту, Шаумяни, Мускат Сусанны и др.), возделываемые корнесобственно и в привитой культуре на фоне изменяющихся климатических условий в период 1983—85 гг. Контрольными сортами служили Лалвар, Болгар и др.

Фенологические наблюдения показали, что календарные сроки наступления отдельных фенофаз во многом обуславливаются как сортовыми особенностями, так и различиями в способах возделывания. Сравнение фенологических данных внутри групп сортов, возделываемых корнесобственно и на привитых подвоях, а также межгрупповой анализ свидетельствуют о том, что одни сорта, опережая другие в прохождении одной фазы, уступают им в прохождении другой. Характерно, однако, что при этом сохраняется некоторая разница в продолжительности вегетации.

Наиболее рельефно проступают различия между сортами, возделываемыми корнесобственно и прививкой, в фазе технической спелости ягод. По указанным трем сортам временная разница достигает 4—5 дней.

Длительность вегетационного периода у корнесобственных кустов колеблется от 149—150 (Урарту, Мускат Сусанны) до 158 дней (Шаумяни), а у привитых сортов держится на уровне 152—153 дня.

9 с., библиогр. 7 назв

Полный текст статьи деп. в ВИНИТИ

Поступило 10.XII 1987г.

Ф. Г. САРУХАНИЯ



1 декабря 1988 г. скончалась Фарандик Георгиевна Сарухания — один из ведущих микробиологов, заслуженный деятель науки АрмССР, доктор биологических наук, научный консультант Института микробиологии АН АрмССР.

Ф. Г. Сарухания родилась в 1906 г. в г. Камо (Н. Баязет) в семье учителя. Окончив в 1929 г. сельско-хозяйственный факультет Бакинского политехнического института, она учится в аспирантуре в 1930—1933 гг., после окончания которой она переезжает в Армению и работает в АрмФАН-е. Становление ее как ученого определялось многолетней работой с выдающимися учеными-микробиологами — Н. Н. Пристосердовым, А. Ф. Войтасевичем, С. А. Королевым. В период 1941—43 гг. она заведует Сектором микробиологии, а после реорганизации его в Институт микробиологии АН АрмССР работает в нем до конца жизни ведущим научным сотрудником.

Ф. Г. Сарухания — автор около 150 научных работ и 20 авторских свидетельств. Ее докторская диссертация «Микрофлора осетриных брозированных производств Армянской ССР», защищенная в 1961 г. и опубликованная отдельной монографией в 1960 г., являлась фундаментальным руководством по характеристике дрожжевой и молочнокислой микрофлоры и определению ее роли в микробиологической переработке пищевых продуктов. Ф. Г. Сарухания

читалась признанным специалистом по изучению дрожжевой микрофлоры, в особенности систематики непорочных дрожжей. Ею были выделены и подробно исследованы новые перспективные культуры дрожжей для практического их использования. Так, получаемые термифильные культуры хлебопекарных дрожжей были успешно внедрены на хлебопекарнях республики. При этом был достигнут высокий технико-экономический эффект, так как в короткое время хлебопекарная промышленность Еревана несет значительные убытки от использования обычных мезофильных дрожжей. Выделенные и подробно изученные культуры винных дрожжей, устойчивые к высоким концентрациям этилового спирта, успешно испытаны и используются в виноделии.

Научные исследования Ф. Г. Сарухания охватывали широкий круг вопросов молочной промышленности, сыроделия, виноделия и других производств. Впервые ею были развернуты работы по экологии дрожжей с особым вниманием на традиционные национальные закваски при выработке хлебных и кисломолочных продуктов (иттемор, мацун и др.). Благодаря ее исследованиям вопросы экологии дрожжей и молочнокислых бактерий были подняты на новую высоту и, что особенно важно, увязаны с конкретными запросами бродительных производств.

Ф. Г. Сарухания постоянно поддерживала тесную связь с производством. Ее усилиями подготовлены многочисленные кадры высококвалифицированных специалистов и научных работников.

Ф. Г. Сарухания участвовала в составе 11-й Красной Армии в боях за установление советской власти в Армении. Член КПСС с 1939 г., она неоднократно избиралась членом и делегатом пленумов, партсезионов.

Ф. Г. Сарухания отличалась исключительное трудолюбием, преданностью науке, скромностью и чуткое внимание к товарищам по работе.