

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ
ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ
Հ Ա Ն Դ Ե Ս

БИОЛОГИЧЕСКИЙ
Ж У Р Н А Л
АРМЕНИИ

«Հայաստանի կենսաբանական հանդեսը» հրատարակվում է Հայաստանի ՍՍՀ Գիտությունների ակադեմիայի կողմից և տպագրվում է հողմանելի բուսաբանության, կենդանաբանության, ֆիզիոլոգիայի, կենսաֆիզիկայի, մանրէաբանության, դենեալիայի և բնագիտության ու կիրառական կենսաբանության այլ բնագավառների վերաբերյալ:

Բաժանորդագրվելն է թ. 40 կ.: Բաժանորդագրությունը ընդունվում է Ստեղծագործական բաժանմունքներում:

«Биологический журнал Армении» публикует оригинальные статьи по ботанике, зоологии, физиологии, биохимии, биофизике, микробиологии, генетике и другим отраслям общей и прикладной биологии.

Подписная цена за год 3 руб. 40 коп. Подписку на журнал можно производить во всех отделениях Союзпечати.

Խմբագրական կոլեկտիվ՝ է. Գ. Աֆրիկյան (ղլխավոր խմբագիր), Ս. Մ. Ավագյան, Վ. Շ. Ավետիսյան, Յոս. Թ. Ալեքսանյան, Հ. Գ. Բաղդասարյան, Մ. Ա. Գալստյան, Փ. Ի. Հակոբյան, Շ. Ս. Հարությունյան (պատասխանատու քարտուղար), Ս. Մ. Հարությունյան, Վ. Հ. Ղապարյան, Պ. Ա. Ղանդկյան, Կ. Գ. Ղարաբաղյան, Ս. Մ. Մազիսյան (ղլխավոր խմբագրի տեղակալ):

Խմբագրական խորհուրդ՝ է. Գ. Աֆրիկյան (նախագահ), Ն. Ն. Արամյան, Վ. Շ. Ավետիսյան, Հ. Ս. Ավետիսյան, է. Ս. Գաբրիելյան, Ա. Ա. Գալստյան, Ա. Լ. Թախտաշյան, Պ. Ա. Խորանյան, Մ. Գ. Հովհաննիսյան, Լ. Լ. Հովսեփյան, Լ. Ս. Հակոբյան, Ա. Ա. Մալինսկայա, Մ. Ն. Մալինսկայա, Կ. Ս. Պողոսյան:

Редакционная коллегия: Э. К. Африкян (главный редактор), И. М. Аванян, В. Е. Аветисян, Ж. И. Акопян, Ю. Т. Алексанин, Е. С. Арутюнян (ответственный секретарь), Р. М. Арутюнян, О. Г. Баклаваджян, П. А. Гандилян, М. А. Давтян, В. О. Казарян, К. Г. Карагезян, С. О. Мовсисян (заместитель главного редактора).

Редакционный совет: Э. К. Африкян (председатель), А. С. Аветян, В. Ш. Атаббян, Н. Н. Акрамовский, Э. Ц. Габриелян, А. А. Галоян, Л. С. Гамбарян, А. А. Матевосян, М. Г. Оганесян, Л. Л. Осибян, К. С. Погосян, А. Л. Тахтаджян, П. А. Хуршудян, М. Х. Чалыхян.

Ответственный за номер И. М. Аванян

Технический редактор Л. А. Назарбегян

Сдано в набор 12.01.90 г. Подписано к печати 23.03.90 г. ВФ 02821.

Бумага № 2, 70×108¹/₁₆ Высокочечная печать. Печ. лист 6,5+1 вкл. Укл. печ. лист 7,88, Учет. изд. 6,83. Тираж 716. Заказ 6. Издатель 7736.

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.

Խաբամազյան Մ. Մ., Ալեկույզին Վ. Ա., Ալեքիյան Գ. Բ., Արշավայրի խնամանքի
ազդեցությունը լրիթարոգիտների թաղանթների հետ վիրտուսների փոխազդեցության

Առումիլյան Վ. Ս. Իռնի էլեկտրաստատիկ ներգործիչի նաշվամը ոչ սիմետրիկ լուծույթ-
հերը բաժանող թաղանթում

Խոբրիկյան Ա. Գ., Բակունց Կ. Ա., Ջախարյան Լ. Ա., ԵմինՔ-ի հետ թաղանթային
ԻնՔ-կապող սպիտակուցների կոմպլեքսների ուսումնասիրությունը

Աստուրյան Ռ. Ա. Պրիսեկ (11)-ալյումին կոմպլեքսների ՋԳՄ սպեկտրերը՝ միջանյու-
թով

Նազարյան Կ. Բ. Ճաղարի մկանի ենթազայի և պիրոֆատկինազայի փոխազդեցությունը
Ազնաուրյան Ա. Վ., Բախչիչյան Մ. Զ., Խոբյաչիկևս Վ. Լ., Հակոբյանյան Է. Ս. Ջվա-
յին հանգույցների մակրոֆազերի կառուցվածքա-ֆունկցիոնալ փոփոխություննե-
րը օրգանիզմի տարրեր վիճակներում

Աստվածատյան Է. Գ. Գազաթի ասոցիատիվ կնդեր նեյրոնների հրահրված ունակցիա-
ները ենթատեսաբմբային, անդրբրտային և մարմնազգայական դրոմաներին

Աֆրիկյան Մ. Բ., Ջավադյան Ռ. Լ., Մարգարյան Տ. Ն., Ավետիսյան Ա. Ա. Կատվի կն-
դերի հետին աուպրասիվյան շրտեր նեյրոնների պատասխանները անօպական գր-
գրոններին

Խաղբյան Մ. Վ., Հովսեփյան Ի. Բ., Ամիրյան Ս. Վ. Ամիդգալար կոմպլեքտի կենտ-
րոնական կորիզի էլեկտրական գրգռման ազդեցությունը սրյան մակարդման վրա

Զելոտյան Գ. Ա., Իսկայան Պ. Ա., Սոցկի Օ. Պ., Ստեփանով Գ. Մ., Զոհրաբյան Լ. Ս.,
Շաղրաբյան Շ. Լ., Սուխասյան Լ. Վ. Ապիտակ առնետների ուղեղում ճարդա-
յին բաղադրամասի ազդեցությունը սրյան նարպակթվային կազմի վրա

Ջախարյան Ա. Շ., Սաղիկյան Ա. Ի., Պոստյան Գ. Ա., Փսիոսյան Գ. Ա., Մարջանբում
կենսաբանական օրյակտների գերթույլ խմբիյումնալյուցնեցիայի գրանցման նամար

ԱՄԲԱԻՏ ՀԱՂՈՐԴՈՒԹՅՈՒՆ

Ալեխունյան Յու. Բ., Դասպարյան Է. Տ., Իզնաուսյան Տ. Ն. Սկան հնապատմայի
մշակովի բլրիների միջանակային միկրոբլոգային լիրիզի գործածումը նակա-
ուուուցրային դիմադրության մակածման համար

Վարդանյան Վ. Ա., Մյուշիկյանց Մ. Ա. Թռչունների սակվի Խաղթոթմակցկուտմյան
գերմային հրահրումը

Խելիդուրյան Լ. Ս., Վեոբյան Մ. Ի. ԼիՄ ազդեցությունը սրյան պոլիմորֆիզմային
լեյկոցիտների ֆուգոցիտար ակտիվության վրա

Համբարձույան Տ. Գ., Մարիկյան Գ. Ի., Պետրոսյան Է. Ս. Զերմաստիճանի ազդեցու-
թյունը նատրիումի ղեգոթսիտուտով լեգիտինային լիպոսմաների սուլլուբիլիզա-
ցիայի փուլերի վրա

Կախմազյան Մ. Մ. Ռեմանտոդիների ազդեցությունը Աննդայ վիրտուսով մակածված լրիթ-
արոցիտների հեմոլիզի վրա

Արեանյան Ի. Մ., Ջավրյան Ք. Մ., Հովհաննեսյան Ա. Ս. Կենդանիների սրյան (հեմո-
գոցիներ) ազնիտայ նականիչները ունեցնյան հո-աաղայնաարման ազդեցու-
թյան ներքո

Արճունի Ի. Ի., Իովսայան Լ. Ա., Արիֆայան Ա. Վ. Էլեկտրաստատիկ դաշտի ազ-
դեցությունը սոնճանների լյարդի մոթոֆունկցիոնալ վիճակի վրա

Վտաբյան Լ. Գ., Սարգսյան Ժ. Ա., Մաղաբովա Ի. Ա., Վարիլյան Ա. Ա., Կառ-
պետյան Լ. Մ. Տարրական բանական գործունեության ուսումնասիրության մեթոդ-
ները սպիտակ առնետների մոտ

Շառվարյան Պ. Վ., Վախսյան Ա. Ն., Ավագյան Ժ. Վ. Լեռնային մարզագետիների բա-
րելավման մեթոդիկայի շուրջ

Խոբրյան Օ. Խ. ԿՋ-ի ազդեցությունը ցորենի նատրիկների կենսաթթվական գոցանիչ-
ները վրա Մ₁-ում և Մ₂-ում

Յավրույան Է. Գ., Սաղամոնյան Լ. Վ., Յավրույան Գ. Է. Կոմքրական երկարաթևի <i>Mimopterus schreineri</i> Kunt. 1819 ձվերումը հայաստանի տերիտորիայում	76
Բեազովս Լ. Վ., Նախալյույան Ս. Ս., Փանոսյան Ա. Գ. Սպիտակ լողապտիկի սրմանտների անատոմիական ուսումնասիրությունը	82

ԲԵՃԻՄԱՏՆԵՐ

Սարգսիսյան Գ. Մ., Դավթյան Ս. Ա., Հայրապետյան Ս. Ն. Առ ֆոսֆոլիպոզայի ազդեցությունը ազոտիլիտիկոմի իրոնիում իոնային խոանքների, կալցիումի և սուլֆիդիումի իոնների սրանոպորտի վրա	84
Դավթյան-Ավանեսյան Ս. Խ. Պոլսիկոմառիայ ջրերի սինթեզը Ներսիսյանի մոկար զակի վրա	85
Վեաթոյան Ա. Ս., Մկրչյան Լ. Ս. Դրոնոյ 1-ի սերմերի ձյունակոթյան պահպանման երկարատևության փարջի շրջը	85
Խամբույան Լ. Գ., Ասիխանյան Ս. Գ. Գազարի պահպանումը տոտերնաթիզի և սոսնճիթիզի	86

СОДЕРЖАНИЕ

Коржматян М. М., В. А. Слепушкин, Медикян Г. Б. Влияние ионной силы среды на взаимодействие вирусом с мембранами эритроцитов	3
Аракелян В. Б. Расчет электростатической энергии иона в мембране, разделяющей несимметричные растворы	11
Габриелян А. Г., Бекинц К. А., Захарян Р. А. Изучение комплексов мембранных РНК-связывающихся белков с дсРНК	11
Асатурян Р. А. Спектры ЭПР комплексов медь (II)-альбумин с мочевиной	17
Нозарян К. Б. Взаимодействие энзимов и пируваткиназы в мышцах кролика	21
Азмирян А. В., Бахшиян М. Э., Горячкин В. А., Ахонджян Э. С. Структурно-функциональные изменения макрофагов лимфатических узлов при различных состояниях организма	26
Аствацатурян Э. Г. Вызванные реакции нейронов теменной ассоциативной коры на гипоталамические, кортикальные и соматические стимулы	30
Афрякин М. Б., Джавадян Р. А., Маркрян Г. М., Аветисян А. А. Ответы нейронов задней супрасилимбической области коры кошки на зрительные раздражители	35
Надирян М. В., Овсепян Н. Б., Амирян С. В. Влияние электрического раздражения центрального ядра амигдаларного комплекса на спертывание крови	40
Чухаилян Г. А., Бикалян Н. А., Соцкий О. П., Сиркисова Г. М., Зограбян А. С., Шахбазян Ш. Л., Сухасян Н. В. Влияние жирового компонента рациона на жирнокислотный состав крови белых крыс	44
Закарян А. Е., Цацкиан А. Р., Погосян Г. А. Установка для регистрации сверхслабой хемилуминесценции биологических объектов	51

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Алексян Ю. Т., Гаспарян Э. Г., Исканов Т. Н. Выполнение межклеточного микроклеточного гибрида культивируемых клеток мышечной гепатомы для индукции противоопухолевой резистентности	55
Варданян В. А., Кючакян М. А. Термоиндукция радиорезистентности у эмбриона птиц	58
Григорян Н. С., Геворкян М. И. Влияние ПЖЛ на фагоцитарную активность полиморфноядерных лейкоцитов крови	61
Амбарцумян Т. Г., Мариакян Г. Г., Петрисян А. С. Влияние температуры на этапы солибилизации лецитиновых липосом дезоксихолатом натрия	64
Коржматян М. М. Влияние ремантадина на индуцированный вирусом Сендай гемолиз эритроцитов	66
Минасян Г. М., Джавадьян Дж. М., Оганесян А. С. Спектральные характеристики крови (гемоглобина) животных под действием рентгеновского облучения	68

Арицун Г. Г., Довлатян Р. А., Зильфарян А. В. Влияние электростатического поля на морфофункциональное состояние печени крыс	70
Казарян Т. Г., Саркисян Ж. С., Мидитова И. Р., Гарибян А. А., Каранетян Л. М. Методики изучения элементарной рассудочной деятельности у белых крыс	72
Шагворон Н. В., Галстян А. Ш., Анакян Ж. В. К методике улучшения горных лугов	75
Гаджирян О. А. Влияние GA_3 на биохимические показатели зерна пшеницы в M_1 и M_2	77
Янусян Э. Г., Согомомян Л. В., Янусян Д. Э. Зимовка обыкновенного длиннокрыла <i>Mimopterus schreithersi</i> Kbh., 1819 на территории Армении	79
Редзозан А. В., Кирагезян А. С., Паносян А. Г. Анатомическое исследование коры бронии белой	82

РЕФЕРАТЫ

Мартirosian Л. М., Дадаян С. С., Айрапетян С. Н. Действие фосфолипазы A_2 на ацетилхолин-вызванные ионные токи, транспорт ионов кальция и рубидия	84
Галстян-Аванесян С. Х. Синтез полониконидной пшеницы на гексаплондном уропии	85
Петросян А. С., Мкртчян Л. С. К вопросу о продолжительности сохранения всхожести семян <i>Trilicium L.</i>	85
Тамразян А. Г., Амирханян С. Г. Защита моркови от альтернариоза и стеблевой филлоза	86

CONTENTS

Korkmazian M. M., Stepushkin V. A., Melkian G. H. Influence of Medium Ionic Strength on the Interaction of Viruses with Erythrocytes Membranes	3
Arakelyan V. B. Calculation of the Ion Electrostatic Energy in the Membrane, Dividing Asymmetric Solutions	11
Gabrielian A. G., Bakunts K. H., Zakharian R. A. Study of Membrane RNA-Binding Protein Complexes with dsRNA	14
Asaturian R. A. ESR Spectra of Copper (II)-Albumin Complexes with Urea	17
Nazaryan K. B. Interaction of Rabbit Muscle Enolase and Pyruvate Kinase	21
Aznaurtan A. V., Bashshinton M. Z., Jiriyatova V. L., Hovhannissyan E. S. Structural-Functional Changes of Macrophages of Lymphatic Ganglia during Various States of the Organism	26
Asteutsarian E. G. Evoked Reactions of Neurons of Top Associative Cortex to Hypothalamic, Transcallosal and Somesthetic Stimuli	30
Afrikan M. B., Javadian R. L., Margarian T. A., Avetisyan A. A. Responses of Neurons of Posterior Suprasylvian Area of Cat Cortex to Visual Stimulations	35
Nadtryan M. V., Dosepian E. L., Amiryan S. V. Influence of Electric Stimulation of Amygdal Complex Central Nucleus on the Blood Coagulation	40
Churhadjyan G. A., Bakalyan P. A., Soszky O. P., Sarkisova G. M., Zohrabian L. S., Shantatyan S. L., Sahakyan A. V. Effect of Ration Fatty Component on the Fatty Acid Composition of Blood in White Rats	44
Zakarian A. Ye., Tsaghikyan A. R., Poghosian G. A., Panosyan A. A. Apparatus for the Registration of the Faintest Chemiluminescence in Biological Objects	51

SHORT COMMUNICATIONS

Alexanian Yu. I., Gasparian E. I., Ignatova T. N. Use of Interspecific Microcellular Hybrid of Cultivated Cells of Mouse Hepatoma for the Induction of Antitumour Resistance	55
Vardanian V. A., Kutchikiantz M. A. Thermoinduction of Radioreistance in Chicken Embryo o	58

<i>Grigorian L. S., Gevorgian M. I.</i> Influence of LVP on the Phagocytar Activity of Polymorphonuclear Leucocytes of the Blood	61
<i>Hambarsumian T. G., Markian G. G., Petrostan L. S.</i> Influence of Temperature on the Solubilization Stages of Lecithine Liposomes by Sodium Deoxycholate	64
<i>Korkmazian M. M.</i> Influence of Remantadine on the Erythrocytes Hemolysis Induced by Sendai Virus	66
<i>Minasian G. M., Javrschian J. M., Hovhannesian A. S.</i> Spectral Characteristics of Blood (Haemoglobin) of Animals under the Influence of Roentgen Irradiation	68
<i>Artisrants G. G., Dovlatian R. A., Zilfarian A. V.</i> Effect of Electrostatic Field on the Morphofunctional State of Rats Liver	70
<i>Kazarian L. G., Sarkissian Zh. S., Madatova I. R., Garibian A. A., Karapetian L. M.</i> Research Methods of Elementary Reasoning Ability in White Rats	72
<i>Shatvorian P. V., Galstian A. Sh., Avagian Zh. V.</i> To the Methodics of Improving the Mountain Meadows	75
<i>Tajirian O. Kh.</i> Effect of GA ₃ on Biochemical Characteristics of Wheat Seeds in M ₁ and M ₂	77
<i>Yavruyan E. G., Soghomonian L. V., Yavruyan D. E.</i> Wintering of Common Longwinged <i>Melospiza schreibersii</i> Kuhl. 1819 in the Territory of Armenia	79
<i>Rexasova L. W., Karagjosian A. S., Panosian A. G.</i> Anatomical Study of Bryonia Alba Roots	82

ABSTRACTS

<i>Martirosian D. M., Dadalyan S. S., Halrapetian S. N.</i> Action of A ₂ Phospholipase on Acetylcholine--Evoked Ion Currents, Transport of Calcium and Rubidium Ions	84
<i>Galstian-Avanessian S. Kh.</i> Synthesis of Poloniticum Wheat on Hexaploid Level	87
<i>Paprosian A. S., Mkrtchian L. S.</i> To the Question of Duration of <i>Triticum L.</i> Seeds Sprouting Preservation	85
<i>Tamrazian L. G., Amirkhaniyan S. G.</i> Protection of Carrot from Alternariosis and Stemphylliosis	86

3

чение вирус-специфических рецепторов представляет большой интерес как с научной, так и с практической точки зрения в плане контроля и профилактики на первом этапе взаимодействия вирусов с клетками. Орто- и парамиксовирусы вызывают агглютинацию эритроцитов. Эта реакция была известна с 40-х годов и широко изучалась в 50—60-е годы [5]. Однако химическая структура рецепторов вируса на поверхности эритроцитов была установлена недавно. По данным разных авторов, такими рецепторами вируса Сендай являются гликопротеиды [10, 13] или ганглиозиды, имеющие концевую N-ацетилгалактозидную кислоту [11, 14]. Рецепторами вируса гриппа (классической чумы птиц) на поверхности эритроцитов также являются ганглиозиды [12]. Цель наших исследований заключалась в выявлении характера взаимодействия вирусов с рецепторами клеточных мембран в средах с различной ионной силой.

Материал и методика. Вирус гриппа классической чумы птиц (ГРВ штамм Вейбридж) титровали в аллантоиной полости куриных эмбрионов в течение 24 ч при 37° и вирус Сендай (HIV, штамм 960) в течение 72 ч. Вирусы концентрировали дифференциальным центрифугированием и очищали в градиенте плотности сахараозы, как указано [1]. 40-меченный вирус получали по описанному методу [3]. Титр геммагглютинирующей и гемолитической активности вирусов определяли стандартными методами [1]. Гемолиз эритроцитов в присутствии ГРВ проводили в Na-ацетатном буфере (pH 5,2), а в случае HIV — в NaCl (115 мМ) — триолеин (5 мМ) буфере pH 7,4 (HT-буфер). Для экспериментов в среде с низкой ионной силой препараты вирусов dialизовали 24 ч при 4° против изотонического раствора сахараозы, 5 мМ триолеин pH 7,4 (СТ-буфер). Концентрацию белка в препаратах вирусов определяли по методу Лоурри [4].

В работе использовали кровь I группы здоровых доноров. Эритроциты дважды отмывали изотоническим буфером. В случае проведения экспериментов в среде с низкой ионной силой две последние отмывки проводили СТ-буфером. Обработку 1%-ной суспензии эритроцитов нейраминидазой из *Vibrio cholerae* (Горький, СССР) проводили в течение 2 ч при 37° в концентрации 0,25 Мг/мл в HT-буфере. После этого эритроциты дважды отмывали соответствующим буфером и исследовали гемолитическую активность и связывание вирусов. Связывание вируса Сендай с эритроцитами определяли по титру вируса в надосадочной жидкости после инкубации его с эритроцитами и центрифугирования. В случае вируса гриппа эритроциты инкубировали с смесью радиоактивного и «холодного» вирусов и измеряли радиоактивность надосадочной жидкости.

Дополнительное исследование геммагглютинации под действием HIV в СТ-буфере проводили при помощи диэлектрофореза, обеспечивающего контакт эритроцитов [16]. Напряжение подавали с генератора ГЗ-7А, наблюдения осуществляли микроскопом Биом-М.

Измерение нейраминидазной активности вируса Сендай проводили по описанному методу [1]. Для изучения влияния ионной силы раствора вирус инкубировали с растворимым галогенсодержащим белком фетуином в СТ-буфере (контрольный эксперимент проводили в HT-буфере).

Результаты и обсуждение. Эксперименты на модельных системах показали, что взаимодействие вирусов гриппа и Сендай с ганглиозидами не зависит от ионной силы раствора, т. е. электростатические эффекты не влияют на связывание вирусов с соответствующими рецепторами [2]. Нами была проверена специфичность связывания тех же вирусов с эритроцитами в растворах с низкой ионной силой. Зависимость связывания вируса Сендай с эритроцитами от концентрации его в СТ-буфере линейна в исследованном диапазоне концентраций, что

свидетельствует о неспецифическом характере взаимодействия (отсутствие насыщения). В этих условиях с эритроцитами связывается около 50% вируса, что при высоких его концентрациях дает большее связывание, чем в физиологических условиях (рис. 1А). В последнем случае форма кривой зависимости свидетельствует о специфическом характере связывания вируса с эритроцитами.

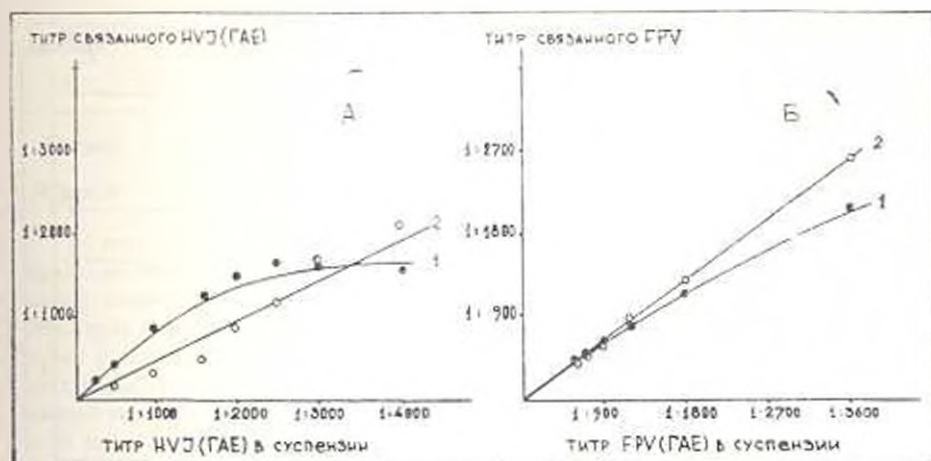


Рис. 1. Связывание вирусов Сендай (рис. 1А) и ^{14}C -меченого вируса гриппа (рис. 1Б) с эритроцитами в физиологических условиях (●, кривая 1) и в изотоническом растворе сахарозы (○, кривая 2). 1—А—после инкубации эритроциты с HNV (1 час, 1°C) в СТ- и НТ-буферах, суспензию клеток осаждали, отбирали супернатант и определяли титр вируса в нем, разбавляя последовательно НТ-буфером. 1Б—эритроциты инкубировали со смесью радиоактивного и «холодного» вирусов FPV. Связывание определяли по радиоактивности надосадочной жидкости. Затем, зная удельную радиоактивность препарата, пересчитывали количество связанного вируса в ГАЕ.

Примерно такая же ситуация была выявлена нами при изучении связывания вируса гриппа с эритроцитами в среде с нормальной и низкой ионной силой (рис. 1Б). В буфере с низкой ионной силой связывание вируса составляет 50–60% независимо от концентрации его в инкубационной среде, что указывает на неспецифический характер связывания. В НТ-буфере вирус специфически связывался с эритроцитами.

Нами проведена оценка константы связывания обоих вирусов с эритроцитами в физиологической и безионной средах. Оценка осуществлялась графическим способом в координатах Лайнуивера-Берка. На рис. 2 приведен график зависимости связывания вируса Сендай в указанных координатах. Аналогичная картина получена и для вируса гриппа. Для приведения констант связывания к общепринятой размерности (M^{-1}) определяли содержание белка в вирусных препаратах: 1 ГАЕ содержит около $8 \cdot 10^{-5}$ мг/мл белка. Далее пересчитывали ГАЕ в моли вируса, как указано в работе [4]. При этом для вируса Сендай получается соотношение $1 \text{ ГАЕ} = 1,7 \cdot 10^{-13} \text{ M}$, а для вируса гриппа $1 \text{ ГАЕ} = 3,4 \cdot 10^{-13} \text{ M}$. Константа связывания HNV с эритроцитами в физиологической среде составляет $9 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}$, а FPV— $2,1 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}$. В без-

ной среде константа связывания для обоих вирусов близка к нулю.

Следует отметить, что в среде с низкой ионной силой оба вируса неспособны агглютинировать эритроциты человека, вероятно, вследствие неспецифического связывания. Нами обнаружено также, что в

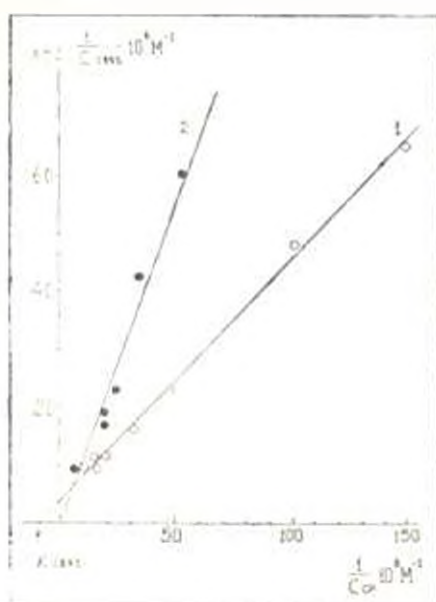


Рис. 2

Рис. 2. Зависимость связывания вируса Сендай с эритроцитами от титра вируса в среде в физиологических условиях (прямая 1) и в сахарозном буфере (кривая 2) в координатах Лайнувер-Берка. Точка пересечения прямой 1 с осью абсцисс численно равна константе связывания HV_1 с мембранами эритроцитов.

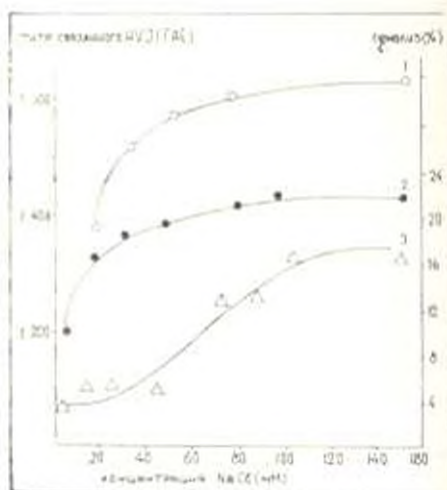


Рис. 3

Рис. 3. Зависимость связывания вируса Сендай с эритроцитами и вирус-индуцированного гемолиза от ионной силы раствора. 1—связывание при титре вируса в разведении 1:500 ГАЕ; 2—связывание при 1:750 ГАЕ; 3—гемоллиз в %. Вирус инкубировали с эритроцитами в растворах с различной концентрацией NaCl. Тоничность раствора доводили до 290 мОсм соответствующими добавками сахарозы. Гемоллиз эритроцитов, инкубированных с вирусом в различных растворах, регистрировали после осаждения и ресуспендирования в HT-буфере.

среде с низкой ионной силой исследованные вирусы не обладают гемолитической активностью. Для изучения причины отсутствия агглютинации и гемолиза эритроцитов мы провели ряд экспериментов. Прежде всего мы показали, что предынкубация препаратов вирусов в СТ-буфере в течение 24 ч при 4° не влияет на исследуемые свойства вирусов. С другой стороны, непродолжительная предынкубация эритроцитов в СТ-буфере также практически не оказывает влияния на вирус-индуцируемый гемолиз в физиологических условиях. Таким образом, возможные изменения свойств вирусов и эритроцитов в среде с низкой ионной силой обратимы. Измеренная нами активность нейраминидазы вируса Сендай в физиологических условиях составила 0,03 МЕ/мл, а в СТ-буфере она была заметно ниже — 0,001 МЕ/мл.

Предынкубация НВJ с эритроцитами в СТ-буфере с последующей отмывкой несвязавшегося вируса и ресуспендированием в ИТ-буфере снижала вирус-индуцируемый гемолиз в 3 раза по сравнению с контролем (табл. I). С другой стороны, если не отмывать несвязавшийся ви-

Величина индуцированного вирусами Сендай и гриппа гемолиза эритроцитов (в процентах) при различных вариациях ионной силы среды

Условия гемолиза

Вirus	I	II	III	IV	V	VI
Сендай	0	30	10	37	21	31
Гриппа	0	51	6	51	25	31

I—гемолиз в изотоническом сахарозном буфере; II—гемолиз в NaCl-трис буфере после отмывки несвязавшегося вируса; III—гемолиз после инкубации в сахарозе, осаждения, декантирования, надосадка с несвязавшимся вирусом и ресуспендирования в NaCl-трис буфере; IV—гемолиз после инкубации концентрированной суспензии эритроцитов с вирусом в соответствующей концентрации в физиологических условиях и последующего разведения в 50 раз NaCl-трис буфером; V—гемолиз после инкубации концентрированной суспензии эритроцитов в СТ буфере и последующего разбавления в 50 раз ИТ-буфером; VI—то же, что V, но с дополнительной инкубацией 30 мин при 4° после переведения в NaCl.

рус, то при переносе в NaCl гемолитическая активность практически не изменяется. На индуцируемый вирусом гриппа гемолиз инкубация эритроцитов в среде с низкой ионной силой действовала более выражено. Однако и в этом случае последующая инкубация в ИТ-буфере без отмывки вируса существенно увеличивала гемолитическую активность.

Для выявления роли сialосодержащих компонентов эритроцитарной мембраны в гемолизе, индуцированном вирусами в физиологических условиях и в растворе низкой ионной силы, клетки обрабатывали нейраминидазой. При этом выявлено резкое снижение вирус-индуцированного гемолиза в нормальных условиях. Однако после инкубации в СТ-буфере вирус гриппа, в отличие от НВJ, гемолизировал эритроциты, обработанные нейраминидазой. Так, в ИТ-буфере гемолиз снижался после обработки нейраминидазой с 67 до 3%, а в СТ-буфере, наоборот, возрос с 0 до 12%.

Мы исследовали также влияние ионной силы раствора на связывание вируса Сендай и гемолиз эритроцитов (рис. 3). Количество связанного вируса существенно возрастает при увеличении концентрации NaCl с 5 до 40 мМ. В то же время процент гемолизированных эритроцитов резко возрастает лишь в диапазоне концентраций соли 60—100 мМ.

Нами изучена возможность агглютинации эритроцитов в изотоническом растворе сахарозы при наличии дополнительной сближающей силы между эритроцитами. Наложение переменного неоднородного электрического поля на эритроциты, в безионной среде (СТ-буфер) обеспечивало образование клеточных цепочек. В обычных условиях та-

кие цепочки обратимы, т. е. после выключения поля они распадаются. Введение вируса Сендай в диэлектрофорезную ячейку не вызывало «склеивания» эритроцитов и образования необратимых цепочек. Предынкубация эритроцитов (0,05%-ная суспензия) с вирусом в ИТ-буфере (100—200 ГАЕ) при 4° в течение 15—20 мин или при 4° 15 мин с последующей инкубацией при 37°С 20—30 мин также не приводила к необратимому склеиванию эритроцитов, агрегированных в диэлектрическом поле после перенесения в сахарозу. В случае инкубации при 37° вирус должен сливаться с эритроцитами и вирусные гликопротеиды должны необратимо встраиваться в эритроцитарную мембрану. Тем не менее из таких клеток не удается сформировать необратимые цепочки. Таким образом, в растворах с низкой ионной силой исследованные вирусы не способны агглютинировать эритроциты независимо от способа приведения их в контакт.

Проведенные исследования показали, что характер связывания вирусов Сендай и гриппа с эритроцитами различен в средах с низкой и высокой ионной силой. Полученные нами значения констант связывания H₁N₂ и GPV с эритроцитами в физиологических условиях ($9 \cdot 10^8$ и $2,4 \cdot 10^8$ M⁻¹ соответственно) близки по порядку величины к константам связывания, вычисленным на основании данных ряда авторов $6 \cdot 10^{10}$ [9], $1,1 \cdot 10^8$ [4], $2,7 \cdot 10^8$ M⁻¹ [15]. Эксперименты по связыванию вирусов с эритроцитами в среде с низкой ионной силой, напротив, свидетельствуют о неспецифическом связывании ($K \approx 0$ M⁻¹). В данном случае вирус должен взаимодействовать прежде всего с сialogликопротеидами эритроцитарной мембраны. Вероятно, связывание вируса с гликопротеидами в СТ-буфере, в отличие от ганглиозидов, не является специфическим. Точнее, можно предположить, что константы связывания с этими молекулами заметно ниже, чем с ганглиозидами.

Увеличение процента гемолиза эритроцитов, обработанных нейраминидазой, в присутствии вируса гриппа в СТ-буфере свидетельствует, по-видимому, об ингибирующем влиянии сialogликопротеидов эритроцитов. Для осуществления гемолитической активности вирус должен непосредственно взаимодействовать с ганглиозидами мембраны. Для этого ему необходимо преодолеть гликопротеидный «барьер» с помощью нейраминидазы. О возможной роли нейраминидазы и протеазной активности вирусов в процессе слияния с клеточной мембраной свидетельствуют литературные данные [6].

Зависимость связывания вирусов от ионной силы может быть обусловлена как изменениями в вирусных частицах, так и изменениями в поверхности эритроцитарной мембраны. В пользу первой версии говорят результаты экспериментов по изучению нейраминидазной активности вируса Сендай в среде с низкой ионной силой, так как в качестве субстрата использовался растворимый сialogликопротеид — фетuin. Однако изменения вирусных поверхностных белков должны быть обратимы (вирус полностью сохраняет способность к геммагглютинации и гемолизу после переноса в ИТ-буфер), а также не должны затрагивать ганглиозид-связывающего участка белка, поскольку исследованные вирусы сохраняют высокое сродство к рецепторным ганглиозидам и сли-

способность дискриминировать ганглиозиды в растворах с низкой ионной силой [2]. В пользу второй версии свидетельствуют данные Лерхе [7]. В среде без ионов гликокаликс эритроцитов претерпевает существенные изменения: за счет электростатического отталкивания происходит перераспределение гликопротеинов и увеличение толщины гликокаликса, что, на наш взгляд, может приводить к нарушению нормального взаимодействия вируса с рецепторами.

Из таблицы видно, что вирус Сендай связывается с эритроцитами более «обратимо», чем вирус гриппа. В первом случае есть разница в степени гемолиза при отмывке несвязавшегося в ИТ-буфере вируса и разбавлении концентрированной суспензии вирусов с эритроцитами ИТ-буфером. Декантирование сахарозного супернатанта и перенос суспензии в NaCl приводит к снижению гемолиза по сравнению с контролем в 3 раза для H5N1 и в 8,5 раз для FPV. Если не отмывать не связавшийся в СТ-буфере вирус, то при переносе эритроцитов с вирусом в ИТ-буфер гемолиз восстанавливается практически полностью для вируса Сендай и примерно на 61% для вируса гриппа.

При переносе в NaCl связанный в сахарозе вирус может диссоциировать и вновь соединиться или может оставаться связанным с прежним участком мембраны. Из таблицы следует, что связанный в сахарозе вирус гемолизует эритроциты в NaCl менее эффективно (особенно FPV), чем не связанный: 6% гемолиза связавшимся вирусом гриппа и $31 - 6 = 25\%$ гемолиза — не связавшимся (связанный в СТ-буфере вирус составляет около 50% от общего количества). Этот факт дает основание предполагать, что связавшийся в сахарозе вирус не диссоциирует при переносе в NaCl, а остается связанным с прежними сайтами эритроцитарной мембраны, не обеспечивающими эффективного слияния вируса с мембраной и гемолиза. С этой точки зрения легко объяснить наблюдаемый эффект полного или частичного восстановления гемолиза при переносе из сахарозы в ИТ-буфер без отмывки вируса. В случае с H5N1 связанный в сахарозе вирус дает 10% гемолиза, а несвязанный — $37,2\% = 18,5\%$, что в итоге дает $28,5\%$ (см. табл.). Для FPV $6\% + 51,2\% = 57,2\%$.

Как видно из рис. 3, связывание вирусов Сендай с эритроцитами и вирус-индуцированный гемолиз в разной степени зависят от ионной силы раствора. Связывание быстро возрастает в области малых концентраций, тогда как увеличение гемолиза наблюдается лишь начиная с 60—70 мМ NaCl и достигает максимума в области 100 мМ. Если считать, что степень гемолиза отражает эффективность слияния вирусов с эритроцитами, то можно предположить, что именно в этом диапазоне концентраций NaCl рецептор(ы) принимают нужную для связывания и последующего слияния конформацию. Судя по связыванию вируса, изменения в структуре гликокаликса происходят во всем диапазоне концентраций, но вирус начинает «узнавать» рецепторный участок и сливаться с мембраной эритроцита в среде с достаточно высокой ионной силой.

Неспецифичность взаимодействия вирусов с мембраной эритроцитов в СТ-буфере проявляется в отсутствие не только гемолиза, но и

агглютинации. Иными словами, вирус как бы утрачивает свою мультивалентность в этих условиях и не способен склеивать и удерживать эритроциты в контакте даже после длительного наложения электрического поля, прижимающего клетки друг к другу в диэлектрофорезном эксперименте.

Дальнейшее исследование взаимодействия вирусов с клеточной мембраной в средах различного полного состава может дать дополнительную информацию о ранних стадиях вирусной инфекции.

Авторы признательны рукоподимой Какосян А. В. группе сотрудников отделения переливания крови 2-й клинической больницы г. Еревана за предоставление донорской крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баррет Т., Инглис С. В кн.: Вирусология. Методы. М., 1988.
2. Меликян Г. Б., Селпушкин В. А., Матинян Н. С., Коркмазян М. М., Аракелян В. Б. Биол. мембраны, в печати.
3. Селпушкин В. А., Проказова Н. В., Жигалин Л. С. и др. Мол. генетика, микробиология и вирусология, 12, 38—42, 1984.
4. Hoekstra D., Klapper K. J. Virology, 58, 87—95, 1986.
5. Howe G., Lee L. T. Adv. Virus Res., 17, 1—40, 1971.
6. Huang R. T. C., Diersch E., Rott R. J. Gen. Virol., 61, 295—301, 1985.
7. Lerche D. Biorheology, 19, 557—59, 1982.
8. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. J., Randall R. J. J. Biol. Chem., 193, 265—275, 1951.
9. Ali S., Klapper K., Hoekstra D. Biochemistry, 25, 2155—2166, 1986.
10. Suzuki J., Suzuki T., Matsumoto M. J. Biochem., 93, 1621—1631, 1983.
11. Suzuki J., Suzuki T., Matsumoto M., Matsumoto H. J. Biochem., 97, 1189—1190, 1988.
12. Suzuki J., Nagata I., Kato H., Matsumoto M., Nishino K., Nakajima K., Nishimura H. J. Biol. Chem., 261, (35), 17457—17461, 1986.
13. Umeda M., Nishino S., Inoue K. J. Biochem., 94, 1955—1966, 1983.
14. Umeda M., Nishino S., Inoue K. Virology, 131, 172—182, 1984.
15. Wolf D., Kanaka I., Nie S., Layton A. Experim. Cell Res., 139, 361—368, 1980.
16. Zimmermann H., Schaurich R., Grotzer R., Benz R. Angewandte Chemie, 94, 340—344, 1981.

Поступила 27.11.1989 г.

РАСЧЕТ ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКОЙ ЭНЕРГИИ ИОНА В
МЕМБРАНЕ, РАЗДЕЛЯЮЩЕЙ НЕСИММЕТРИЧНЫЕ РАСТВОРЫ

В. Б. АРАКЕЛЯН

Ереванский физический институт ГКАЭ СССР

Вычислены потенциал и энергия иона в мембране, которая разделяет два раствора с разными ионными силами. Показано, что неравенство ионных сил по обе стороны мембраны приводит к тому, что энергетический барьер иона в мембране становится несимметричным.

Հաշված են իոնի պոտենցիալը և էներգիան թաղանթում, որը բաժանում է տար-
բեր լուծույթների միմյանցից: Ելել է արված, որ խտանական տեղ-
երի անհավասարակշիռը թաղանթի երկու կողմերում բերում է աղի բանին, որ
իոնի էներգետիկ անցումները թաղանթում դառնում է ոչ սիմետրիկ:

The potential and the energy of the ion in the membrane, dividing two solutions with different ionic strength have been calculated. It has been shown that the difference in the ionic strength on both sides of the membrane brings to the asymmetry of the ionic energy barrier.

Мембрана—ионный транспорт.

При описании транспорта ионов важно знать энергию иона в мембране. Расчеты электростатической энергии иона в мембране проведены для случаев, когда мембрана разделяет симметричные растворы [1], сделаны также приближенные расчеты, где растворы электролитов заменены диэлектриками [2, 3]. В последнем случае задача решается довольно простым методом электростатических изображений. Однако очевидно, что в реальных условиях, как правило, реализуется случай, когда по обе стороны мембраны находятся электролиты, имеющие разную ионную силу. По этой причине следует вычислить энергию иона для общего случая несимметричных электролитов. Для вычисления энергии иона в мембране вначале следует определить потенциал иона, помещенного в произвольную точку внутри мембраны. Для этого нужно решить следующую систему уравнений

$$\Delta\Phi_1 = x_1^{-1} \Phi_1, \quad (1)$$

$$\Delta\Phi_2 = \frac{q_1 \delta(r - r_0)}{\epsilon_0 \epsilon_m}, \quad (2)$$

$$\Delta\Phi_3 = x_3^{-1} \Phi_3, \quad (3)$$

где Φ_1 , Φ_3 —потенциалы в растворах, где дебаевские длины экранирования равны x_1^{-1} и x_3^{-1} соответственно; Φ_2 —потенциал в мембране; ϵ_0 , ϵ_m —диэлектрические проницаемости вакуума и мембраны соответственно; q_1 , r_0 —заряд и координата иона внутри мембраны. К уравнениям (1—3) следует добавить следующие граничные условия

$$\Phi_1 = \Phi_3, \quad z = -\frac{a}{2}, \quad (4)$$

$$\epsilon_0 \frac{\partial \Phi_1}{\partial z} = z_0 \frac{\partial \Phi_2}{\partial z}, \quad z = -\frac{a}{2}, \quad (5)$$

$$\Phi_2 = 0, \quad z = \frac{a}{2}, \quad (6)$$

$$\epsilon_{\text{III}} \frac{\partial \Phi_3}{\partial z} = \epsilon_0 \frac{\partial \Phi_2}{\partial z}, \quad z = \frac{a}{2}, \quad (7)$$

где a — толщина мембраны, ϵ_0 — диэлектрическая проницаемость растворов. Учитывая, что в глубине растворов потенциалы равны нулю, т. е. $\Phi_1(z = -\infty) = 0$, $\Phi_2(z = \infty) = 0$, решения уравнений (1–3) будем искать в виде

$$\Phi_1 = \frac{q_1}{4\pi\epsilon_0\epsilon_0} \int_0^\infty E(k) \exp\{z[1 - k^2 - z_1^2]\} J_0(k|\vec{\rho} - \vec{z}_1|) dk, \quad (8)$$

$$\begin{aligned} \Phi_2 = \frac{q_1}{4\pi\epsilon_0\epsilon_0} \int_0^\infty \{ & \exp\{-k(z - z_1)\} - C(k) \exp(kz) - \\ & - D(k) \exp(-kz)\} J_0(k|\vec{\rho} - \vec{z}_1|) dk, \end{aligned} \quad (9)$$

$$\Phi_3 = \frac{q_1}{4\pi\epsilon_0\epsilon_0} \int_0^\infty V(k) \exp\{-z[1 - k^2 - z_1^2]\} J_0(k|\vec{\rho} - \vec{z}_1|) dk, \quad (10)$$

$$|\vec{\rho} - \vec{z}_1| = [(x - x_1)^2 + (y - y_1)^2]^{1/2},$$

где J_0 — функция Бесселя; $E(k)$, $C(k)$, $D(k)$, $V(k)$ — неизвестные функции. После подстановки Φ_1 , Φ_2 , Φ_3 в граничные условия (4–7) получаем систему уравнений, из которых после громоздких вычислений получим следующие значения для $V(k)$, $C(k)$, $E(k)$, $D(k)$:

$$V(k) = \frac{2k \exp(a) [1 - k^2 - z_1^2/2] \beta}{1 - k^2 + z_1^2 \nu - k^2 \nu}, \quad (11)$$

$$C(k) = \frac{(1 - k^2 + z_1^2 - kz) \exp(-ak/2) \beta}{1 - k^2 + z_1^2 \nu - k^2 \nu}, \quad (12)$$

$$\begin{aligned} E(k) = \frac{2k \exp(a) [1 - k^2 - z_1^2 - k]; 2)}{1 - k^2 + z_1^2 - k^2} & \left(\exp(-kz_1) - \right. \\ & \left. - \frac{(1 - k^2 + z_1^2 - kz) \exp(-ak/2) \beta}{1 - k^2 + z_1^2 \nu - k^2 \nu} \right) \end{aligned} \quad (13)$$

$$\begin{aligned} D(k) = \frac{(1 - k^2 + z_1^2 - kz) \exp(-ak/2)}{(1 - k^2 + z_1^2 - k^2) \exp(ak/2)} & \left(\exp(-kz_1) - \right. \\ & \left. - \frac{(1 - k^2 + z_1^2 - kz) \exp(-ak/2) \beta}{1 - k^2 + z_1^2 \nu - k^2 \nu} \right), \end{aligned} \quad (14)$$

$$\beta = \left(\operatorname{ch} k \left(\frac{a}{2} - z_1 \right) \right) \nu_- + \left(\operatorname{sh} k \left(\frac{a}{2} - z_1 \right) \right) \nu_+, \quad \vec{z}_1 = z_1 \vec{e}_z,$$

$$\varphi_2 = (1/\sqrt{k^2 + \kappa_1^2} - k\kappa_1) \exp(-\kappa_1 k) \pm (1/\sqrt{k^2 + \kappa_1^2} + k\kappa_1) \exp(\kappa_1 k).$$

Заметим, что в выражении для потенциала в мембране Φ_2 три слагаемых. Первое слагаемое, содержащее $\exp(-k|z - z_1|)$, соответствует потенциалу собственно самого иона (Φ_{21}), два других же слагаемых отвечают вкладу в потенциал от поляризованных зарядов на границе мембрана—раствор электролита (Φ_{2n}). Для удобства дальнейших вычислений представим потенциал в мембране в виде

$$\Phi_2 = \Phi_{21} + \Phi_{2n}. \quad (15)$$

Определим энергию взаимодействия иона с поляризованными зарядами по формуле

$$W_n = \int_{z_1}^{z_2} \Phi_{2n}(z = z_1, \rho = \rho_1) dq_1. \quad (16)$$

В формуле (16) $\Phi_{2n}(z = z_1, \rho = \rho_1)$ — потенциал поляризованных зарядов в точке, где находится заряд q_1 . После несложных преобразований интеграл (16) можно привести к виду

$$W_n = \frac{q_1^2}{4\pi\epsilon_0\epsilon_m a} \int_0^\infty (1 - \beta_1\beta_2 \exp(t) (\exp(2tz_1/a) + \\ + (\alpha_2/\alpha_1) \exp(-2tz_1/a)) - 1) / (\alpha_1\alpha_2 \exp(2t) - 1) dt, \quad (17)$$

$$\beta_{1,2} = \frac{1/\kappa^2 + (x_{1,2}a)^2 + t^2}{1/\kappa^2 - (x_{1,2}a)^2 - t^2}.$$

Для получения энергетического профиля иона в мембране к (17) следует прибавить энергию переноса иона из глубины водной фазы в мембранную [2]

$$W_m = \frac{q_1^2}{8\pi\epsilon_0\epsilon_m} \left(\frac{1}{r_m} - \frac{1}{r_1} \right), \quad (18)$$

где r — радиус иона. Таким образом, электростатическая энергия иона в мембране имеет вид

$$W_{(12)} = W_m + W_n(z_1). \quad (19)$$

Допустим, что ионные силы растворов по обе стороны мембраны одинаковы, т. е. $x_1 = x_2$, а следовательно, и $\alpha_1 = \alpha_2$. Это обстоятельство приводит к тому, что в (17) под интегралом появляется четная функция от x_1 , это в свою очередь приводит к тому, что энергетический профиль иона в мембране (19) становится симметричным относительно оси, проходящей по середине мембраны. Этот результат хорошо известен в литературе [1]. Однако, если $x_1 \neq x_2$, т. е. когда $\alpha_1 \neq \alpha_2$, то легко показать, исходя из (17) и (19), что энергетический профиль иона в мембране становится уже не симметричным. Численный расчет энергетического барьера по формуле (19) с учетом (17) и (18) показывает, что несимметрия энергетического барьера проявляется в том, что энергетический профиль иона в мембране вблизи границы с раствором, имеющим большее значение ионной силы, несколько ниже по сравнению с профилем у границы раздела с раствором, имеющим меньшее значение ионной силы.

Для случаев $\kappa_1^{-1} = 10 \text{ \AA}$, $\kappa_2^{-1} = 100 \text{ \AA}$, $r = 2 \text{ \AA}$, $a = 50 \text{ \AA}$, $\epsilon_s = 2$, $\epsilon_w = 78.5$ несимметрия порядка $\approx 1.5\%$.

В заключение отметим, что при расчете энергии переноса иона из раствора в мембрану (18) следовало бы учесть вклад электростатической энергии взаимодействия центрального иона с ионной атмосферой, которая равна

$$W_d = - \frac{q_0^2 \kappa}{12 \pi \epsilon_0} \quad (20)$$

Однако, как показывают оценки, этот вклад мал. Для случая $\kappa_1^{-1} = 10 \text{ \AA}$, $\epsilon_s = 78.5$ формула (20) дает для $W_d \approx 0.73 \text{ ккал}$, что намного меньше W_m , которая при $\epsilon_s = 2$ и $r = 2 \text{ \AA}$ равна $\approx 61 \text{ ккал}$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Айгян С. Х., Духин С. С., Чизмаджев Ю. А. Электрохимия, 13, 6, 779—783, 1977.
2. Neumcke B., Langer P. Biophys. J., 9, 9, 1160—1170, 1969.
3. Parsegian V. A. Ann. N. Y. Acad. Sci., 264, 161—174, 1975.

Поступило 6.XII 1989 г.

Биол. ж. Армении, № 1, (43), 1990

УДК 577.323

ИЗУЧЕНИЕ КОМПЛЕКСОВ МЕМБРАННЫХ РНК-СВЯЗЫВАЮЩИХСЯ БЕЛКОВ С дсРНК

А. Г. ГАБРИЕЛЯН, К. А. БАКУНЦ, Р. А. ЗАХАРЯН

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР, Ереван

Методами КД-спектроскопии и термальной денатурации (тонкой структуры кривой плавления) показано образование комплекса между РНК-связывающимися белками мембранной фракции мозга крысы и дсРНК. Влияние двух главных фракций белков на ДКП дсРНК различно.

ՔԴ-սպեկտրոսկոպիայի և ջերմային բնափոխման (խիստ մանր կառուցվածքի) մեթոդներով ցույց է տրվել կոմպլեքսի առաջացումը առկա զլիտոդի բաղանջային ֆրակցիայի ՌՆԲ-կապող սպիտակուսների և ՌՆԲ-ի միջև: Սպիտակուսների երեք զլիտոդեր ֆրակցիաների ազդեցությունը ՌՆԲ-ի ԶԿ-ի վրա տարբեր է:

By CD-spectroscopy and thermal denaturation (fine structure of the melting curves) techniques it has been shown that complex formation between RNA-binding proteins of membrane fraction of the rat brain and dRNA. The influence of two main fractions of proteins on dRNA differential melting curves is different.

дсРНК—мембранные белки—кривые плавления высокого разрешения.

Двуцепочечные РНК известны как индукторы интерферона, стимуляторы первичного и вторичного иммунных ответов, модуляторы ряда био-

Сокращения дсРНК—двуцепочечные РНК; ДКП—дифференциальные кривые плавления.

химических реакции [1, 6, 7]. Взаимодействие дсРНК с плазматической мембраной клеток млекопитающих индуцирует комплекс биохимических изменений в мембране. Фактором связывания дсРНК на плазматической мембране клеток являются протенины. Однако до настоящего времени мало исследованы механизм активации мембранных фракций под воздействием дсРНК, структура и свойства дсРНК-связывающихся белков плазматической мембраны, особенности их взаимодействия с дсРНК. Целью данной работы являлось изучение взаимодействия дсРНК-связывающихся белков плазматической мембраны клеток коры больших полушарий мозга крысы с дсРНК методом тонкой структуры крины плавления.

Материал и методика. Двуспираальная РНК вирусоподобных частиц клллерных дрожжей *S. cerevisiae* (штамм М 437) с молекулярной массой $1,2-1,8 \times 10^6$ была любезно предоставлена проф. Ф. И. Еришовым (Институт эпидемиологии и иммунологии АМН СССР). Препарат дсРНК был разделен на фракции (L и M) на колонке с сефахрилом S1000 с помощью микроколоночного жидкостного хроматографа «Обь»; буфер 0,02 М трис, 0,001 М ЭДТА, 0,1 М NaCl. Непосредственно перед плавлением L дсРНК переносили в $0,1 \times \text{SSC}$ гельфильтрацией на колонке S300.

ДсРНК-связывающиеся белки из плазматических мембран клеток коры больших полушарий крысы получали салицилизацией и присутствии тритона X-100 очищенной фракции плазматических мембран. Хроматографию белков, сорбированных на колонке дсРНК, иммобилизованной на АЭ-целлюлозе [5], проводили путем элюции в ступенчатом градиенте NaCl: 0,25; 0,5; 1 М. Затем следовали диализ, лиофилизация и хроматография на сефахриле S-300 с помощью хроматографа «Обь». Непосредственно перед плавлением растворы дсРНК и белка в $0,1 \times \text{SSC}$ смешивали в весовой пропорции 1:10.

Электрофорез в блочной модификации с маркерами был проведен в 10%-ный ПААГ.

Спектры КД получали на дихрографе Jobin III. ДКП дсРНК и комплексов с белками получали на спектрофотометре «Сагу-219» с термодриставкой. Скорость нагрева $0,4^\circ/\text{мин}$. Кривые, записанные на перфоленгу, дифференцируются на ЭВМ «Искра-226» с использованием программы ДСР-К (Бейск).

Результаты и обсуждение. Электрофорез белков, элюированных с дсРНК-АЭ-целлюлозных колонок буферами с разными молярностями NaCl, показал, что с дсРНК связывается целый набор белков. Это связано, по-видимому, с тем, что дсРНК-связывающиеся белки выделены из плазматических мембран достаточно разнородной популяции клеток мозга [1]. По молекулярным массам белки располагаются в пределах от 25 до 67 тыс. дальтон. Различие в белках, элюированных солевыми растворами возрастающих ионных сил, — в их относительном количестве.

Хроматография белков на колонке S 300 с помощью хроматографа «Обь» позволила фракционировать белки не только по молекулярным массам, но и по различным спектральным свойствам. Были выделены две главные фракции белков.

Первая фракция идентифицирована электрофорезом и ПААГ как белок с молекулярной массой 56 тыс. дальтон, вторая фракция — 38 тыс. дальтон.

На рис. 1 (кр. 1) приведен спектр КД дсРНК (спектр А формы). Неаддитивное изменение спектра при смешивании с белком фракции

II (кр. 2) происходит вследствие изменения в структуре дсРНК при образовании комплекса с белком. При этом хромофорные группы белка не обладают оптической активностью при данных длинах волн (кр. 3).

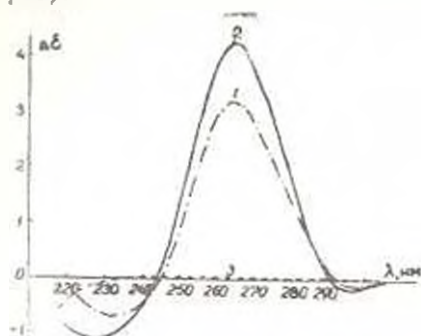


Рис. 1. Спектры КД в единицах молярного тирозина в Na-фосфатном буфере (ионная сила 0,021) суммарной дсРНК без белка (1), дсРНК в комплексе с белком II (2), белка 2 (3).

Суммарный препарат дсРНК содержит L и M формы дсРНК [2, 3] с молекулярными массами соответственно 4,5 тыс. пар и 1,8 тыс. пар нуклеотидов, причем соотношение L:M=9:1 [3]. Нами детально изучено влияние двух главных фракций белков на плавление L дсРНК, как превалирующей формы.

На рис. 2 даны ДКП L дсРНК без белка и в комплексе с белком фракции II. Как видно из рисунка, в присутствии белка происходит

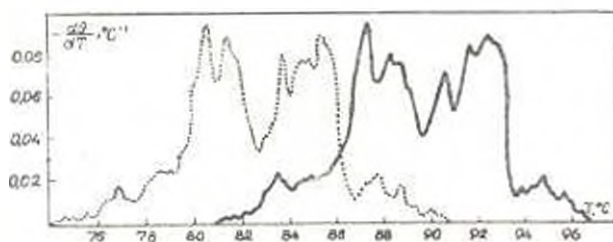


Рис. 2. Нормированная ДКП L дсРНК без белка в 0,1×SSC (пунктирная кривая) и в присутствии белка 2 (сплошная кривая).

смещение кривой плавления вправо на 7° без значительного изменения интервала плавления. Имеются и некоторые изменения формы кривой плавления, особенно пиков при $81 \div 81,5^\circ$ и $83 \div 83,5^\circ$. Таким образом, белок II—фракции оказывает стабилизирующее действие на L дсРНК. В присутствии этого белка наблюдается также довольно большой гипохромный эффект, т. е. значительная степень реассоциации структуры дсРНК (и L дсРНК) при охлаждении от температур денатурации сразу начинается довольно резкое понижение поглощения.

Между тем при плавлении без белка и в присутствии белка I фракции восстановление структуры L дсРНК практически отсутствует. Результаты эти свидетельствуют о преимущественном связывании белка фракции II с двуспиральными участками L дсРНК по сравнению с одноцепочечными.

Добавление белка фракции I приводит к некоторому расширению кривой плавления и искажениям его формы. Однако сдвиг ДКП не наблюдается (рис. 3).

Таким образом, белки фракций I и II сильно различаются не только по своим спектральным характеристикам. Они образуют различные комплексы с молекулами дсРНК в растворах.

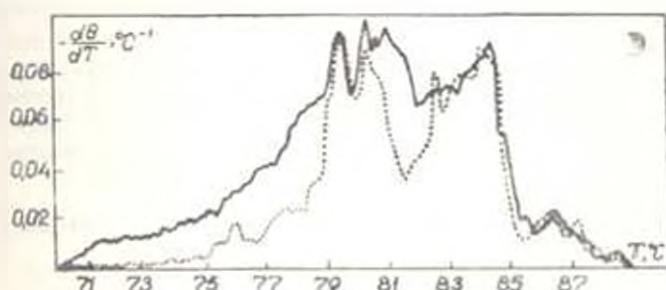


Рис. 3. Нормированная ДКП I, дсРНК при добавлении белка I (сплошная кривая) и в отсутствие белка (штриховая кривая).

Авторы благодарят Ю. С. Лауркина, К. Л. Любченко за предоставление возможности для проведения работы, Кинтко Н. П. и Амосову О. А. за содействие в работе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бакунц К. А., Захарян Р. А., Скобелова Н. А. Докл. АрмССР, 86, 4, 174, 1988.
2. Габриелян А. Г., Бакунц К. А., Захарян Р. А. Докл. АН АрмССР, 89, 3, 139—141, 1989.
3. Духан А. Б., Лохов С. Г., Закабуниан А. Н., Пообгарный Б. Ф. Мол. биология, 19, 6, 1579, 1985.
4. Иткес А. В., Туницкая В. Л., Северин Е. С. Успехи биол. химии, 26, 125, 1985.
5. Романов В. В., Старостина В. К. Биотехнология, 3, 5, 618, 1987.
6. Minks M. A., West D. K., Welch C. J. Biol. Chem., 254, 10180, 1979.
7. Rice A. B., Kerr I. M. J. Virol., 0, 229, 1984.

Поступило 9.VI 1989 г.

Биол. ж. Армении, № 1, 1990

УДК 578.088.547.963.4

СПЕКТРЫ ЭПР КОМПЛЕКСОВ МЕДЬ (II) АЛЬБУМИН С МОЧЕВИНОЙ

Р. А. АСАТУРЯН

Ереванский физический институт ГКАЗ СССР

Методом ЭПР исследованы комплексы медь (II) — альбумин с мочевиной при двух значениях pH. С ростом концентрации мочевины наблюдаются изменения константы ЭПР меди (II) при —190°C, что свидетельствует о двухстадийном процессе денатурации белка.

Сопоставлены EXAFS — Extended X-ray Absorption Fine Structure, XANES — X-ray Absorption Near Edge Structure, ТС — вторичная структура, Р — общий свороточный радиус, DSCN — денатурационная кривая.



ՀԱՅ Ժենդով ուսումնասիրվել է պղինձ (II)-ալբումին կոմպլեքսների փոխադ-
ղեցությունը միզանյութով՝ pH-ի 2 արժեքների դիպքում: Միզանյութի խտության
անոթ, դիտվում են նրանց ՀԱՅ պահպանման 95% հաստատունների փոփոխություն-
ներ -190°C -ի դիպքում, որոնք վկայում են սպիտակուցի բնափախման երկ-
փուլ պրոցեսի մասին:

The interaction of copper (II) albumin complexes with urea at low pH
significances has been investigated by the ESR method. With increase of
urea concentration there are observed changes in their ESR spectra su-
perfine structure constants at -190°C , which testify to a two-stage de-
naturation of protein

EXAFS և XANES սպեկտրոսկոպիա—կոնտակտային վերափոխման կոնֆորմ-
ացիա—денатурация белка.

При исследовании конформационных изменений альбумина под дей-
ствием мочевины применялись самые различные методы: рентгеновского
рассеяния [10], спинной метки [12], электрофорез в акриламидном
теле [13] и др.

В одной из последних работ, используя ряд хроматографических
методов, авторы [11] исследовали механизм транспорта меди в плазме
воробьиной крови. Они показали, что именно альбуминовая фрак-
ция ответственна за транспорт меди сразу после ее поглощения.

Исследованию структуры комплексов меди(II)-альбумин были по-
священы работы с использованием методов ЭПР [7], ЯМР [1] и
EXAFS спектроскопии [3, 8]. Было выявлено два типа связывающихся
центров: комплексы типа 1 присутствовали при низких значениях pH,
а типа 2—при $\text{pH} \geq 9$.

Исследованию взаимодействия комплексов меди(II)-альбумин с
додецилсульфатом натрия и тиоцианатом натрия посвящены работы
[2, 4], а связыванию медьсодержащего фермента супероксиддисмута-
зы с азидом и цианидом методом EXAFS спектроскопии работа [9].

Целью данного исследования являлось изучение методом ЭПР вза-
имодействия комплексов Cu(II)-BCA типов 1 и 2 с мочевиной.

Материал и методика описаны ранее в работе [2].

Результаты и обсуждение. На рис. 1 представлены спектры ЭПР
комплексов Cu(II)-BCA типов 1 и 2 до и после добавления мочевины.
При pH 5,5 и концентрации мочевины 10 М в спектре (в), увеличивается
ромбическое искажение относительно контрольного спектра (а), а
при pH 9,5 и той же концентрации мочевины в спектре (с) незначи-
тельно улучшается разрешение суперсверхтонкой структуры. Кроме того,
как при pH 5,5, так и pH 9,5 добавление мочевины в концентрации 10 М
приводит к уменьшению относительной интенсивности контрольной ча-
сти спектров ЭПР комплексов Cu(II)-BCA . Кинетическая зависимость
этой интенсивности от концентрации мочевины в диапазоне от 1 до 10 М
приведена на рис. 2. Можно видеть, что при pH 9,5 относительная ско-
рость спада этой интенсивности выше, чем при pH 5,5. Этот факт мо-
жет быть указанием на восстановление меди(II) в медь(I) в связи с
большой акцепторной способностью меди(II) к захвату электрона, как

было показано ранее нами при исследовании взаимодействия этих комплексов с тиоцианатом натрия [4]. Дополнительные данные, связанные с изменением валентного состояния меди, может дать применение XANES спектроскопии с использованием синхротронного излучения накопителя электронов.

При исследовании взаимодействия этих комплексов с тиоцианатом натрия [4] относительное уменьшение интенсивности сигналов ЭПР

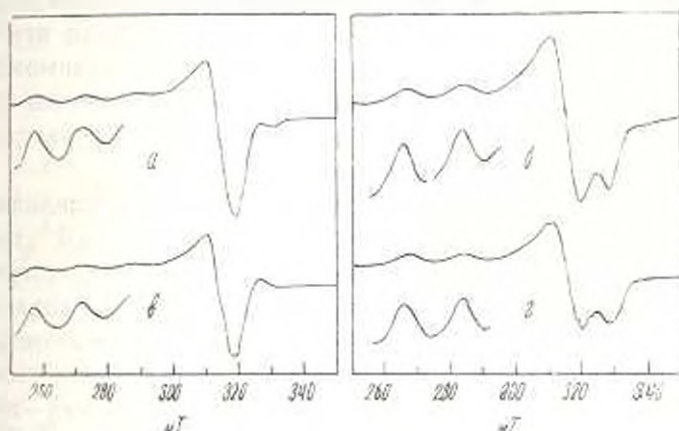


Рис. 1. Спектры ЭПР комплексов $\text{Cu(II)}\text{-BCA}$ при -190° : типа 1, pH 5,5 (а и в) и типа 2, pH 9,5 (б и г). Спектры а и б — контроли, в и г — после добавления 10 М мочевины. Под каждым спектром слепа проведена повторная запись компонент СТС при усилении в 4 раза большем.

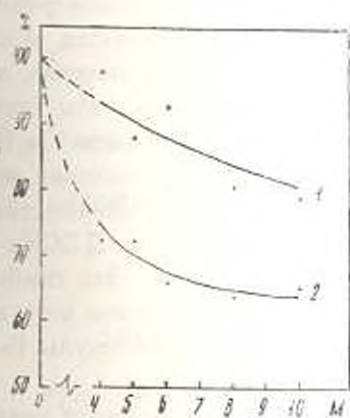


Рис. 2.

Рис. 2. Зависимость относительной интенсивности центральной компоненты спектров ЭПР комплексов $\text{Cu(II)}\text{-BCA}$ типа 1, pH 5,5 (1) и типа 2, pH 9,5 (2) от концентрации мочевины в молях.

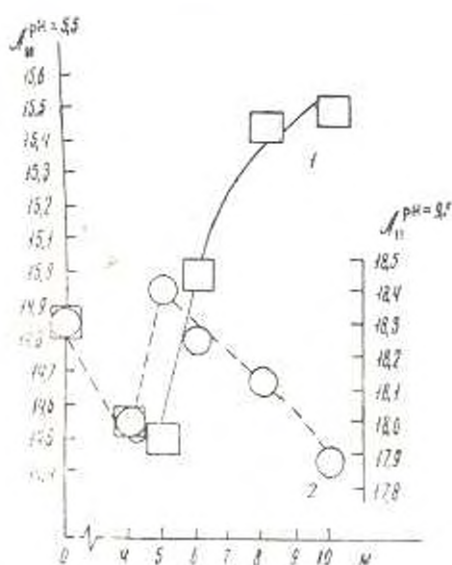


Рис. 3.

Рис. 3. Зависимость констант СТС K и значений pH комплексов $\text{Cu(II)}\text{-BCA}$ типа 1, pH 5,5 (1) и типа 2, 9,5 (2) от концентрации мочевины в молях.

было большим в случае pH 5,5, чем при pH 9,5. Мы объяснили это тем обстоятельством, что при pH 5,5 центральный атом меди в комплексе медь (II)-БСА имеет доступ к растворителю через две связанные с ним молекулы воды. Гидрофильное окружение в этом типе комплекса (тип I) при pH 5,5 и малые размеры аниона позволяли сблизиться меди (II) и SCN^- , создавая стерические условия для контакта между ними, приводящие к переносу электрона с SCN^- на медь, чего нельзя сказать о комплексах типа 2, которые находятся в гидрофобном окружении.

В данном случае большее уменьшение интенсивности центральной части спектров ЭПР при pH 9,5, чем при pH 5,5, по-видимому, может быть обусловлено таким изменением конформации молекулы БСА, что между комплексами медь (II)-БСА и мочевиной обеспечивается более плотный контакт.

Эти изменения конформации молекулы БСА мы проследили по значениям констант сверхтонкой структуры как при pH 5,5, так и при pH 9,5 (рис. 3), так как известно, что константа СТС характеризует не только спиновую плотность на данном ядре, но и конформацию окружения [5]. На этом рисунке значения констант СТС в зависимости от концентрации мочевины при pH 5,5 изменяются таким образом, что процесс денатурации БСА можно разделить на две стадии: первая—предденатурационная область при значениях концентрации мочевины вплоть до 5 М, вторая—область денатурации выше 5 М. В первой области значения константы СТС уменьшаются, а во второй—растут.

В предыдущей работе [6] при изучении спектров ЭПР комплексов Cu(II) -БСА в зависимости от pH было показано, что в предденатурационной области pH значение константы СТС монотонно уменьшается, образуя минимум при 9,3. Эти результаты согласуются с литературными данными по акустическому поглощению БСА в зависимости от pH [15]. При исследовании взаимодействия БСА с ДДСNa микродиалометрическим методом [14] было показано, что при концентрациях последнего от 20 до 80 мМ объем молекулы БСА уменьшается, а при высоких концентрациях его увеличивается. Делается заключение, что процесс денатурации БСА носит двухстадийный характер. Мы также провели аналогичное исследование взаимодействия комплексов Cu(II) -БСА с ДДСNa методами ЭПР и ЯМР и показали, что значения констант СТС спектров ЭПР комплексов медь (II)-БСА при взаимодействии с ДДСNa вначале уменьшаются с ростом концентрации ДДСNa от 20 до 80 мМ, а затем растут и выходят на некое плато. Эта симбатность между изменением объема молекулы БСА и значением константы СТС указывает на связь между изменением объема молекулы БСА и этой константы.

В связи с изложенным можно полагать, что наблюдающееся уменьшение константы СТС при pH 5,5 (рис. 3) в концентрациях мочевины вплоть до 5 М связано с таким предденатурационным изменением конформации молекулы БСА, которое приводит к уменьшению ее объема, а рост этой константы—к его увеличению.

Аналогичные представления, по-видимому, могут быть справедливы и в отношении констант СТС комплексов Cu(II) -БСА при pH 9,5 (рис. 3).

Таким образом, показанные изменения констант СТС как при рН 5,5, так и рН 9,5, указывают на двухстадийный процесс денатурации молекулы БСА, связанный с его конформационным изменением.

Следует отметить, что при изучении влияния мочевины на конформацию сывороточного альбумина методом спиновой метки невозможно было разделить процесс денатурации на какие-либо фазы [12]. По-видимому, подход, развитый нами в данной работе, может быть полезен при детальном изучении механизма денатурации какого-либо неизвестного белка или фермента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Асатурян Р. А. Биолог. ж. Армении, 36, 570—574, 1983.
2. Асатурян Р. А., Лусарарян К. С. Биолог. ж. Армении, 39, 208—212, 1986.
3. Асатурян Р. А., Авакян Ц. М., Еришов Н. В., Агеев А. Л., Козлов М. А. Докл. АН СССР, 299, 490—493, 1988.
4. Асатурян Р. А. Биолог. ж. Армении, 42, 14—18, 1989.
5. Лебедев Я. С. Ж. Всесоюз. хим. общ. им. Д. И. Менделеева, 30, 187—190, 1985.
6. Asaturian R. A. Preprint Yerevan Phys. Inst., 16 (31)—84.
7. Asaturian R. A. Gen. Physiol. Biophys., 5, 105—108, 1986.
8. Asaturian R. A., Avakian Ts. M., Ershov N. V., Agreva A. K., Kozlov M. A. I. Physique, 47, C8—1205—1209, 1986.
9. Blackburn N. J., Strange R. W., McFadden L. M., Huxford S. S. J. Amer. Chem. Soc., 109, 7162—7170, 1987.
10. Echols G. H., Anderagg J. W. J. Amer. Chem. Soc., 82, 5085—5092, 1960.
11. Gordon D. T., Leinart A. S., Cousins R. J. Amer. J. Physiol., 252, 327—333, 1987.
12. Grigorian G. L., Kalmanson A. E., Rozantsev I. C., Suskina T. S. Nature, 216, 927—928, 1967.
13. Katz S., Denis S. Biochim. Biophys. Acta, 183, 247—255, 1969.
14. Katz S., Shaw M. E., Chittag S., Miller J. E. J. Biol. Chem., 247, 5228—5233, 1972.
15. Kessler L. W., Dunn F. J. Phys. Chem., 73, 425—426, 1969.

Получено 27.11.1989 г.

Биолог. ж. Армении, № 1 (43) 1990

УДК 577.152.421

ՔԱՎԱՐԻ ՄԿԱՆԻ ԵՆՈՒԱԶԱՅԻ ԵՎ ՊԵՐՈՒՎԱՏԿԻՆԱԶԱՅԻ ՓՈՆԱԶԴԻՑՈՒԹՅՈՒՆԸ

Կ. Բ. ՆԱԶԱՐԱՆ

ՀեՄԱ՝ ԳԱ փորձասան կենսաբանության ինստիտուտ, Երևան

Մկանի նեոլոգի K_{m-1} -ը 2-ֆոսֆոգլիցերատի համար նվազում է պիրուվատ-ֆոսֆատի ներկայությամբ, իսկ V_{max} բնակում է անփոփոխ: Հիմնար. ուղեգրում է ֆերմենտի քանակի ավելացնելու և չի փոփոխում չափաանոցները: Խաղաղի կենցանաբանական բարդացնելու հակադարձ անալիզի կենսաֆիզիկական պարամետրերը պիրուվատինադայի ներկայությամբ չեն փոխվում: Պապրգրադովայիները քեհարկվում են պիրուվատի ֆերմենտների փոխազդան պատկերացումների ջրանակներում, որոնց համաձայն ենթադրվում է նեոլոգի պիրուվատինադայի ներկայության պայմաններ:

K_m енoлазы мышца кролика для 2-фосфоглицерата уменьшается, а V_{max} остается постоянным в присутствии пируваткиназы. Эффект усиливается при повышении концентрации фермента и не меняется при изменении содержания лактатдегидрогеназы. Параметры обратной реакции в присутствии пируваткиназы не изменяются. Полученные данные обсуждаются в рамках представлений о взаимодействии гликолитических ферментов, на основании которых можно предположить существование комплекса енoлаза-пируваткиназа.

Enolase K_m for 2-phosphoglycerate decreased, while V_{max} kept constant in the presence of pyruvate kinase. Binding increase of concentration of pyruvate kinase the effect became stronger and it was not influenced if lactate dehydrogenase concentration was changed. The kinetic parameters of reverse reaction did not change in the presence of pyruvate kinase. The interaction between enolase and pyruvate kinase could provide a mechanism of increasing of glycolytic flux.

Լեւոազա-պիրուվատկինազա-գլիկոլիտիկ ֆերմենտների վաղաժամկետ-պայմաններ:

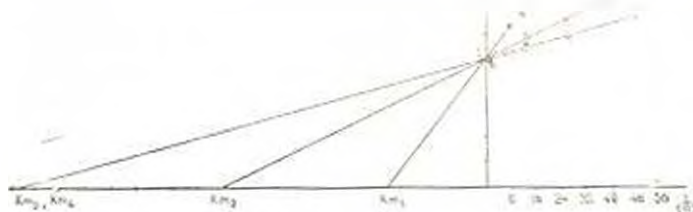
Վերջին տասն տարիների ընթացքում կուտակվել են բազմաթիվ փորձառական տվյալներ, որոնք վկայում են գլիկոլիտիկ ֆերմենտների փոխազդեցության մասին [10, 11, 13] և կյանքի տվյալները, հիմնականում, վերաբերում են ֆերմենտ-ֆերմենտ փոխազդեցություններին և դրանց բացահայտման համար մշակվել են բազմաթիվ մեթոդներ՝ ֆլուորեսցենտային տեխնիկա, իզոտոպային նոսրացում, ուլտրաբնութագրում, կինետիկական տնայիզ և այլն [6, 7, 10, 15] և պիրուվատների, այդ թվում որոշ ֆերմենտների փոխազդեցությունը *in vivo* նույնպես շատ հավանական է թվում, եթե հաշվի առնենք նրանց ներքցային կոնցենտրացիաները և կոմպլեքսների դիսոցիման կոնստանտները (Դկ) [11] և ապի դրանից կան նաև հատուկ մշակված մեթոդներ, որոնք թերություններից դուրկ չլինելով հանդերձ՝ կարող են արժեքավոր ինֆորմացիա տալ կոմպլեքսների մասին *in vivo* [9, 13]։

Նախորդ աշխատանքում մենք ֆլուորեսցենցիայի անիզոտրոպիայի և կինետիկական տնայիզի մեթոդներով ցույց ենք տվել ուղեղի նեյրոսպեցիֆիկ ենոլազայի և ֆոսֆոգլիցերատմուտազայի փոխազդեցությունը 10^{-5} Մ Դկ-ով [3, 4]։ Մինչդեռ ուղեղի նեյրոսպեցիֆիկ ենոլազան մուտազայի հետ նման կոմպլեքս չի առաջացնում։ խմորասնկերի ենոլազան տալիս է արհեստական, բիֆունկցիոնալ ռեազենտով առաջացված կոմպլեքս և՛ մուտազայի, և՛ պիրուվատկինազայի հետ [8]։ Նույն աշխատանքում ցույց է տրված, որ այդ կոմպլեքսը ավելացնում է ռեակցիայի էֆեկտիվությունը՝ կրճատելով ֆերմենտի սուբստրատով հաղենալու մոմանակահատվածը (lag-phase)։ Մյուս կողմից կան տվյալներ, որ նեյրոսպեցիֆիկ ենոլազան մի շարք հատկություններով նման է մկանի ենոլազային [1] և քանի որ հայտնի են մկանի գլիկոլիտիկ ֆերմենտների փոխազդման բազմաթիվ օրինակներ [7, 10, 11, 14, 15], ապա որպես այս աշխատանքի օբյեկտ ընտրվել են մկանային ենոլազան և պիրուվատկինազան։

Նյութ և մեթոդ։ Աշխատանքում օգտագործվել են՝ ենոլազա «Sigmam» (ԱՄՆ), պիրուվատկինազա և լակտատդեհիդրոգենազա «Reanal» (Հունգարիա) — բոլոր ֆերմենտները ճապարի մկանից, 2-ֆոսֆոգլիցերատի նատրիումական աղ «Boehringer» (ԳՖՀ), ֆոսֆոենոլպիրուվատի ցիկլոհեքսամոնիակային աղ «Reanal» (Հունգարիա)։ Պիրուվատկինազան և լակտատդեհիդրոգենազան օգտագործելուց առաջ ենթարկել են լրացուցիչ մաքրման G—200 սեֆադեքսով և ՊէԱԷ-ցելյուլոզով, որից հետո պիրուվատկինազան, օրինակ, պարունակում էր 9.7 % -ից պակաս ենոլազային և 2 % -ից պակաս լակտատդեհիդրոգենազային ակտիվու-

ստացված տառնց պիրուվատիկինազայի, համապատասխանում են գրական տվյալներին [2,5]։

Պատկերը որակապես նման է ակտիվության որոշման մեկ այլ (լրացուցիչ ֆերմենտներով) եղանակ սզտագործելիս։ Նկ. 2-ից երևում է, որ K_m -ը փոքրանում է պիրուվատիկինազայի կոնցենտրացիան ավելացնելիս, իսկ V_{max} -ը մնում է հաստատուն։ Լակտատդեհիդրոգենազայի քանակի ավելացումն ենթադրադրի K_m -ը և V_{max} -ը 2-ֆոսֆոգլիցերատի համար նկատելիորեն չի փոփո-



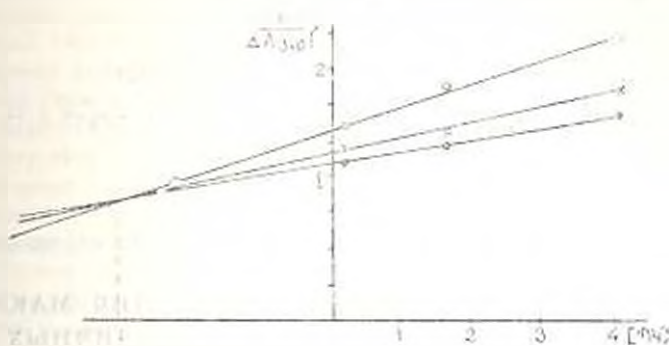
Նկ. 2 Ուղիղ ռեակցիայի արագությունը 2 ֆոսֆոգլիցերատի համար, արագության քանակությունը 340 նմ։

● - Լենուդալ: պիրուվատիկինազայի և Լակտատդեհիդրոգենազա - 1:2:2

○ - 1:40 2. × - 1:10:10, $K_{m1} = 3 \cdot 10^{-5}$ M, $K_{m2} = 10^{-5}$ M, $K_{m3} = K_{m4} = 6 \cdot 10^{-5}$ M

խում։ Այսպիսով, բնդհանրացնելով ստացված արդյունքները՝ կարելի է եզրակացնել, որ պիրուվատիկինազայի ակտիվությունը նպաստում է ենուլազայի խնամակցության աճին 2-ֆոսֆոգլիցերատի համար և ուղիղ ռեակցիայում սուբստրատը կարող է ավելի մեծ էֆեկտիվությամբ սզտագործվել։ Այդ խնաստով ստացված էֆեկտը լիակատար համապատասխանում է մետաբոլիկ ուղիների էֆեկտիվությունը բարձրացնելու այն պատկերացումներին, որոնց համաձայն ֆերմենտների փոխազդման կենսաբանական իմաստը կայանում է մետաբոլիտի ուտիլիզացիան էֆեկտիվության աճի մեջ։ Դու բերում է մետաբոլիտի ավելի լիարժեք օգտագործման, քանի որ այն չի ցրվում բջջի ժլալով, այլ անմիջապես փոխանցվում է դեպի հաջորդ ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնը հատուկ ներկումպլերային խոռոչով։ Այսպիսի ֆունկցիոնալ խոռոչիս զոյություն մասին, երկու կամ ավելի ֆերմենտների կոմպլեքսում «channeling», վկայում են առաջին հերթին ֆերմենտի սուբստրատով հաղցման մամանակահատվածի (lag-phase) կրճատումն և սուբստրատի խնամակցության ավելացումը [10, 14]։ Ինչպես երևում է ստացված տվյալներից՝ ենուլազայի և պիրուվատիկինազայի փոխազդեցությունը, հավանաբար, տալիս է նման կոմպլեքս։ Այդ կոմպլեքսի Դկ-ն կարելի է որոշել ստացված տվյալները Դիրսոնի զրաֆիկի աեսքով ներկայացնելիս (Նկ. 3), որտեղ հրեր ուղիների հատման կետը թվապես համարժեք է կոմպլեքսի Դկ-ին [4] և հավասար է $3,1 \cdot 10^{-6}$ M, Այս արժեքը համընկնում է նախորդ ֆլուորեսցենցիայի անիզոտրոպիայի մեթոդով ստացված մեկանի ենուլազա-պիրուվատիկինազա կոմպլեքսի Դկ-ին (Բաուկի, Նազարյան, չտալագրված տվյալներ)։ Այսպիսով, կարելի է եզրակացնել, որ ենուլազա-պիրուվատիկինազա կոմպլեքսը, շնայած ունի սպիտակուղ-սպիտակուղային փոխազդեցությունների համար բավական

ևին բարձր η -կ, բայց հաշվի առնելով մկանային հյուսվածքում այդ ֆերմենտ-ների կոնցենտրացիաները, որոնք համապատասխանաբար հավասար են 10^{-5} և $10^{-4} M$ [5] և ենթադրելով, որ որևէ ներքջջային ֆակտոր չի խաթարում փոխադրմանը (իսկ գրական տվյալները վկայում են հակառակը), այդ կոմպլե-



Նկ. 3 Ուղիղ ունակցիայի արագությունը պիրուվատիկինազայի տարբեր կոնցենտրացիաների համար (Դիքսոնի գրաֆիկ):
2-Ֆոսֆոգլիցերատի կոնցենտրացիաները: ● — 0,8 մմ, ○ — 0,4 մմ, ○ — 0,2 մմ

հ 3,1 $10^{-4} M$

լերսը կարող է գոյություն ունենալ և 111 $10^{-4} M$ Փանի որ կոմպլեքսի սկզբնական մետաբոլիտը՝ 2-ֆոսֆոգլիցերատը, բացի գլիկոլիդից չի մասնակցում ուրիշ կենսաքիմիական ուղիներում, ապա հնարավոր է, որ կոմպլեքսագոյացման կենսաբանական իմաստներից մեկը հանդիսանալ գլիկոլիդի էֆեկտիվության ավելացումը: 2-ֆոսֆոգլիցերատի լիարժեք օգտագործմամբ նրա խնամակցությունը ղեպի ենդազան մեծացնելով, եման կոմպլեքսագոյացման մյուս հետևանքը կարող է լինել միջանկյալ մետաբոլիտի՝ ֆոսֆոենոլ-պիրուվատի պաշտպանությունը ուրիշ կենսաքիմիական ուղիներում օգտագործվելուց, որը նույնպես կնպաստի գլիկոլիդի էֆեկտիվության բարձրացմանը: Մյուս կողմից, ստացված տվյալները համապատասխանում են վերջերս պարզված կրիստալոգրաֆիկ մեթոդներով ստացված արդյունքներին, որոնց համաձայն ենդազան և պիրուվատիկինազան ունեն բարձր առաժանի կառուցվածքային հոմոլոգիա: Դա հնարավորություն է առկա եզրակացնել, որ դրանք հնում առաջացել են ընդհանուր մուլտիֆունկցիոնալ ֆերմենտից և մինչև այժմ պահպանել են խնամակցությունը մեկը մյուսի նկատմամբ [12]:

Դիսկուսիոն

1. Hazzareh K. B., Kazzareh B. A., Karapetian H. G. Նրո- 6108, չ., 58, 4, 72—76, 1986.
2. Baranowski T., Wolna E. In: Methods in Enzymology (Wood, W. A., Ed.), Academic Press, New York, 42, 135—150, 1975.
3. Batke J., Nazaryan K. B. Abstr. 14th Int. Congr. Biochem., Prague, TH358, 1988.
4. Batke J., Nazaryan K. B., Karapetian H. G. Arch. Biochem. Biophys., 64, 510—518, 1988.
5. Bergmeyer H. U., Ed., In: Meth. Enzymatic Analysis, 2nd., Academic Press, 4, New York, 1974.
6. Bernhard S. A., Srebnikova D. K. Biochem. Soc. Trans., 15, 977—981, 1987.
7. Cohen R., Mire M. Eur. J. Biochem., 33, 267—275, 1971.
8. Ikura K., Okumura K., Sasaki P., Chiba H. Agric. Biol. Chem., 48, 355—364, 1984.

9. Jakobsen K., Wojcieszyn J. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81, 6747—6751, 1984.
10. Keleti T., Ovodt J., Burke J. In: Towards Cell Enzymol. (Klyosov A. A., Varlojovcev S. D., Webb G. S., Eds.), Plenum Press, New York, 45—67, 1987.
11. Korganov B. I. C. Theor. Biol., 119, 445—455, 1986.
12. Leblond L., Stec B. Nature, 333, 683—686, 1988.
13. Pain P. L. Cell Biol., 99, 1881—1955, 1981.
14. Scere P. J. Ann. Rev. Biochem., 56, 21—56, 1987.
15. Tompa P., Bär T., Burke J. Eur. J. Biochem., 159, 117—124.

Всесоюзный (15. IX. 1989 г.)

Биолог. ж. Армении, № 1 (43), 1990

УДК 616.097.612.017—11/12

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МАКРОФАГОВ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СОСТОЯНИЯХ ОРГАНИЗМА

З. В. АЗНАУРЯН, М. Э. БАХШИЯН, В. А. ГОРЯЧКИНА, Э. С. АКОПДЖАНЫ

Ереванский медицинский институт, кафедра гистологии

Выявлена высокая структурно-функциональная активность макрофагов в лимфатических узлах, проявляющаяся в наличии богатого мембранного аппарата и высокого содержания кислой фосфатазы у этих клеток. Отмеченные признаки подвергаются изменениям при различных состояниях организма.

Ի հարկ է ընդգծել մակրոֆաгների ներգոյցների, մեմբրանային բարդ կառուցվածքի-ֆազոֆորմի ախտափոխությունը, որը նախկին է գտնվում այդ բջջերում բաց ֆոֆաթատային զգալի քանակության և ներքին թաղանթային ապարատի առկայության դեպքում, նշված նշանակությունը ենթարկվում են փոփոխությունների օրգանիզմի տարբեր վիճակներում:

A high structural-functional activity of macrophages of lymphatic ganglia, displayed in the presence of rich membrane apparatus and high content of acid phosphatase in these cells has been revealed. The mentioned peculiarities undergo changes during various states of the organism.

Макрофаги лимфатических узлов—мембранный аппарат—кислая фосфатаза

Учитывая активную реакцию лимфатических узлов на любые нарушения гомеостаза, а также широкий спектр функциональной активности макрофагов, можно предположить, что эти клетки играют значительную роль в становлении и течении постоянно происходящих в организме процессов. В указанном аспекте морфофункциональные изменения макрофагов лимфатических узлов не изучены. В настоящем сообщении приведены результаты изучения макрофагов лимфатических узлов как в норме, так и при различных воздействиях на организм (тканевым антигеном, ретиноидами) и в условиях злокачественного роста.

Сокращения: ДГМЭРК—В-уксмети. 7,8 динитроретиноевой кислоты, МЭРК—трансметиловый эфир ретиноевой кислоты, ГЭР—гранулярный лимфоцитарный ретикулоцит, СМФ—система монопонуклеарных фагоцитов

Материал и методика. Антигенную стимуляцию производили внутрибрюшинным введением 0,5 мл 8%-ной взвеси эритроцитов барана 25 беспородным белым крысам обоих полов. Действие ретиноидов синтетических аналогов витамина А—изучали на 15 крысах самцов линии Wislar, которым внутрибрюшинно вводили 2 мл (однократно) 0,1%-ных масляных растворов ДГМЭРК и МЭРК. В качестве контроля на растворитель аналитическим способом проводили жесточковое масло.

Химический канцерогенет индуцировали у 10 линейных мышей-самцов P₁-C57B 1. СВА инъекционным нанесением 0,5%-ного 3,4-бензпирена. Препарат наносили на кожу межлопаточной области по 2 капли раз в 5 дней шпателью со стандартным диаметром концевой отверстия в течение 86 дней, когда появилась визуально различимая опухоль.

Для электронной микроскопии кусочки мезентериальных лимфатических узлов толщиной не менее 1 мм фиксировали в 2%-ном растворе гутаральдегида с последующей фиксацией в 1%-ном растворе того же буфера. Дегидратацию проводили в спиртах возрастающей концентрации. В процессе обезжиривания материал контрастировали 0,5%-ном раствором уранилацетата и 70%-ном ацетоне. Ультратонкие срезы готовили на ультратоме LKU, контрастировали цитратом свинца по Рейнольдсу и просматривали в электронном микроскопе УЕМ при ускоряющем напряжении 80 КВ.

Для определения фагоцитарной активности на 24 до убоя внутрибрюшинно вводили 50%-ный раствор коллоидной угли мышам по 0,3–0,1 мл, крысам 3–5 мл. Определяли фагоцитарный показатель и среднее число макрофагов со сверхинтенсивным фагоцитозом. Первый показатель отражал среднее число частиц угли, поглощенных одним макрофагом (подсчет проводили в 100 клетках, ок. 10, об. 90). Второй показатель отражал среднее число макрофагов, в которых гранулы угли почти их многочисленности сосчитать не удавалось. Эти клетки мы условно обозначали как макрофаги со сверхинтенсивным фагоцитозом. Кислую фосфатазу—маркерный фермент липосом—определяли на свежемороженых срезах методом азосочетаний с последующим количественным анализом на цитофотометре. Морфометрические данные были обработаны методом вариационной статистики по Стьюденту.

Результаты и обсуждение. Электронномикроскопическое исследование обнаружило некоторые различия в ультраструктурных признаках макрофагов синусов и паренхимы. Присущие и норме макрофагам лимфатического узла постоянное присутствие в цитоплазме большого количества вторичных лизосом, их полиморфизм, складчатость клеточной мембраны заметнее в макрофагах синусов (рис. 1, 2). Среди паренхиматозных макрофагов чаще встречаются клетки со значительным содержанием рибосом, выраженными ГЭР, комплексом Голджи. Постоянны их частные контакты с клетками лимфатического ряда как в норме, так и в условиях антигенной стимуляции (рис. 3). Нередко наблюдались также контакты и с эозинофилами (рис. 4). Участие макрофагов в иммунных реакциях организма отмечено в литературе [2]. Можно предположить совместное участие (или регулирующее влияние) активированных макрофагов с эозинофилами в иммунном ответе организма. Это тем более возможно, что описан выделяемый макрофитами хемоаттрактант для эозинофилов [3], привлекающий их в очаг воспаления. Приведенные данные согласуются с результатами нашего эксперимента с внутрибрюшинным введением антигена, устремляющегося в первую очередь в мезентериальный лимфатический узел и вызывающего в нем воспалительный процесс.

Фагоцитарная активность макрофагов возрастает при иммунном ответе в ранние сроки эксперимента и удерживается на высоком уровне в течение высоких цифрах (табл. 1).

Антигенная стимуляция					Воздействие	
Сроки дни	Количество животных	ф. пок. *	с/н ф.-з. % **	КФ	Воздействие	Количество животных
Контроль	5	4.64±0.09	3.85 (4.0±0.578)	111.035±4.21	Контроль	5
2-4	10	8.02±0.063 P<0.001	12.95 (14.7±2.46) P<0.001	173.18±5.42 P<0.001	Капторное масло	4
7	7	8.3±0.18 P<0.001	21.26 (27±1) P<0.001	185.87±5.47 P<0.001	2 мл ДГМЭРК	7
11	5	8.22±0.36 P<0.001	15.96 (19±0.91) P<0.001	189.25±8.78 P<0.001	2 мл ДГМЭРК	7
20-21	7	6.46±0.1 P<0.001	5.41 (5.75±0.48) P<0.001	287.7±11.27 P<0.001		

Примечание: * ф/пок — фагоцитарный показатель, ** с/н ф.-з. — сверхинтенсивный фагоцитоз

Прямой корреляции между возрастанием фагоцитарной активности и кислой фосфатазой мы не заметили (табл.). При максимальной активности фагоцитоза содержание фермента уменьшается. Возможно, с возрастанием фагоцитарной функции клетки расход фермента опережает его синтез. В какой-то период они уравновешиваются, и по мере дальнейшего уменьшения расхода фермента (в связи со снижением фагоцитарной функции) содержание его в клетке возрастет. Этим же, вероятно, объясняется высокое содержание кислой фосфатазы на 20—21 день опыта при сравнительно невысокой фагоцитарной функции.

Под влиянием введенных ретиноидов, особенно ДГМЭРК, наблюдается заметная активация макрофагов лимфатического узла (табл.). Этому способствуют прежде всего масляные растворы ретиноидов, так как макрофаги способны поглощать и депонировать липиды [4]. В условиях же внутрибрюшинного введения адьюванта макрофаги данного органа оказались ближе всего к этому месту. Что касается механизма активации, то, вероятнее всего, он связан со способностью жирорастворимых витаминов оказывать влияние на цитомембраны, менять их поверхностный заряд, способствуя транспорту через них метаболитов, ионов, воды и соответственно повышению (активации) обменных процессов в клетке [1]. Это положение вполне применимо к макрофагам лимфатических узлов, которые отличаются богатством мембранных компонентов — лизосом, ГЭР, комплекса Гольджи. В условиях химически индуцированного канцерогенеза фагоцитарная функция макрофагов возрастает (табл.), особенно макрофагов со сверхинтенсивным фагоцитозом. Это свидетельствует о высокой потенции макрофагов лимфатического узла, ибо повышение функциональной активности клеток, когда другие представители данной популяции (в селезенке, печени) подвер-

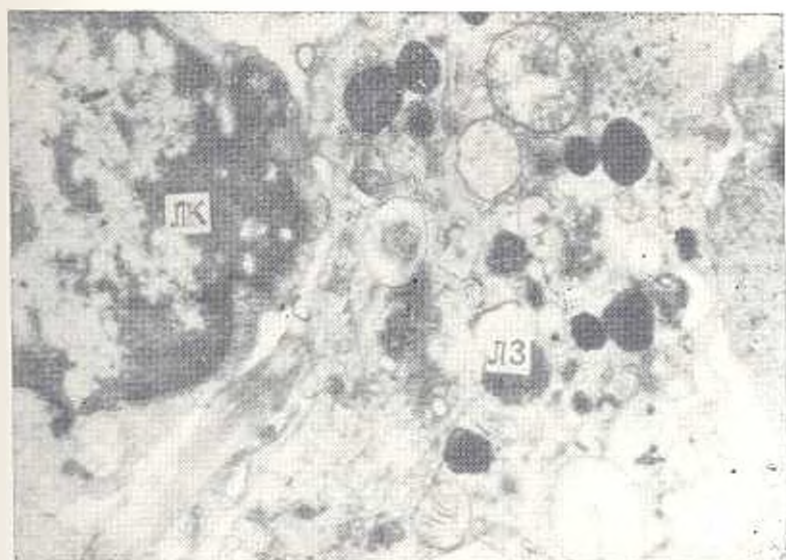


Рис. 1. Фрагмент макрофага с уса лимфатического узла с обилием различных по размерам лизосом (ЛЗ) в цитоплазме. Форма ЛК — лимфоцитозит. Ув. 12 000.

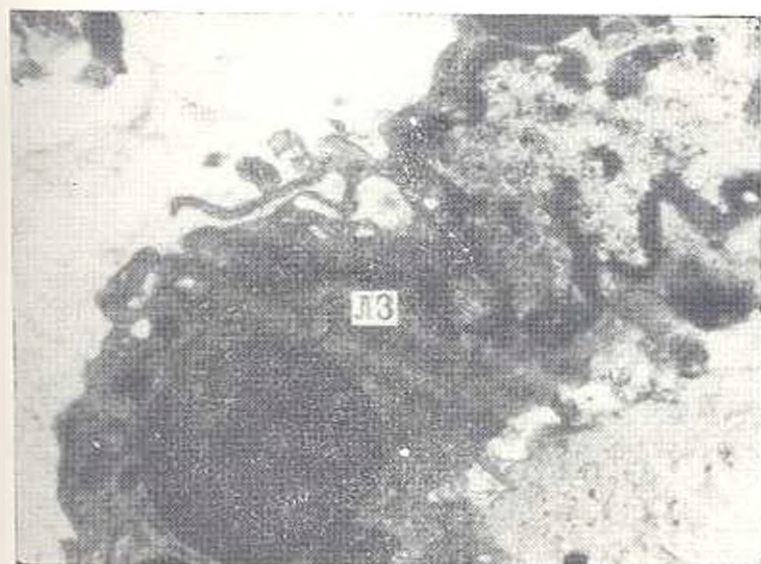


Рис. 2. Макрофаг в сплесе лимфатического узла интактного животного. Поверхность его складчатая. ЛЗ — лизосома. ЦО — цитоплазматические отростки. Ув. 12 000.

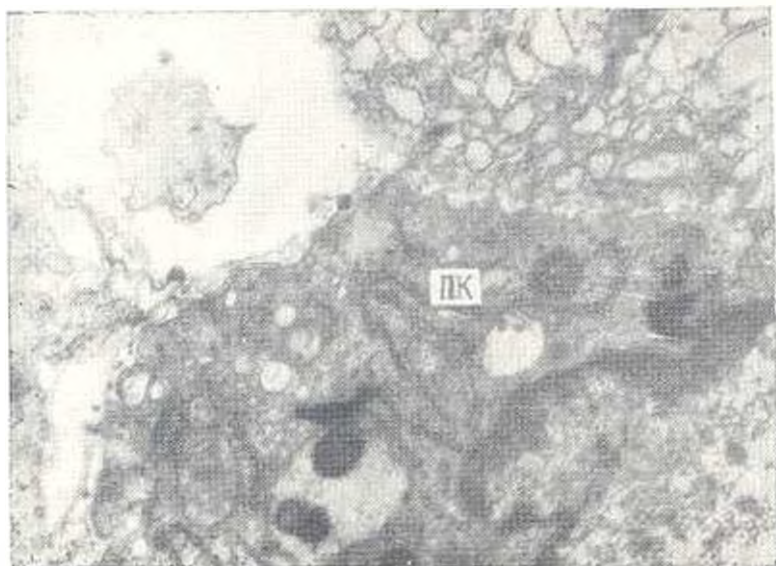


Рис. 3. Фрагмент макрофага синуса лимфатического узла на 7 день антигенной стимуляции. Демонстрируется взаимодействие макрофага с плазматической клеткой (ПК). Я — ядро макрофага. Ум 14 000.



Рис. 4. Взаимодействие макрофага и нейтрофила (ЭФ) в синусе лимфатического узла на 7 день антигенной стимуляции. Тесное прилегание клеточных мембран. Я — ядро макрофага. Ум 8 000.

ретиноидами		Химически индуцированный канцерогенез			
Ф.пик.	с/н ф-т, %	Воздействие	Содержание клеточных	Ф.пик.	с/н ф-т, %
3.108±1.15	1.21 (1.23±2.31)	Контроль	7	3.09±0.145	1.63 (1.5±0.33)
3.499±0.97	1.25 (1.27±2.07)	Бензпирен	7	3.11±0.071	1.96 (2.03±0.41)
P=0.1	P<0.1			P<0.1	P<0.01
4.83±0.07	4.07 (5.07±0.269)	Бензпирен	5	3.8±0.15	2.59 (2.66±0.667)
P<0.001				P<0.002	P<0.001
8.719±0.19	2.02 (2.07±0.39)				
P=0.001					

гаются депрессии, возможно, следует рассматривать как явление мобилизации защитных механизмов организма в борьбе с канцерогенезом. в частности, тех звеньев СМФ, которые, возможно, оказались малоуязвимыми: к супрессирующему воздействию опухоли и обладающими потенциальными возможностями активации защитно-приспособительных механизмов.

Таким образом, макрофаги лимфатических узлов являются клетками, имеющими богатый мембранный аппарат, выраженную фагоцитарную активность и определенные возможности активации в некоторых патологических состояниях организма при угнетении остальных звеньев СМФ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Поляковский А. А., Тутельян В. А. Лизосомы. 382. М., 1976.
2. Хэм А., Кормак Д. Гистология, 2, 128, 1983.
3. Фрейдлин А. Система мононуклеарных фагоцитов. М., 1984.
4. Rhodes J., Oliver S. 40, 3, 467—472, 1980.

Получено 5 IX 1989 г.

ВЫЗВАННЫЕ РЕАКЦИИ НЕЙРОНОВ ТЕМЕННОЙ АССОЦИАТИВНОЙ КОРЫ НА ГИПОТАЛАМИЧЕСКИЕ, КОРТИКАЛЬНЫЕ И СОМЕСТЕТИЧЕСКИЕ СТИМУЛЫ

Э. Г. АСТВАЦАТРИН

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

Показаны послонное распределение и свойства каллозальных, кортико-гипоталамических и других нейронов коры средней и передней супрасильвиевой извилины, особенности их импульсных реакций на гипоталамические, транскаллозальные и соматосенсорные послылки импульсов.

Արդեն և աղբն ասպրամիդիան դարձրի կեղևով քայք և արված բրդամարմնա-
յին, կեղևանթառնամբային և այլ բնական շերտավոր բույսեր և հաս-
կությունները, նրանց իմպուլսային և ակտիվների տոնանկատակությունները
կեթառնամբային, անդրբրտային և մարմնագրայական զրգրմաններն:

It has been shown laminar distribution and properties of callosal, cortico-hypothalamic and other neurones of middle and anterior suprasylvian cortex, peculiarities of impulsive reactions, evoked by hypothalamic, transcallosal and somesthetic inputs.

Кора теменная—гипоталамус—нейрон.

Функциональная организация связей гипоталамуса с различными нейронами теменной ассоциативной коры не изучена.

В настоящей работе мы исследовали послонное распределение и импульсные реакции отдельных, в том числе идентифицированных ан-тидромным возбуждением, нейронов коры супрасильвиевой извилины на гипоталамические, транскаллозальные и соматосенсорные послылки импульсов.

Материал и методика. Эксперименты проведены на взрослых кошках, анестезированных внутривенным введением хлоралозы (30—35 мг/кг) и обезбоженных внутримышечным введением дитилина. В эсти экспериментов животных анестезировали последовательным введением хлоралозы (30—40 мг/кг) и этанола (2—3 мл/кг).

Правый заднеинтеральный гипоталамус раздражали монополярно, изолированным, на исклочение кончика, стальным электродом с диаметром кончика около 20 мкм. Анодом служила металлическая пластинка с поверхностью приблизительно 1 см², закреплявшаяся в мышцах затылочной области головы. Раздражение осуществляли прямоугольными импульсами (0,1—0,3 мс, 3—10 в) через радиочастотный выход стимулятора. Использовали преимущественно лачинное раздражение (2—4 импульса с частотой 200—500 с). Местоположение кончика электрода после гистологического контроля соответствовало F—8,5—10, 1—2—3, V—3—1 (!). Переднюю часть средней и заднюю часть передней супрасильвиевой извилины коры левого полушария раздражали биполярно (5—30 в, 0,1—0,3 мс) серебряными шариковыми электродами с межполюсным расстоянием 3—4 мм для анти- и ортодромного возбуждения нейронов томотонических областей коры правого полушария. Электрошоковое раздражение конечностей осуществляли биполярными стальными пальцевыми электродами, которые вставляли в центральные подушечки передних и задних конечностей.

Сокращения: ЛП—латентный период

Внеклеточное отведение импульсной активности нейронов производили стеклянными микроэлектродами: (диаметр кончика 1–2 мкм), запечатанными 2 М цитратом калия.

Фоторегистрацию импульсной активности проводили в режиме строчной записи обычно при 5–10 последовательных предъявлениях стимулов, следовавших с частотой 0,25/с.

Вызванные реакции относили к антидромным, если рефрактерный период их составлял меньше 2 мс [5] (рис. 3–1,2).

При анализе данных регистрации, полученных глубже 1,9 мм от поверхности коры, мы рассматривали.

Результаты и обсуждение. Сравнительное изучение распределения вызванных импульсных реакций по поперечнику теменной ассоциативной коры показало, что наиболее широкое распространение имеют нейроны, реагирующие на транскаллозальные посылки импульсов. Они регистрировались во всех слоях коры (рис. 1, Б). На гипоталамические и соматотетические стимулы — в слоях II–VI (рис. 1, А, В). Особенно

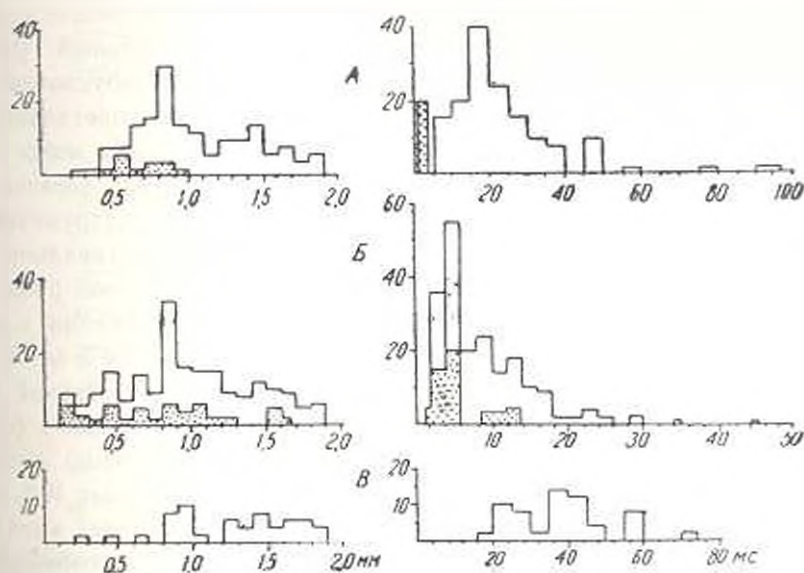


Рис. 1. Гистограммы вертикального распределения нейронов в коре супрасильвиевой извилины (слева) и латентных периодов их вызванных импульсных реакций (справа) при раздражении заднелатерального гипоталамуса (А, $n=172$), коры противоположного полушария (Б, $n=205$) и передней контралатеральной конечности (В, $n=66$). По оси ординат — число нейронов, по оси абсцисс — глубина залегания нейрона в мм от поверхности коры (левые гистограммы) и латентные периоды в мс (правые гистограммы). Сплошным черным выделены гистограммы нейронов с антидромными реакциями.

бедно в поверхностных слоях представлены соматосенсорные нейроны. Пик гистограмм вертикального распределения нейронов приходится на глубину 0,8–0,9 мм (слой IV). Однако на гистограмме соматосенсорных нейронов он выражен намного слабее. Сравнение распределения нейронов с антидромными ответами выявляет большую вертикальную протяженность залегания каллозальных нейронов (слои I–VI) относительно кортикогипоталамических (слои II–V). Средний МП антидром-

ных ответов каллозальных нейронов ($M-m$)— $4,6 \pm 0,5$ мс (от $1,6 \pm 0,05$ до $13,7 \pm 0,1$ мс), кортикогипоталамических— $2,2 \pm 0,25$ мс (от $0,8 \pm 0,05$ до $3,6 \pm 0,005$ мс). На гистограмме распределения ЛП антидромных ответов каллозальных нейронов, в отличие от кортикогипоталамических, имеются две подгруппы ответов со средним ЛП— $3,7 \pm 0,25$ мс ($1,6 \pm 0,05$ — $5,9 \pm 0,05$ мс) и $11,3 \pm 0,1$ мс ($8,5 \pm 0,3$ — $13,7 \pm 0,1$ мс).

Согласно измерениям [4], расстояние между супратентальными извилинами обоих полушарий составляет 20 мм. Примерно таким же является путь проведения гипоталамических импульсов в кору. С учетом величины ЛП расчетная средняя скорость аксонного проведения каллозальных нейронов приблизительно равна $7,5 \pm 1,0$ м/с ($1,9 \pm 0,2$ — $16,3 \pm 0,8$ м/с). Она существенно ниже скорости аксонного проведения кортикогипоталамических нейронов, равной $18,9 \pm 1,9$ м/с ($7,2 \pm 0,1$ — $34 \pm 0,7$ м/с).

Средние ЛП транссинаптических реакций нейронов на раздражение коры, гипоталамуса и передней контралатеральной конечности составили $9,9 \pm 0,7$, $24,5 \pm 1,4$, $37,5 \pm 2,3$ мс соответственно. Большой разброс значений ЛП транссинаптических реакций может быть обусловлен различными по своей сложности путями проведения кортикопестальной импульсации. Отсутствие четких критериев идентификации моно- и полисинаптических реакций при внеклеточной регистрации, возможность отведения антидромных транссинаптических реакций затрудняют соответствующий анализ. Для регистрации гипоталамокортикальных вызванных реакции мы применяли преимущественно пачечное раздражение и при этом ни не повторяли данную частоту раздражения, т. е. абсолютный рефрактерный период нейронов составлял более 5 мс. Поэтому вызванные реакции мы дифференцировали по относительной величине флуктуаций ЛП. Если величину среднего квадратического (σ) выразить в процентах от средней величины ЛП (M), то можно выделить подгруппу из 14 (9,2 %) нейронов, у которых σ не превышает 10% от M . Поскольку данная величина сравнима с таковой некоторых антидромных ответов, то, возможно, что эта подгруппа нейронов возбуждалась моносинаптически. Наличие прямых связей латерального гипоталамуса с теменной ассоциативной корой подтверждается морфологическими исследованиями с применением пероксидазы хрена на конке [3] и обезьяне [2], однако их доля, по нашим данным, невелика. Средний ЛП гипоталамокортикальных моносинаптических реакций составляет $22,5 \pm 2,8$ мс ($5,8 \pm 0,2$ — $35,5 \pm 1,1$ мс). Сравнение с ЛП антидромных гипоталамокортикальных реакций показывает, что скорость проведения гипоталамических импульсов в кору на порядок ниже скорости проведения кортикофугальных импульсов в гипоталамус и равна $1,5 \pm 0,3$ м/с ($0,8 \pm 0,1$ — $3,9 \pm 0,1$ м/с). Таким образом, сопоставление скоростей проведения трех типов идентифицированных нейронов показывает, что наиболее быстрыми из них являются кортикогипоталамические, а самыми медленными—гипоталамокортикальные.

На рис. 2 приведены вызванные реакции одного и того же нейрона на разные стимулы. Нейрон отвечал транссинаптически на раздражение гипоталамуса, коры противоположного полушария, конечностей

(эффективнее—на раздражение контралатеральных). Следует отметить, что в наших экспериментах нейроны за редкими исключениями, реагировали, по крайней мере, на раздражение двух конечностей и по своим сенсорным свойствам были аналогичны m-нейронам с большими рецептивными полями по классификации Тоу и др. [7].

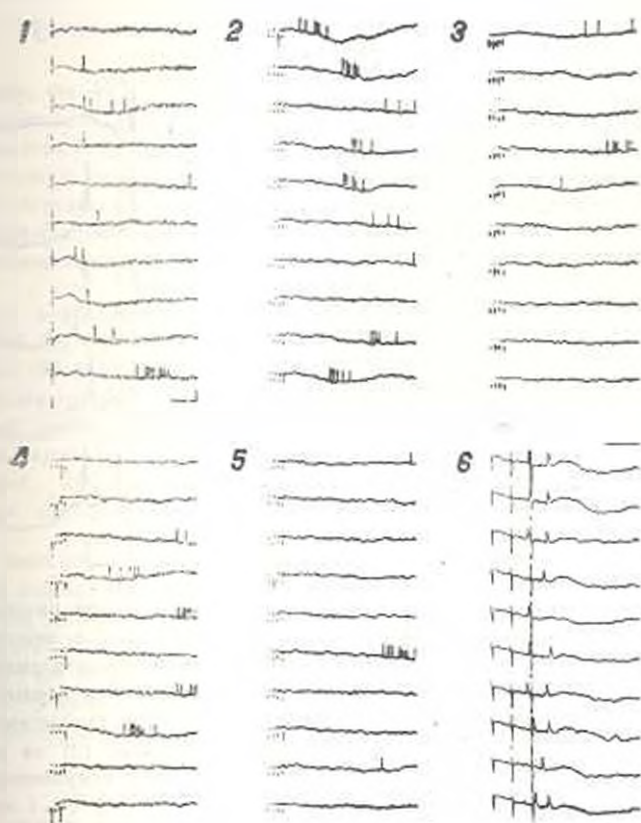


Рис. 2. Вызванные импульсные реакции нейрона коры на раздражение задислатерального гипоталамуса (1), передней контралатеральной (2), передней ипсилатеральной (3), задней контралатеральной (4), задней ипсилатеральной (5) конечностей и коры противоположного полушария (6). Калибровка—1 мв. 30 мс (для 6—10 мс).

Идентифицированные каллозальные нейроны (за исключением одного) не реагировали ни на электрокожные, ни на гипоталамические стимулы. Это, возможно, обусловлено тем, что рецептивные поля соматосенсорных и зрительных нейронов, имеющих отношение к мозолистому телу, располагаются вблизи средней линии тела и вертикального меридиана соответственно, что свидетельствует об участии мозолистого тела в объединении зрительных и соматосенсорных полуполей [5]. Этим объясняется тот факт, что соматосенсорные нейроны, идентифицированные нами раздражением центральных подушечек лап, т. е. наиболее удаленных от средней линии участков тела, не являются каллозальными.

В отличие от каллозальных, другие нейроны, в том числе нейроны-реципиенты каллозальных импульсов и кортикогипоталамические, могут возбуждаться гипоталамическими и соматотетическими стимулами. Кроме того, кортикогипоталамические нейроны могут функционировать в качестве нейронов-реципиентов каллозальных импульсов. На рис. 3 по-

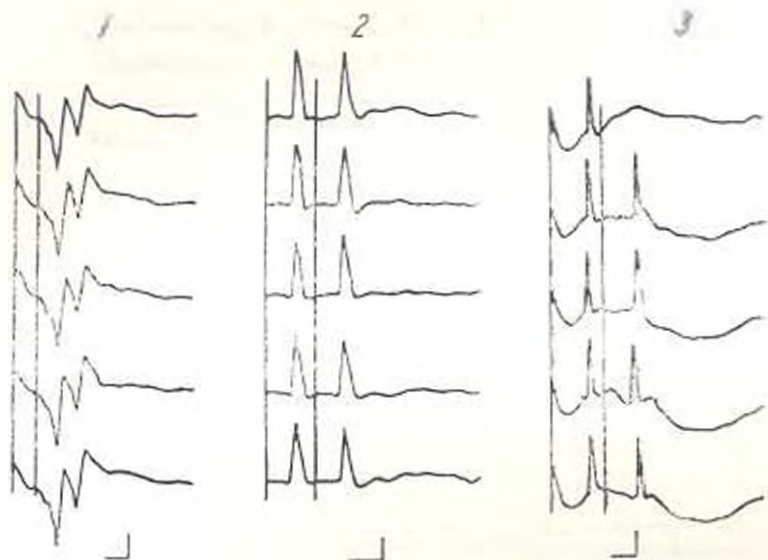


Рис. 3. 1—антидромный ответ каллозального нейрона при раздражении коры противоположного полушария парными стимулами с межстимульным интервалом 1 мс. 2—антидромный ответ кортико-гипоталамического нейрона при раздражении задифлатерального гипоталамуса парными стимулами с межстимульным интервалом 1,5 мс. 3—моносинаптический ответ идентифицированного кортикогипоталамического нейрона (2) на раздражение коры противоположного полушария парными стимулами с межстимульным интервалом 2,5 мс. Калибровка—0,5 мВ, 1 мс.

казано, что один и тот же нейрон реагировал антидромно на раздражение гипоталамуса и моносинаптически на раздражение коры противоположного полушария. Следовательно, данный нейрон является кортикогипоталамическим и в то же время нейроном-реципиентом для каллозальных импульсов. Таким образом, каллозальные импульсы способны быстро включать гипоталамические механизмы вегетативных компонентов поведенческих реакций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jasper H., Almone—Marson C. A stereotaxic Atlas of the Cat. Ottawa, 1954.
2. Kleitv J., Kuypers H. G. J. M. Science, 187, 4177, 660—662, 1975.
3. Kitahama K., Sakai K., Togo H. et al. Brain Res., 321, 1, 155—159, 1981.
4. Latimer C. N. Neurophysiol., 24, 1, 66—79, 1961.
5. Lepore F., Pfitz M. et al. Union med. Can. (Bull.), 114, 12, 1012—1016, 1985.
6. Swadlow H. A. Epilepsy and Corpus callosum. Proc. 1st. Baltimore Conf., New York, London, 55—71, 1985.
7. Town A. L., Whitehorn D., Nyquist J. K. Exp. Neurol., 20, 4, 197—521, 1968.

Поступило 21.IX 1988 г.

ОТВЕТЫ НЕЙРОНОВ ЗАДНЕЙ СУПРАСИЛЬВНЕВОЙ ОБЛАСТИ
КОРЫ КОШКИ НА ЗРИТЕЛЬНЫЕ РАЗДРАЖЕНИЯ

М. Б. АФРИКЯН, Р. Л. ДЖАВАДЯН, Т. М. МАРКАРЯН, А. А. АВЕТИСЯН

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР, Ереван

Показано, что 49% изученных нейронов ЗСО реагируют ON-OFF физическим ответом на стационарные зрительные стимулы. На движущиеся зрительные стимулы нейроны ЗСО реагируют интенсивно, проявляя при этом определенную степень специфичности. В этой области обнаружены как дирекционно-селективные, так и дирекционно-чувствительные нейроны, а также темно-чувствительные клетки. Отсюда сделан вывод о важном функциональном значении ЗСО в анализе зрительной сенсорной информации.

Քայքայված է արվել, որ ՀՍԾ-ի ուսումնասիրված նեյրոնների մեծամասնությունը (49 %) ON—OFF ֆազիկ պատասխաններ առաջիկա տեսողական զգր-
գրվելիս: ՀՍԾ-ի նեյրոնները ինտենսիվ պատասխանում են եւս շարժվող տեսողական զգրվելներին՝ ցուցաբերելով մասնագիտացման որոշակի աստիճան: Այս շրջանում հայտնաբերվել են ինչպես զիրեկցիոն-սերեկցիվ, այնպես էլ զիրեկցիոն-զգալուն նեյրոններ, ինչպես եւս մոթ-զգալուն բջիշներ: Այստեղից հետևություն է արվում ՀՍԾ-ի ֆունկցիոնալ կարևոր նշանակության մասին կեղևում տեսողական սենսոր ինֆորմացիայի մշակման պրոցեսներում:

It has been shown that the majority (49 per cent) of investigated neurones of PSA respond by ON—OFF phasic responses to the stationary visual stimuli. The neurones of PSA react vigorously to the moving visual stimuli, during that displaying a definite degree of specificity. In this area the neurones are found with direction-selective, direction-sensitive and dark-sensitive properties. Thus, a conclusion is made on the important functional significance of PSA in analysis of visual sensory information.

ЗСО коры—нейрон—зрительный стимул—рецептивное поле

Проблема исследования функциональных особенностей нейронов различных экстрастриарных зрительно-чувствительных зон коры привлекает в последнее время все большее внимание. Опыты показывают, что нейроны экстрагенкулатных зрительных областей коры [1—4, 11, 12] отличаются от таковых проекционной коры [6, 7] как строением своих РП, так и паттернами ответов на движущиеся стимулы. Это указывает на определенную функциональную дифференциацию относительно центральной обработки зрительного сенсорного сигнала топографически разными областями коры мозга. С этой точки зрения особый интерес представляет исследование функциональных характеристик нейронов ЗСО. В литературе до сих пор отсутствуют данные об особенностях зрительно-чувствительных нейронов ЗСО.

В настоящей работе представлены результаты изучения особенностей ответов нейронов ЗСО на различного типа зрительные раздражения.

Сокращения: ЗСО—задняя супрасильвиевая область; РП—рецептивное поле; ПСТГ—постстимульная гистограмма; ЛСО—латеральная супрасильвиевая область; ЗЛ—дорсальная латеральная супрасильвиевая область

Материал и методика. Опыты проведены на 10 кошках. Под эфирным наркозом производили трахеотомию, фиксацию животного в стереотаксическом аппарате и приоткрывали сечение ствола мозга [13]. Затем животное переводили на искусственное дыхание (19/мин, объем вдоха из расчета 20 мл/кг) и внутримышечно вводили дитилин (7 мг/кг веса кошки). Над задней супрасильвеной пазухой делали полукруглое окно, которое заливали 3%-ым раствором агара. Функциональное состояние животного контролировали по показателям ЭЭГ, ЭКГ и кровяного давления (90—100 мм рт. ст.). Температуру тела животного поддерживали в пределах 37,5—38°.

Электрическую активность одиночных нейронов отводили при помощи электрофизических микроэлектродов [5]. ПСГГ ответов нейронов строили на 16-канальном усилителе раздражения с шириной бица 4 мс.

Зрительные стимулы проецировали на экран периметра, помещенный на расстоянии 1 м от подальных точек глаза. Светлыми зрительными стимулами служили пятна и полосы освещенности 7—8 лк на фоне 2 лк, темными стимулами — черные и прямоугольные тени освещенности 2 лк на фоне 7—8 лк. Таким образом контраст стимулов оставался постоянным на протяжении всего эксперимента. Соотношение яркости темных и светлых стимулов составляла 40%.

В конце каждого эксперимента производили коагуляцию точкой месторасположения электрода, после чего мозг перфузировали 10%-ым раствором формалина. Показателю кончика электрода проверяли гистологически на срезах толщиной 30—40 мкм.

Результаты и обсуждение. Нейроны ЗСО реагируют достаточно четко и интенсивно на зрительные раздражения, тем не менее ответы эти оказались менее стабильными по сравнению с другими зрительнорасположенными областями коры. Ухудшение общего функционального состояния животного незамедлительно отражалось на выходящей активности клетки в виде ослабления реакции, а иногда и изменения характера ответа.

Были изучены ответы 104 нейронов ЗСО на стационарные и движущиеся зрительные стимулы. Большинство нейронов проявляли четкий, интенсивный ответ на предъявление стационарного стимула. Из 80 нейронов 39 отвечали фазическим ON-OFF типом ответа на стационарно мерцающее светлое пятно, расположенное в центре РП нейрона. Ответ одного из таких нейронов представлен на рис. 1 А, из которого видно, что включение и выключение светлого пятна вызывают интенсивные разряды клетки, о чем свидетельствуют пики ответов на ПСГГ. Наряду с этим, были обнаружены нейроны с хорошо выраженными тоническими ответами на предъявление стационарного стимула (рис. 1 В, Г). Необходимо отметить, что этим ЗСО отличается от других корковых зрительных зон, здесь число тонических нейронов относительно больше. Из исследованных 104 нейронов 20 имели тонический тип ответа на стационарно мерцающее светлое пятно. Причем число ON-тонических ответов превалировало (11 нейронов) и сравнительно малое число нейронов (9 из 20) имели OFF-тонический ответ. Рис. 1 В наглядно иллюстрирует ответы OFF-тонического нейрона на стационарно мерцающее пятно (5°), расположенное в центре его РП. На том же рисунке представлены ответы ON-тонического нейрона (рис. 1 Г). OFF-фазические ответы были зарегистрированы у 20 нейронов, ON-фазические — у одного нейрона.

Большинство (58%) клеток проявляло недирекционный ответ на движущиеся через РП круг или полосу, независимо от контраста сти-

мула. Эти нейроны, как правило, отвечали равным количеством разрядов на два противоположных направления движения. Рис. 2 А, Б пред-

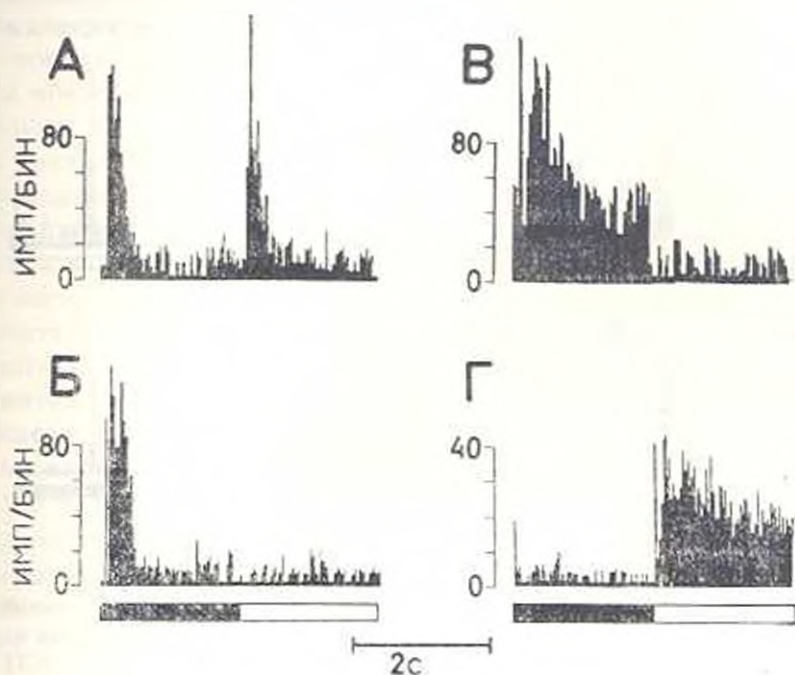


Рис. 1. Ответы четырех разных нейронов ЗСО (А—Г) на стационарно мерцающее пятно (5°), расположенное в центре РП. По оси абсцисс—время раздражения (2 с), по оси ординат—количество импульсов в бине. Ширина бина 4 мс. Светлыми полосками отмечено включение света, темными—выключение.

ставляет ответы недирекционного нейрона на движение темного (рис. 2 А) и светлого (рис. 2 Б) стимулов через РП. Как видно из рисунка, ответы симметричны на оба контраста стимула. Относительно малое число нейронов (5%) проявляло дирекционно-чувствительный тип ответа. Эти нейроны проявляли дирекционные характеристики в ответ на движение одного из контрастов стимула—темный или светлый. Чисто дирекционно-селективными оказались 8 нейронов, причем все они находились в зоне 21а, 21б ЗСО. Ответы одного из таких нейронов приведены на рис. 2, где НСТГ иллюстрируют ответы на движение темного (рис. 2 Г) и светлого (рис. 2 Д) пятен вдоль горизонтальной оси РП. Это дирекционно-селективный ответ с предпочтительным направлением справа-налево. На том же рисунке представлены ответы этих двух нейронов на стационарно мерцающее пятно, расположенное в центре РП (рис. 2 В, Е). У обоих нейронов, как недирекционного, так и дирекционно-селективного, ON/OFF фазические ответы. Наглядно видна слабая реакция дирекционного нейрона на стационарный стимул (рис. 2 Е) по сравнению с ответом недирекционного нейрона (рис. 2 В). В этой экстрастриарной области оказались нейроны с большой чувствительностью к движению темных пятен и почти не реагирующие на движение светлых пятен. Ранее такие нейроны были обнаружены нами в ЛСО [3]. На

рис. 3 представлены ПСТГ ответов двух таких нейронов. Как видно из рисунка, нейрон интенсивно отвечает на движение темного пятна четко выраженным дирекционным ответом (рис. 3 А). Этот же нейрон проявляет очень слабую реакцию, когда через РП движется светлый сти-

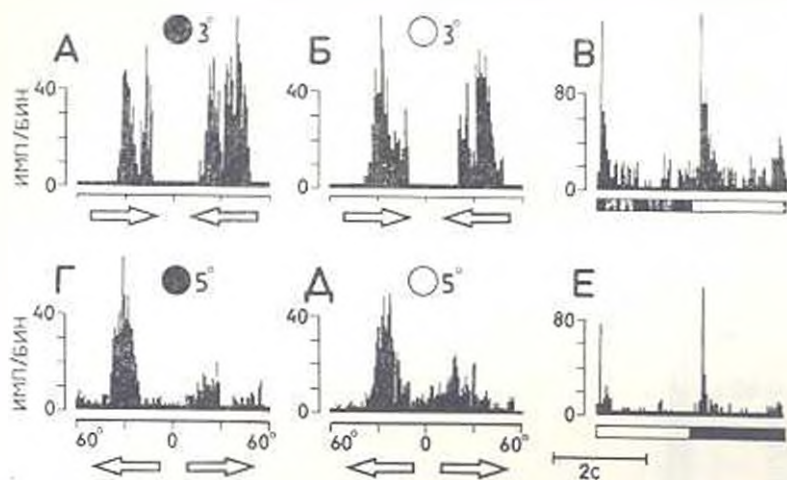


Рис. 2. Ответы двух нейронов на движущиеся пятна и стационарно мерцающее пятно. А—Б—ПСТГ ответов недирекционного нейрона на темный (А) и светлый (Б) движущиеся стимулы, В—ответы того же нейрона на стационарно мерцающее пятно, расположенное в центре РП. Г—Д—ПСТГ ответов дирекционно-селективного нейрона на темный и светлый движущиеся стимулы. Е—ПСТГ ответов того же нейрона на стационарно мерцающее пятно, расположенное в центре РП. Стрелками указано направление движения стимулов по РП. Черным кружком обозначено темное пятно, светлым—светлое. Остальные обозначения те же что и на рис. 1.

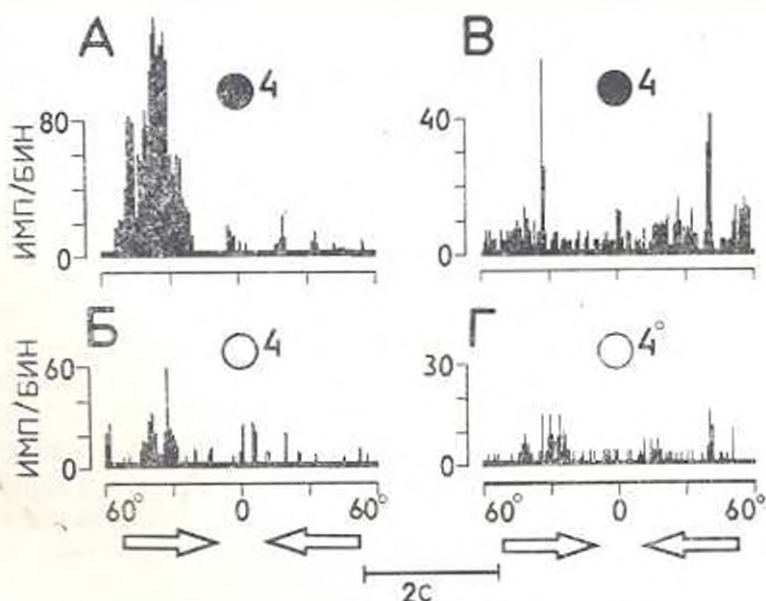


Рис. 3. Ответы двух темно-чувствительных нейронов. А—Б—ответы одного нейрона на темный (А) и светлый (Б) движущиеся стимулы. В—Г—ПСТГ ответов другого нейрона на темный (В) и светлый (Г) движущиеся стимулы.

мул (рис. 3 Б). Второй нейрон, ответы которого представлены на этом же рисунке, является недирекционным (рис. 3 В, Г), однако также проявляет высокую чувствительность к движению темного пятна по сравнению со светлым.

Таким образом, результаты опытов указывают на то, что ЗСО является областью коры, вовлеченной в процессы центрального анализа зрительной сенсорной информации. В литературе до сих пор недостаточно данных относительно организации РП нейронов ЗСО в целом, куда, по нашим исследованиям, входят поля 21а, 21б, 20а, 20б и ДЛС. По данным ряда авторов [8, 10], характерной особенностью этих нейронов поля 21а является наличие ориентационной чувствительности и отсутствие восприятия направления движения. Применение теста реверсии контраста стимула (темный, светлый стимулы) позволило нам точно определить процент дирекционно-селективных нейронов и, кроме того, обнаружить новый тип нейронов, проявляющих большую чувствительность к движению темных объектов (темно-чувствительные нейроны). В целом представленные результаты позволяют сделать предположение о том, что ЗСО по функциональному значению в анализе зрительной информации ближе к ЛСО [3, 4] и несколько отличается от проекционной зрительной коры [6, 7]. Возможно, ЗСО, так же как ЛСО, участвует главным образом в процессах анализа движущихся объектов в поле зрения животного.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dow B. M., Dubner F. J. *Neurophysiol.*, **32**, 773—784, 1969.
2. Dow B. M., Dubner F. J. *Neurophysiol.*, **34**, 47—55, 1971.
3. Harutunian—Kozak B. A., Davudian R. L., Melikian A. P. *Vision Res.*, **24**, 189—185, 1984.
4. Harutunian—Kozak B. A., Davudian R. L., Afrikian M. M., Khachatryan S. A. *Acta Neurobiol. Exp.*, **45**, 77—90, 1985.
5. Hubel D. H. *Science*, **125**, 749—750, 1957.
6. Hubel D. H., Wiesel T. N. *J. Physiol.*, **160**, 105—154, 1962.
7. Hubel D. H., Wiesel T. N. *J. Neurophysiol.*, **28**, 229—289, 1965.
8. Mizobe K., Itoi M., Kishara T., Toyama K. *Brain Res.*, **438**, 307—310, 1988.
9. Robertson J. R. T., Mayers K. S., Teyler T. F., Bettinger L. A., Birch H., Davids J. L., Phillips D. S., Thompson R. F. *J. Neurophysiol.*, **38**, 780—794, 1975.
10. Shevelev I. A., Manasyan K. A. *Vision Res.*, **24**, 1951—1958, 1984.
11. Spear P. D., Baumann T. P. *J. Neurophysiol.*, **34**, 1403—1420, 1975.
12. Turtliff K. *Acta Neurobiol. Exp.*, **35**, 189—208, 1975.
13. Zernicki B. *Arch. Ital. Biol.*, **124**, 133—196, 1986.

Поступило 3.11 1988 г.

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО РАЗДРАЖЕНИЯ ЦЕНТРАЛЬНОГО ЯДРА АМИГДАЛЯРНОГО КОМПЛЕКСА НА СВЕРТЫВАНИЕ КРОВИ

М. В. ПАДЛЯН, И. Б. ОВСЕЯН, С. В. АМИРЯН

Ереванский государственный университет, кафедра физиологии человека и животных

Приводятся данные о гиперкоагуляционных изменениях биохимических и тромбоэластографических показателей свертывания крови при единовременном и дробном электрическом раздражении центрального ядра амигдаллярного комплекса. Делается попытка объяснения этих изменений его регулирующим влиянием через высшие вегетативные нервные центры (гипоталамус, синее пятно).

Բերված են տվյալներ արյան մակարդիչության փոփոխությունների կենսաքիմիական և տրոմբոէլաստոգրաֆիկ ցուցանիշների վրա ամիգդալյար կոմպլեքսի կենտրոնական կորիզի միանվագ և կտրորակալի կենտրոնական զրդման ազդեցության մասին: Փորձ է արված այդ փոփոխությունները բացատրել նրա կարգավորիչ ազդեցությամբ՝ բարձրագույն վեգետատիվ կարգային կենտրոնների (հիպոթալամուս, կապուլյուր ռիմ) միջոցով:

The hypercoagulation changes of biochemical and thromboelastographic exponents of blood coagulation by extraordinary and division electric stimulation of amygdala complex central nucleus are given. It is intended to explain these changes with regulating influence of this nucleus by means of higher vegetative nervous centres (hypothalamus, blue mark).

Лимбическая система—амигдаллярный комплекс—система свертывания крови—гиперкоагуляция

Важную роль в процессе развития живых организмов и приспособления их к изменениям внешней среды играют защитные механизмы, к числу которых относится способность крови свертываться.

Система свертывания крови, как и любая другая физиологическая система организма, может нормально функционировать лишь в условиях регулирующего влияния центральной нервной системы. Вопросы центральной регуляции свертываемости крови посвящен ряд работ [1, 5, 6, 9—11], в которых большая роль отводится высшим вегетативным центрам (гипоталамусу, синему пятну). В последние годы возрос интерес к лимбической системе (в частности, к амигдаллярному комплексу), которая, будучи многочисленными нервными путями связана как с высшими вегетативными центрами, так и с другими образованиями центральной нервной системы, очевидно, оказывает непосредственное регулирующее влияние на систему свертывания крови.

Материал и методика. Опыты проводили на обезьянах крошечных пород 2—3 кг. Наркозированное нембуталом (40 мг на 1 кг) животное фиксировали в стереотаксическом приборе. Электроды вводили в центральное ядро амигдалы (АС) по координатам атласа Фифковой и Маршала.

Раздражение производили электрическим током с частотой 5 Гц, напряжением 10—15 В (в течение 30 с и дробно в течение 1 мин по 15 с, с перерывами в 10 с).

Для проведения тромбоэластографических исследований из левого желудочка сердца фиксированного животного брали 0,4 мл крови, которую помещали в кювету тромбоэластографа для получения кривой свертывания. Такие же пробы крови брали через 5, 45, 90 и 120 мин после раздражения АС-ядра.

При изучении биохимических показателей плазмы крови брали 4 мл оксалатной крови (в соотношении 9:1). После центрифугирования плазму отсасывали и определяли время рекальцификации по Бенсгерфу и Року [12], протромбиновое время—по Квику [14], VIII плазменного фактора—по Бунамо [13], свободного гепарина—по Сириан [7], концентрации фибриногена—сухо-воздушным методом, а также фибринолитическую активность. Такие же определения проводили в плазме крови, взятой на 5, 45, 90 и 120 мин после раздражения АС-ядра.

Результаты и обсуждение. Время рекальцификации, отражающее общую картину процесса свертывания крови, на 5 минуте после единовременного раздражения АС-ядра уменьшается до 92 с (фоновое—значение 105 с). Эти изменения сохраняются на 45 и 90 мин после раздражения (рис. 1а).

Изменяется также концентрация фибриногена, достигая максимума на 45 мин и возвращаясь к исходному значению на 120 мин после раздражения (рис. 1а).

Концентрация протромбина на 5 мин после раздражения возрастает на 10%. Она остается повышенной на 45 и 90 минутах, а к 120 мин возвращается к исходному уровню (рис. 1б).

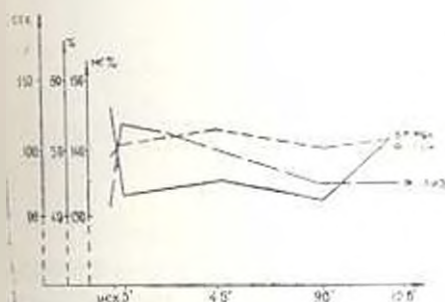


Рис. 1а.

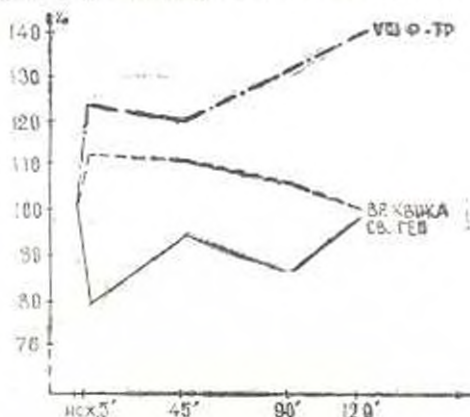


Рис. 1б.

Рис. 1. Изменение биохимических показателей свертывания крови при единовременном электрическом раздражении АС-ядра. а) время рекальцификации, концентрация фибриногена, фибринолитическая активность; б) VIII фактор, концентрация свободного гепарина, протромбиновое время.

На 5 мин после раздражения АС-ядра возрастает также величина VIII плазменного фактора на 23% и продолжает расти (рис. 1б).

Концентрация свободного гепарина, который является одним из важнейших факторов антисвертывания, на 5 мин после раздражения снижается на 21%, к 120 мин она вновь приближается к фоновому значению (рис. 1б).

Как видно на тромбоэластограммах, небольшие изменения кривой свертывания наблюдаются на 15 и 90 мин после раздражения АС-ядра. Так, уменьшается время реакции свертывания крови (R) — от 6,3 до

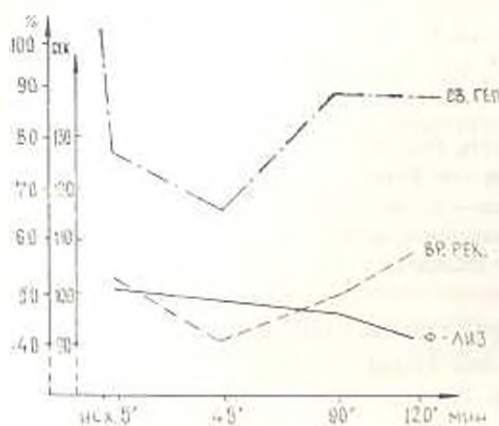


рис. 2а

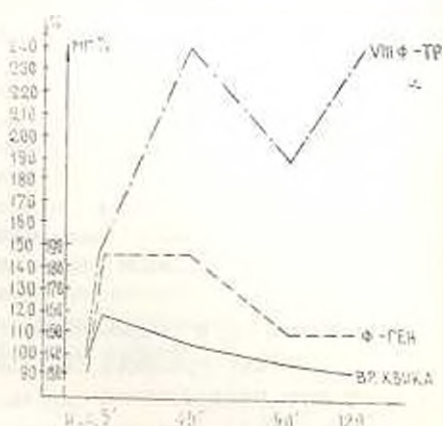


рис. 2б

Рис. 2. Изменение биохимических показателей свертывания крови при дробном электрическом раздражении АС-ядра. а) концентрация свободных гепарина, время рекальцификации, фибринолитическая активность.

б) VIII фактор, концентрация фибриногена, протромбиновое время.

1,1 мин; общее время свертывания (T) — от 22,7 до 17,5 мин; значительно увеличивается максимальная амплитуда (mA) — от 48 до 73 мм. Соответствующим образом изменяются и остальные тромбоэластографические показатели: время коагуляции (K), синереза (S) (рис. 3)

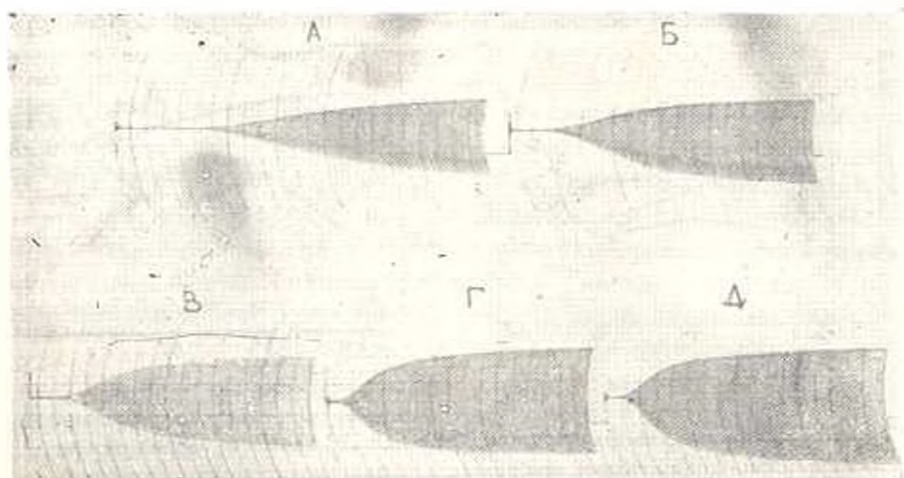


Рис. 3. Изменение тромбоэластографических показателей свертывания крови при одновременном электрическом раздражении АС-ядра; А — фон; Б — 5-я мин после раздражения; В — 45-я мин; Г — 90-я мин; Д — 120-я мин.

Гиперкоагуляционные изменения наблюдаются в процессе свертывания крови также и при дробном раздражении АС-ядра.

На 45 минуте время рекальцификации сокращается на 20 с (рис. 2 а); фибринолитическая активность снижается на 1,4% (рис. 2 а); на

33% снижается содержание свободного гепарина (рис. 2а); на 141% возрастает концентрация VIII плазменного фактора (рис. 2б); на 40% увеличивается количество фибринолина (рис. 2б); на 5 мин на 18% возрастает количество протромбина (рис. 2б).

На рис. 4 показаны изменения тромбоэластографических показателей после дробного электрического раздражения: R на 45 мин уменьшается от 5,2 до 1,9 мм; T изменяется нечетко; заметно увеличивается тА—от 12 до 54 мм.

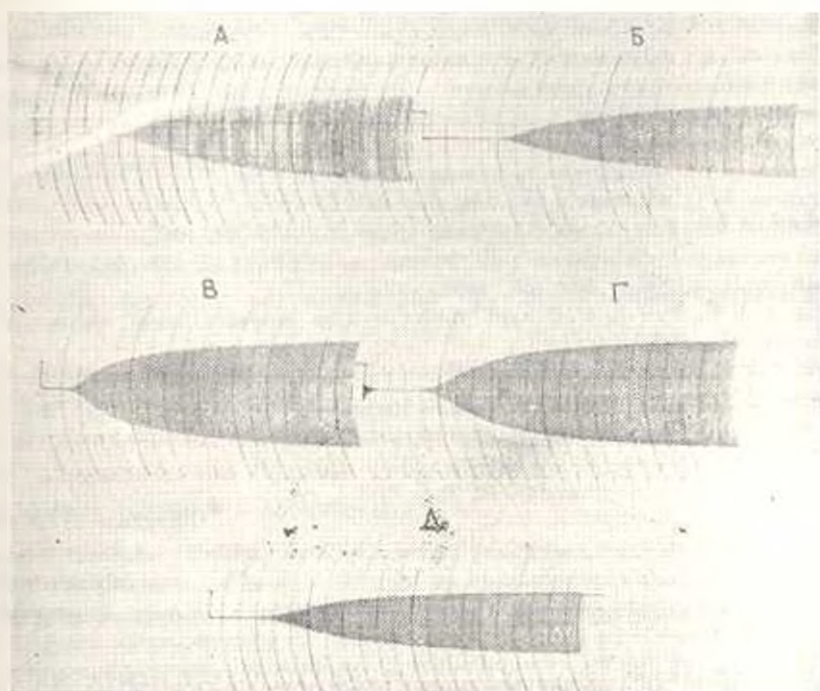


Рис. 4. Изменение тромбоэластографических показателей свертывания крови при дробном раздражении АС-ядра: А—фон; Б—5-я мин после раздражения; В—45-я мин; Г—90-я мин, Д—120-я мин.

Полученные как биохимические, так и тромбоэластографические данные свертываемости крови говорят о наличии выраженных гиперкоагуляционных изменений при электрическом раздражении центрального ядра амигдалы.

Многочисленные исследования показали, что амигдаларный комплекс при помощи афферентных и эфферентных связей сообщается с гипоталамусом, гипофизом и через них—с надпочечниками, а также с спинным пятном, находящимся в продолговатом мозге [2—4]. Исходя из этого, мы можем выявленные гиперкоагуляционные изменения биохимических и тромбоэластографических показателей объяснить участием указанных структур, которые возбуждаются при одновременном и дробном электрическом раздражении центрального ядра амигдаларного комплекса.

Освобождающиеся в высших вегетативных центрах (гипоталамус, спинное пятно) катехоламины способствуют выделению со стороны орга-

пов системы свертывания крови прокоагулянтов, которые и вызывают гиперкоагуляцию. Основанием для данного предположения служат также сведения [8] о повышении двигательной активности животных, расширении зрачка, повышении кровяного давления на электрическое раздражение центрального амигдаларного ядра, что является следствием усиления выделения в организм большого количества адреналина и адреналиноподобных веществ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Биксидович Г. Г. и др. Физиол. ж. СССР, 70, 6, 1984.
2. Бетлер Н. Н., Бусыгина И. И. Физиол. ж. СССР, 63, 2, 1977.
3. Вейсман Ф. П., Диликметс Л. Х. Ж. эволюц. биохимии и физиологии, 11, 5, 480—489, 1966.
4. Казарян Р. М., Гарибян А. А., Казарян А. Г., Гамбарян Л. С. Физиол. ж. СССР, 64, 1, 125—134, 1978.
5. Маркосьян А. А. Физиология свертывания крови. М., 1966.
6. Маркосьян А. А. Нервная регуляция свертывания крови. М., 1960.
7. Сирман Э. Пробл. гематол. и перелив. крови, 2, 6, 38—44, 1957.
8. Солдатовская Т. Н., Лякас Р. Н. Физиол. ж. СССР, 63, 5, 638—647, 1977.
9. Степанян М. А. Канд. дисс., М., 1968.
10. Ченуров А. К. Мат-лы VIII науч. конф. по вопр. возрастн. морф., физиол. и биохимии, М., 1967.
11. Якимян Г. А. Канд. дисс., М., 1963.
12. Bergerhof H., Rode L. Congr. Vitamin—Nutrit. Fermenolog. 6, 1—25, 1954.
13. Вильямс А. Е. Эксперим. (Вашг.), 1, 55, 1956.
14. Kanda T. R. Acid physiology, 33, 1—245, 1951.
15. Gillet A. J. Amer. J. Physiol., 140, 212, 1943.

Поступило 21.11.1989

Биолог. ж. Армения, № 1 (43), 1990

УДК 576.8.094.7—612.111:577.125

ВЛИЯНИЕ ЖИРОВОГО КОМПОНЕНТА РАЦИОНА НА ЖИРНОКИСЛОТЫНЫЙ СОСТАВ КРОВИ БЕЛЫХ КРЫС

Г. А. ЧУХАДЖИАН, И. А. БАКАЛЯН, О. Н. СОЦКИЙ, Г. М. САРКИСОВА,
Л. С. ЗОГРАБЯН, Ш. Л. ШАХБАТЯН, Л. В. СУКИАСЯН

Ереванский государственный медицинский институт

Показано, что длительное применение в рационе белых крыс насыщенных жиров (свиного, курдючного) приводит к накоплению насыщенных жирных кислот в плазме и мембранах эритроцитов, снижению уровня эссенциальной жирной кислоты— $C_{18:2}$. Включение в рацион подсолнечного масла совместно с курдючным не нормализует уровень эссенциальной жирной кислоты— $C_{18:2}$ в липидах крови.

Ցույց է տրված, որ երկար ժամանակ օգտագործվող բուրբոս հագեցած կենդանական ճարպերի (խոզի, դեղիկի) օգտագործումը հանգեցնում է էրիթրոցիտների շերտանների և պլազմայի ճարպում աչ հագեցած ճարպաթթուների կուտակման և էսենցիալ լիպոթթթվի՝ $C_{18:2}$ պակասեցման: Դեղիկի ճարպի հետ համատեղ օրնաօգել կենդանան զնայում լիպոթթթվի $C_{18:2}$ բանակցարյան ճարպերում չի կանոնավորվում:

Сокращения ЖК—жирные кислоты, НЖК—ненасыщенные жирные кислоты, ННЖК—ненасыщенные жирные кислоты.

It was established that prolonged utilization of highly saturated animal fats in ration (sheeps fat, pork fat) brought to the accumulation of unsaturated fatty acids in plasma lipids and red blood cells membranes, to the level of essential linoleic acid — C_{18:2}. The combined feeding with sheeps fat together with sunflower-seed oil did not normalize the level of linoleic acid — C_{18:2} in blood lipids.

Свиной и курдючный жиры — жирные кислоты — мембраны эритроцитов.

Функционирование липидного бислоя мембран во многом обусловлено природой жирных кислот, входящих в состав фосфолипидов. Установлено, что удлинение углеводородной цепи жирных кислот приводит к повышению, а увеличение содержания в них двойных связей — к снижению упаковки фосфолипидов в бислой [5]. Отмеченные сдвиги в липидном бислое сказываются на проницаемости мембран, активности мембраносвязанных ферментов [14].

Известно, что жирнокислотный состав мембранных липидов обусловлен характером липидов пищи [7]. Вот почему и настоящее время алиментарные жиры рассматриваются не только как «топливо», но и как естественные факторы, регулирующие функциональное состояние мембран.

Целью данного исследования явилось изучение характера сдвигов в жирнокислотном спектре липидов плазмы и мембран эритроцитов, а также состояния кислотной резистентности последних у белых крыс, длительно находящихся на рационе с повышенным содержанием насыщенных жиров (свиного и курдючного).

Материал и методика. Опыты проведены на 40 белых беспородных крысах массой 130—150 г, содержащихся в течение 90 дней на изокалорийных рационах. Выбор сроков был обусловлен данными литературы [8]. Животные были разделены на четыре группы. I группа животных служила контролем и находилась на сбалансированном рационе, в котором в качестве источника белка использовались яичный белок и молоко (18% от калорийности рациона), углеводов — картофельный крахмал (52%) и жира — смесь льняда с подсолнечным маслом, взятых в соотношении 1:1 (30%). У животных III группы пищевой жир был представлен смесью курдючного жира с подсолнечным маслом, взятой в том же соотношении (30% от калорийности рациона). Остальные группы (II и IV) содержались на рационах с одинаковым количеством белков (18%), углеводов (32%) и повышенным уровнем жиров (50%): свиного (льняда) — II группа и курдючного — IV группа.

Кровь, полученную путем декаптации животных (под легким эфирным наркозом), стабилизировали 3,8%-ным раствором цитрата натрия. Далее ее фракционировали в рефрижераторной центрифуге К 26 в течение 10 мин при 2000 об/мин. Мембраны эритроцитов выделяли по методу Доляжа с соавт. [9]. Липиды плазмы, мембран эритроцитов, алиментарных жиров экстрагировали по методу Фолча с соавт. [10]. Мытиловые эфиры ЖК получали по методу Штоффеля с соавт. [11]. Состав высших ЖК алиментарных жиров (льняда, курдючного жира), липидов плазмы и эритроцитарных мембран анализировали методом газожидкостной хроматографии на хроматографе «Хром-5» (ЧССР) с пламенно-ионизационным детектором. В качестве жидкой фазы использовали полиэтиленгликольсукцинат, твердой — целлит-545. Газ-носитель — гелий, температура испарителя, колонки и детектора — 250, 185 и 250° соответственно.

Кислотность гемолизата эритроцитов исследовали по методу И. И. Гительсона с соавт. в модификации К. Г. Адамьяна с соавт. [1]. В качестве гемолизата для кислотного гемолиза использовали 15 ммоль трис-HCl буфер с pH 2.2 и нормальным осмотическим давлением.

Результаты и обсуждение. Изучение жирнокислотного состава свиного и курдючного жиров показало, что они не отличаются по набору ЖК, если не считать почти полного отсутствия $C_{14:1}$ ЖК в последнем. Однако по процентному содержанию НЖК и ННЖК исследуемые жиры заметно различаются.

Так, в курдючном жире в отличие от свиного заметно выше доля $C_{14:0}$ и $C_{16:0}$, но ниже $C_{18:1}$, $C_{18:2}$ и $C_{20:4}$. Превалирование в составе курдючного жира НЖК над ННЖК сказывается на величине соотношения $\frac{\text{сумма НЖК}}{\text{сумма ННЖК}}$, которая оказалась в два раза больше, чем в

свином (1,44 против 0,72). Следовательно, сравнительный анализ ЖК составов обоих видов жиров свидетельствует о том, что курдючный по сравнению со свиным характеризуется более выраженной насыщенностью. Исследование ЖК спектра липидов плазмы животных, находящихся в течение 90 дней на рационе, в котором 30 или 50% калорийности пищи обеспечивалось свиным или курдючным жиром (табл. 1), по-

Таблица 1. Жирнокислотный профиль липидов плазмы белых крыс, находящихся в течение 90 дней на высокожировых рационах, %

Жирная кислота	Группы животных			
	I	II	III	IV
$C_{14:0}$	0.30	0.33	0.34	0.14
$C_{15:0}$	0.24	0.39	0.40	0.50
$C_{16:0}$	12.92	19.43	28.59	23.08
$C_{16:1}$	1.16	0.60	1.20	0.93
$C_{17:0}$	0.32	0.26	0.55	0.67
$C_{17:1}$	0.24	1.12	—	0.44
$C_{18:0}$	17.01	19.14	16.80	17.14
$C_{18:1}$	23.95	24.26	22.20	37.14
$C_{18:2}$	28.70	11.49	11.60	9.85
$C_{20:3}$	—	1.58	—	—
$C_{20:4}$	14.60	21.40	17.71	10.63
НЖК	30.79	39.85	47.13	41.43
ННЖК	68.65	60.55	52.81	59.02
$K = \frac{\text{сумма НЖК}}{\text{сумма ННЖК}}$	0.45	0.66	0.89	0.70

казало, что у животных I группы он представлен десятью кислотами, составляющими 90—95% ЖК липидов плазмы млекопитающих: пятью насыщенного ряда ($C_{14:0}$, $C_{16:0}$, $C_{16:1}$, $C_{17:0}$, $C_{18:0}$) и пятью — ненасыщенного $C_{16:2}$, $C_{17:1}$, $C_{18:1}$, $C_{18:2}$, $C_{20:4}$. Основными НЖК крыс I группы являются $C_{16:0}$ и $C_{18:0}$, на долю которых приходится около 30% от суммы всех ЖК. ННЖК в основном представлены $C_{18:1}$, $C_{18:2}$, $C_{20:4}$.

Определение суммы НЖК и ННЖК, величины их отношения в контрольной группе животных показывает, что в плазме преобладают липиды, эстерифицированные ННЖК.

Потребление с пищей повышенного количества свиного жира (II группа) заметно сказывается на ЖК спектре плазмы (табл. I). Так, относительное содержание ЖК $C_{16:0}$, $C_{17:0}$, $C_{18:0}$ и $C_{20:0}$ в липидной фракции плазмы увеличено, а $C_{16:2}$ существенно снижено. Если повышение уровня $C_{16:0}$, $C_{16:2}$ а также $C_{18:0}$ связано с характером алиментарного жира, то $C_{20:0}$, по всей вероятности, объясняется усилением ее синтеза из своего предшественника $C_{18:2}$ за счет активации процессов десатурации и элонгации углеродной цепи. Возможно, этим и обусловлено появление заметного количества эйкозатриеновой кислоты ($C_{20:3}$) по сравнению с контрольной группой животных [6].

Отмеченные сдвиги отражаются на величине отношения $\frac{\text{сумма НЖК}}{\text{сумма ННЖК}}$, которая возрастает на 46,6%, свидетельствуя об увеличении насыщенности липидов плазмы (табл. I).

Спектры ЖК липидов плазмы животных III и IV групп, представленные в той же таблице, свидетельствуют о том, что включение курдючного жира в пищевой рацион крыс заметно сказывается на ЖК составе липидов плазмы. Так, у животных III группы по сравнению с контрольной суммарное содержание НЖК возрастает на 53%, в то время как ННЖК падает на 23%, причем в основном за счет эссенциальной $C_{18:2}$ кислоты. Следует отметить, что в рационе данной группы животных, как и в контрольной, содержалось аналогичное количество растительного масла. Это свидетельствует о том, что насыщенные жиры пищи влияют не только на обмен ЖК в тканях печени и кишечника, но и на процессы всасывания в кишечнике продуктов деградации растительных масел, усугубляя «относительный» дефицит полиненасыщенных ЖК в составе алиментарного жира.

Подтверждением роли диеты в процессах всасывания ЖК в кишечнике являются данные Томисона с соавт. [12]. Ими было показано, что при переходе с диеты с повышенным содержанием НЖК или ННЖК на стандартную развиваются ранние и долговременные изменения транспортных функций кишечника.

Обеспечение 50%-ной калорийности рациона курдючным жиром приводит к еще более выраженному дефициту эссенциальной $C_{18:2}$ ЖК в составе липидов плазмы. Так, уровень $C_{18:2}$ ЖК уменьшается не только по сравнению с таковым III группы (на 15%), но и I (на 65,6%). Обращает на себя внимание также более низкое количество арахидоновой кислоты по сравнению с этими группами. Однако, несмотря на описанные сдвиги, сумма НЖК липидов плазмы у животных IV группы несколько ниже, а ННЖК — выше относительно III группы, в результа-

те чего величина соотношения $\frac{\text{сумма НЖК}}{\text{сумма ННЖК}}$ снижается с 0,9 до 0,7 соответственно. Это объясняется, судя по данным табл. I, значительным увеличением количества олеиновой кислоты в липидах плазмы жи-

вотных IV группы: на 67,29% по сравнению с III и на 56% — с I.

Следовательно, определение спектра ЖК плазмы животных, получавших в течение 90 дней избыточное количество насыщенных жиров (свиного, курдючного), свидетельствует о том, что в липидах плазмы происходит накопление НЖК (в основном $C_{15:0}$) на фоне развивающегося дефицита эссенциальной $C_{18:1}$ кислоты. Курдючный жир в отличие от свиного приводит к снижению уровня $C_{14:1}$ ЖК в плазме.

Учитывая, что липиды плазмы обмениваются с липидными компонентами мембран, тем самым участвуя в обеспечении структурно-функциональной организации последних, определенный интерес представляло изучение жирнокислотного профиля липидов эритроцитарных мембран у подопытных животных.

Как видно из данных, представленных в табл. 2, спектр ЖК липидов мембран эритроцитов контрольной группы животных заметно отлич-

Таблица 2. Жирнокислотный профиль липидов мембран эритроцитов белых крыс, находящихся в течение 90 дней на высокожировых рационах, %

Жирная кислота	Группы животных			
	I	II	III	IV
$C_{11:0}$	0,17	следи	следи	следи
$C_{14:0}$	0,73	1,0	0,64	0,70
$C_{14:1}$	0,68	0,63	1,06	0,28
$C_{16:0}$	0,16	0,65	0,46	0,23
$C_{16:1}$	2,08	1,36	0,95	0,79
$C_{18:0}$	15,98	14,30	34,53	35,45
$C_{18:1}$	0,49	0,50	0,74	0,76
$C_{17:0}$	0,69	0,22	0,59	0,54
$C_{17:1}$	0,94	0,34	0,51	0,54
$C_{18:2}$	30,36	28,00	25,26	24,75
$C_{18:3}$	20,63	12,77	10,14	10,28
$C_{19:0}$	9,30	7,23	5,80	4,79
$C_{20:0}$	13,03	32,81	18,94	21,20
сумма НЖК	48,09	44,17	67,48	61,67
сумма ПНЖК	52,17	55,72	38,16	38,63
к $\frac{\text{сумма ПНЖК}}{\text{сумма НЖК}}$	0,92	0,79	0,63	1,59

няется по качественному и количественному составу от такового липидов плазмы. Так, в мембранах эритроцитов данной группы выявляются в заметных количествах $C_{14:1}$ — и $C_{18:1}$ ЖК. Обнаруживается измене-

ние величин $\frac{\text{сумма НЖК}}{\text{сумма ПНЖК}}$, свидетельствующее о повышении содержания НЖК в составе липидов мембран эритроцитов и снижении уров-

ия моно- и полиненасыщенных ЖК. При этом происходит увеличение первых, преимущественно за счет $C_{18:1}$; в частности, если содержание указанной кислоты в липидах плазмы контрольной группы составляет 17% от суммы ЖК, то в составе липидов эритроцитарных мембран ее доля возрастает до 30%. Обращает на себя внимание более низкое количество в составе липидов эритроцитарных мембран $C_{22:1}$ ЖК и более высокое — $C_{22:4}$ по сравнению с плазмой данной группы животных.

Повышенное содержание свиного жира в рационе (50% от калорийности пищи) сравнительно мало сказывается на уровне основных представителей НЖК ($C_{16:0}$ и $C_{18:0}$), но тем не менее наблюдается тенденция к их снижению, вследствие чего суммарное содержание НЖК в составе липидов мембран несколько уменьшается по сравнению с контрольной группой (44,17 против 48,09%). Более выраженные сдвиги у животных II группы выявлены со стороны ННЖК липидов эритроцитарных мембран: уменьшение $C_{18:1}$ на 62%, резкое возрастание $C_{20:4}$ — на 81% по сравнению с контрольной группой. Количество $C_{18:2}$ снижается на 22%. Однако отмеченные изменения в уровне ННЖК в составе липидов эритроцитов мало сказываются на их суммарном содержании (55,7 против 52,17% в контрольной группе). Тем не менее описанные отклонения в суммах НЖК и ННЖК отражаются на величине сумма НЖК — которая у данной группы ниже, чем в контроле (0,79 против 0,92), свидетельствуя о повышении ненасыщенности мембранных липидов.

Спектр ЖК липидов мембран эритроцитов животных III и IV групп, находящихся на рационе, в котором свиной жир заменен на курдючный, также представлен 12 основными ЖК. Преобладающими НЖК, как и в I и II группах, являются $C_{16:0}$ и $C_{18:0}$. Однако в липидах мембран III группы, в отличие от I и II, содержание $C_{16:0}$ кислоты превалирует над $C_{18:0}$ (34,5 и 26,2% соответственно). Аналогичные взаимоотношения между указанными ЖК отмечаются и в липидах плазмы III и IV групп, т. е. четко сказывается влияние ЖК состава триглицеридов жира пищи. Поступление последнего с пищей особенно выражается в суммарном содержании НЖК и ННЖК липидов эритроцитарных мембран. Исследование показало, что суммарное содержание НЖК возрастает на 30%, причем в основном за счет $C_{18:1}$, в то время как ННЖК понижается (на 27%), несмотря на то, что в рацион животных III группы входило подсолнечное масло. Как видно из данных табл. 2, уменьшение суммы ННЖК происходит за счет $C_{18:1}$ и $C_{18:2}$ ЖК, в то время как содержание $C_{20:4}$ сохраняется в пределах контрольных величин.

Аналогичные по направленности сдвиги в ЖК спектре липидов эритроцитарных мембран наблюдаются у животных IV группы, у которых весь жир рациона представлен курдючным жиром. Однако в отличие от животных III группы дефицит эссенциальной $C_{18:2}$ ЖК в липидах мембран проявляется в еще большей степени. Так, уровень указанной кислоты в данной группе составляет 4,8% против 5,8% в III и 9,3% в контрольной.

Таким образом, рассматривая полученные данные, можно прийти к выводу, что длительное использование курдючного жира в пище, в отличие от свиного приводит к более выраженному дефициту C_{14} ЖК в составе липидов плазмы и мембран эритроцитов.

В связи с вышеописанными изменениями в ЖК профиле липидов эритроцитарных мембран у животных, получавших в рационе свиной и курдючный жиры, представляло определенный интерес выявление наличия связи между обнаруженными сдвигами в количественном составе ЖК и чувствительностью мембран эритроцитов к изменению условий среды, в частности, pH. С этой целью была изучена кислотная резистентность эритроцитов, которая согласно данным М. Д. Бриллианта и соавт. [3], наиболее чувствительна к изменению липидного состава мембран эритроцитов. Как видно из данных, представленных в табл. 3, изменения в ЖК спектре липидов мембран эритроцитов заметно сказываются на параметрах кислотного гемолиза.

Так, увеличение содержания в пище свиного жира (II группа) приводит к статистически достоверному понижению глубины гемолиза, од-

Таблица 3. Влияние высокожирового рациона на кинетику кислотного гемолиза эритроцитов белых крыс (М ± m, n=10)

№ группы	Глубина гемолиза (мм)	Среднее время гемолиза (сек)	Длительность «лаг»-фазы (сек)	Мгновенная скорость завер. фазы (мм/сек)	сумма НЖК сумма ПНЖК
I	12.4 ± 0.19	47.0 ± 1.7	61.2 ± 2.1	5.5 ± 0.6	0.92
II	10.9 ± 0.15 <0.01	48.7 ± 1.5	45.6 ± 1.4 <0.01	5.7 ± 0.6	0.74
III	13.02 ± 0.37	47.5 ± 1.2 0)	47.7 ± 1.4 <0.001	6.9 ± 0.5	1.63
IV	14.30 ± 0.55 <0.05	46.0 ± 2.1 0.001	51.9 ± 2.1 -0.5	6.6 ± 0.75	1.59

нако длительность «лаг»-фазы при этом укорачивается. Иная картина наблюдается при изучении показателя глубины гемолиза у животных III и IV групп. Отмечается возрастание глубины гемолиза эритроцитов, особенно у животных IV группы. В то же время и этих группах, как и во II наблюдается укорочение общего времени гемолиза, длины «лаг»-фазы и более выраженная тенденция к ускорению гемолиза на кооперативном участке кислотной эритрограммы.

Обращает на себя внимание наличие связи между величиной соотношения $\frac{\text{сумма НЖК}}{\text{сумма ПНЖК}}$ и глубиной гемолиза эритроцитов: по мере увеличения величины данного соотношения глубина гемолиза возрастает (табл. 3). Однако анализ показывает, что количественной взаимосвязи между этими показателями не наблюдается. Последнее дает основание предположить, что степень гемолиза, возможно, в большей степени зависит от величины соотношения $\frac{\text{сумма НЖК}}{\text{сумма ПНЖК}}$ в липидах мембран эритроцитов.

1. Адамян К. Г., Оганесян С. С., Адамян А. Г., Саркисян М. А. Определение кинетических параметров гемолиза крови и эритроцитов у больных методом непрерывной автоматической регистрации. Методические рекомендации. Ереван, 1985.
2. Антонов В. Ф. В кн.: Липиды и мембранная проницаемость мембраны. 78, М., 1982.
3. Бриллиант М. Д., Воробей А. Н. В кн.: Вопросы биофизики, биохимии и патологии эритроцитов. 132, М., 1967.
4. Бурлакова Е. В., Джалибова М. И., Габалария В. О., Глуценко Н. Н., Молочкина Е. М., Штолько В. М. В кн.: Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. 141, М., 1982.
5. Котык А., Яначек К. В кн.: Мембранный транспорт. 86, М., 1980.
6. Левачев М. М. Укр. биохим. журн., 56, 301—308, 1984.
7. Покровский А. А. В кн.: Липиды. Структура, биосинтез, превращения и функции. 118—130, М., 1977.
8. Bourgeois F., Alexu A., Lemontier D. Brit. J. Nutr., 49, 17—26, 1983.
9. Dodge I., Mitchell C., Hanraan D. Arch. Biophys., 100, 119—130, 1963.
10. Folch I., Lees M., Sloane Stanley G. J. Biol. Chem., 497—509, 1957.
11. Stoffel W., Chu F., Ahrens E. Anal. Chem., 31, 307—318, 1959.
12. Thompson A., Keelin M., Glanville M. Lipids, 22, 22—27, 1987.

Поступило 6.IX 1989 г.

Биолот. ж. Армения, № 1.(43).1990

УДК 577.3.08

УСТАНОВКА ДЛЯ РЕГИСТРАЦИИ СВЕРХСЛАБОЙ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ

А. Е. ЗАКАРЯН, А. Р. ЦАГИКЯН, Г. А. ПОГОСЯН, Г. А. ПАНОСЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биофизики

Сконструирована и апробирована установка для регистрации слабых световых потоков различных биологических объектов, в которых протекает свободнорадикальное окисление липидов. Установка своей чувствительностью не уступает известным аналогам и легко может быть собрана в лабораторных условиях.

Հանգրված և փորձարկված է սարքավորում՝ անոթներ կենսաբանական օբյեկտներին թափ լույսային հոսքերի գրանցման համար, որոնցում ընթանում է լիպիդների ազատ ռադիկալ օքսիդացումը: Սարքն իր զգայունությամբ և զիջում հայտնի համանման սարքերին և հեշտաթվյամբ կարող է հանգրվել լաբորատոր պայմաններում:

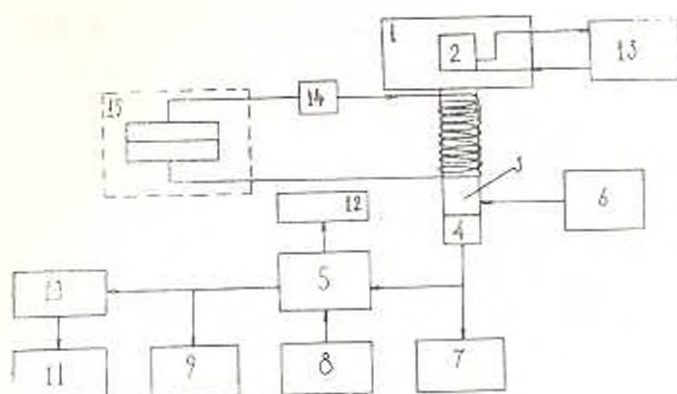
An apparatus for registration of faint light flows of different biological objects, where the free radical oxidation of lipids proceeds, are constructed and worked out. The elaborated plant is as sensitive as its known analogues and can be assembled easily under laboratory conditions.

Хемилюминесценция—свободные радикалы—фотоэлектричний множитель—прецизионный усилитель.

Биофизические методы, основанные на явлении сверхслабого свечения живых объектов, дают интегральную информацию о протекающих фи-

Сокращения: ФЭУ—фотоэлектрический усилитель.

зико-химических процессах, особенно в липидной фазе и мембранных структурах живой клетки [3—5]. Эти методы широко применяются как в фундаментальных биофизических исследованиях, так и в медицине и сельском хозяйстве [1, 2, 8]. Недостатком этой области исследований является отсутствие необходимого стандартного оборудования и соответствующих квантиметрических установок. Промышленный хемилюминиметр «Свет» [9] на сегодняшний день устарел, хемилюминиметр «ХЛМИЦ-01» [6] — дорогостоящая установка, выпускаемая небольшими сериями. Приобретение же их зарубежных аналогов типа 1250, 1251 LKB, Berthold Biolumat 1.B и др. [7] связано с большими трудностями. Вместе с тем в различных научно-исследовательских учреждениях применяются разнообразные исследовательские установки, удовлетворяющие требованиям решаемых этими организациями задач. Поэтому часто приходится в лабораторных условиях искать альтернативные решения для создания экспериментальной установки, позволяющей измерять слабые световые потоки живых организмов и их тканей.



1. Блок-схема квантометрической установки. 1. Измерительная камера; 2. Термостатируемая ячейка; 3. Фотоэлектронный умножитель; 4. Предварительный усилитель; 5. Выходной каскад усилителя; 6. Высоковольтный стабилизатор; 7. Частотомер; 8. Блок питания усилителей; 9. Цифровой вольтметр; 10. Блок компенсаторов; 11. Самописец; 12. Осциллограф; 13. Электрический блок управления термостатируемой ячейкой; 14. Микропассе; 15. Холодильник.

Установка состоит из двух частей — механической и электронной. Механическая часть представляет собой светонепроницаемую конструкцию. Между фотокатодом ФЭУ и рабочей камерой действует полуав-

Питание ФЭУ осуществлялось с помощью источника высоковольтного стабилизированного напряжения (ВЛБ1В-3-09). Спектр чувствительности используемого нами ФЭУ-140 находится в пределах 200—650 нм. Светочувствительность его фотокатода не менее $3,4 \cdot 10^{-14}$ а/лм, а темновой ток — не более $2 \cdot 10^{-10}$ а/лм. Следует заметить, что все используемые в подобных исследованиях установки не имеют строгого метрологического обеспечения, что и является основным недостатком в области исследований хемилюминесценции. Используются лишь радиолюминесцентные излучатели, наиболее известные по интенсивности хемилюминесцентных реакций.

Чувствительность нашей установки тестировалась с помощью образцов с относительно известным свечением (плазма крови, гомогенаты тканей животных, олеиновая кислота). При сопоставлении полученных данных с литературными выяснилось, что чувствительность нашей установки не только не уступает, но и многократно отличается. Так, например, свечение олеиновой кислоты при комнатной температуре, по известным данным, не превышает фон более чем в 2—3 раза. У нашей установки этот показатель лежит в пределах 4—5.

Для количественной оценки чувствительности установки нами был использован эталон*, представляющий собой источник радиолюминесцентного излучения света, приготовленный из стекла ЖЕ 19 (ГОСТ 9411-81), максимум излучения которого находится в пределах 500—600 нм видимого спектра. С помощью этого эталона установлено, что коэффициент чувствительности созданной нами установки равен $6,8 \cdot 10^4$.

Таким образом, разработанная установка позволяет изучать как спонтанную хемилюминесценцию, так и индуцированное свечение биологических объектов. Она имеет высокую чувствительность для регистрации слабых световых потоков, обеспечивает устойчивую работу в течение 10—15 ч и легко может быть собрана в лабораторных условиях при небольших финансовых затратах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бурлакова Е. В., Джафаров А. И., Чогашивили А. Г. В сб.: Сверхслабые свечения в медицине и сельском хозяйстве, 6. М., 1971.
2. Веселовский В. А., Веселова Т. В В сб.: Биохемилюминесценция в медицине и сельском хозяйстве. Мат-лы Всесоюзн. симп., 24. Ташкент, 1986.
3. Владимиров Ю. А. Биохемилюминесценция в сельском хозяйстве, 57—60. М., 1986.
4. Журавлев А. И., Маренков В. С. В сб.: Биохемилюминесценция в сельском хозяйстве. 5. М., 1986.
5. Карнаух И. М., Урысон Б. В. В кн.: Биохемилюминесценция, 118—134. М., 1983.
6. Коровякова Т. И. Биохемилюминесценция в сельском хозяйстве. 30. М., 1986.
7. Маренков В. С. Биохемилюминесценция в сельском хозяйстве, 26—27. М., 1986.
8. Сидорик Е. П., Карнаух И. М., Баглей Е. А. и др. В кн.: Применение радиоэлектроники в области медицинских и биологических исследований, 172—173. Киев, 1987.
9. Соминский В. Н. В сб.: Биохемилюминесценция в медицине и сельском хозяйстве. Мат-лы Всесоюзн. симп., 148—149. Ташкент, 1986.

Поступило 22.IV 1989 г.

* Эталон любезно был предоставлен нам зав. каф. биофизики 2-го Московского медицинского института, чл.-корр. АМН СССР проф. Ю. А. Владимировым.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕЖВИДОВОГО МИКРОКЛЕТОЧНОГО ГИБРИДА КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК МЫШИНОЙ ГЕПАТОМЫ ДЛЯ ИНДУКЦИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ

Ю. Т. АЛЕКСАНИН, Э. Т. ГАСПАРЯН, Т. И. ИГНАТОВА

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР, Ереван.
Институт цитологии АН СССР, Ленинград

Гибридные клетки—противоопухолевая резистентность

Для разработки способов индукции противоопухолевой резистентности в условиях эксперимента применяются гетерогенизированные клеточные объекты. В этом аспекте значительный интерес представляет использование гибридов культивируемых соматических клеток. Следует отметить определенные преимущества применения гибридных клеток для индукции противоопухолевой резистентности и усиления противоопухолевого иммунитета [1]. Рядом исследователей [3—7] в экспериментальных условиях установлена возможность применения гибридных клеток для индукции противоопухолевой резистентности. Однако в литературе нет данных об использовании в этих целях микроклеточных гибридов.

Задачей настоящей работы являлось изучение возможности применения межвидового микроклеточного гибрида длительно культивируемых клеток мышинной гепатомы ХХ1а для индукции противоопухолевой резистентности в сингенной системе у мышей линии СЗНА.

Материал и методика. Исследования проводили на мышах линии СЗНА, полученных из экспериментальной станции «Рапполово» АМН СССР. Использовали клетки линии МГХХ1а, полученной из солидной формы перевиваемой мышинной гепатомы ХХ1а [2]. Микроклеточный межвидовой гибрид HJKmk-2 был получен слиянием клеток линии МГХХ1а 5 года культивирования (Н) с хомячковыми (RJK) микроклетками (mk). Клоновая культура микроклеточного гибрида мышинной гепатомы ХХ1а была выделена с помощью селективных сред, составленных с учетом генетических маркеров родителевских клеток. Гибридное происхождение выделенного клона идентифицировано цитогенетически. Клоновую популяцию гибрида предварительно культивировали на соответствующей селективной среде в течение 3 пассажей для удаления из популяции сегрегатов. К моменту изучения культуру поддерживали не менее 3 лет, что позволяло считать ее стабилизировавшейся. При проведении экспериментов использовали клетки линии МГХХ1а и гибридные клетки, выращенные на питательной среде Игла с 10% сыворотки крупного рогатого скота.

Сокращения: ГК—гибридные клетки, АФО МГХХ1а—ассицированная форма опухоли МГХХ1а.

Использование гибридных клеток HJKи-2 для индукции противолучевой резистентности в сингенной системе у мышей линии С3Н

Группы животных	Количество животных в группах	Прививка ГК	Прививаемость ГК, %	Трансплантат	Резистентность к опухоли, %
1	25	Дважды по $5 \cdot 10^4$ клеток с двухнедельным интервалом между прививками	0	Через месяц подкожно клетки линии МГХХ11а в дозе $2 \cdot 10^4$	Через месяц резистентность у 60% мышей
2	29	Однократно в дозе 10^5 клеток	0	Через 2 недели подкожно клетки АФО МГХХ11а в дозе 10^5	Через месяц резистентность у 65% мышей
3	40	Дважды по 10^5 клеток с недельным интервалом между прививками	0	Через неделю подкожно клетки АФО МГХХ11а в дозе 10^5	Через 2 месяца резистентность у 50% мышей
4	30	Трижды по 10^5 клеток с недельными интервалами между прививками	0	Клетки АФО МГХХ11а подкожно в дозе 10^5 одновременно с последней инъекцией ГК	Через 6 месяцев резистентность у 70% мышей
5	30	—	—	Клетки линии МГХХ11а в дозе $2 \cdot 10^4$ подкожно	0
6	30	—	—	Клетки линии АФО МГХХ11а в дозе 10^5 подкожно	0

Примечание: (—) — прививка ГК не производилась.

Результаты и обсуждение. Результаты проведенных исследований представлены в таблице. В первой серии экспериментов мышам дважды (с двухнедельным интервалом) прививали подкожно ГК по $5 \cdot 10^6$. Привитые ГК у всех мышей как в данной серии экспериментов, так и в остальных опытах рассасывались, что обусловлено иммунным ответом реципиентов на содержащиеся в микроклеточном межвидовом гибриде антигены хомячка. Спустя месяц у 60% подопытных мышей после введения культивируемых опухолевых тест-клеток не отмечалось появления опухоли. У остальных подопытных мышей имело место выраженное подавление опухолевого роста. В то же время у контрольных мышей спустя 2 недели отмечалась 100%-ная прививаемость тест-клеток.

Во второй серии экспериментов мышей иммунизировали однократно ГК в дозе 10^7 . Через 2 недели подопытным и контрольным мышам подкожно прививали клетки АФО МГХХIIa в дозе 10^6 . Спустя месяц у 65% мышей, предварительно иммунизированных ГК, была зарегистрирована противоопухолевая резистентность. У остальных животных так же, как и в предыдущей серии экспериментов, отмечалось торможение опухолевого роста, в контроле—100%-ная прививаемость клеток опухоли МГХХIIa.

В следующей серии опытов ГК вводили мышам дважды по 10^7 с недельным интервалом между прививками. Через 2 месяца после введения опухолевых тест-клеток отмечалась резистентность к опухоли у 50% мышей. У остальных животных опухолевый рост был подавлен.

В четвертой серии экспериментов ГК имплантировали мышам трижды по 10^7 с недельными интервалами между прививками. Одновременно с последней инъекцией вводили опухолевые тест-клетки в дозе 10^6 . Животные находились под наблюдением в течение 6 месяцев. По истечении этого срока опухоли не образовались у 70% мышей. Подавление опухолевого роста у остальных подопытных животных проявлялось, в частности, в весьма значительном увеличении (несколько месяцев) сроков появления опухолей.

Таким образом, клетки межвидового микроклеточного гибрида HRJKmk-2 в процессе длительного культивирования сохраняли иммуногенные свойства, обладая способностью индуцировать у мышей противоопухолевую резистентность или выраженное торможение роста прививаемых опухолевых клеток. На основании результатов проведенных исследований можно сделать заключение, что противоопухолевая резистентность индуцируется у мышей при использовании различных схем иммунизации ГК, однако наиболее эффективной оказалась схема, примененная в четвертой серии экспериментов. Использование способности микроклеточного межвидового гибрида индуцировать выраженную противоопухолевую резистентность открывает определенные возможности для выяснения в экспериментальных условиях иммунологических аспектов этого процесса. Изучение иммунологического статуса мышей с индуцированной противоопухолевой резистентностью является задачей наших дальнейших исследований.

1. Александрян Ю. Т. Иммунология культивируемых опухолевых и гибридных клеток. Ереван, 1985.
2. Александрян Ю. Т., Багдасарян М. Е., Мовсесян К. С., Манукян Л. А., Генаркян С. К. Бюлл. экпер. биол. мед., 73, 5, 94—95, 1972.
3. Baumal R., Muscatelli G., Farkas Hmsley H., Marks A. Cancer Res., 42, 5, 1901, 1982.
4. Dei T., Yoshida T. J. Natl. Cancer Inst., 63, 4, 739—749, 1980.
5. Jami J., Ritz E. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 72, 6, 2130—2134, 1975.
6. Liang W., Cohen P. P. A. Immunol., 118, 3, 903—908, 1977.
7. Parkman P. J. Natl. Cancer Inst., 52, 1541—1545, 1974.

Поступило 27.III 1989 г.

Извест. ж. Армении, № 1.(43), 1990

УДК 577.391:618.11

ТЕРМОИНДУКЦИЯ РАДИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ У ЭМБРИОНА ПТИЦЫ

В. А. ВАРДАНЯН, М. А. КЮЧИКЯНЦ

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

Эмбрион птицы—радиорезистентность—термический шок—эмбриональная летальность.

Проблеме действия ионизирующих излучений на антенатальное развитие организма придается большое значение. В связи с крайне высокой радиочувствительностью эмбриона большой теоретический и практический интерес приобретает вопрос противолучевой защиты при воздействии радиации [5].

Применение арсенала фармакохимических средств защиты, по имеющимся данным, ограничено из-за высокой эмбриотоксичности и малой эффективности [2, 4]. В связи с этим внимание исследователей привлекает изучение формирования радиорезистентности эмбриона после воздействия различными факторами среды, в частности теплом, не оказывающего тератогенного действия [3].

По данным ряда авторов [6—9], тепловая обработка икринок рыб *Oryzias latipes* в митотической неактивной стадии и через трие суток после оплодотворения приводит к повышению радиорезистентности и снижению эмбриональной летальности.

В настоящей работе представлены результаты изучения возможности индукции теплом радиорезистентности к большим и малым дозам облучения у эмбрионов птицы.

Материал и методы. Опыты проводили на 905 З и 8-дневных куриных эмбрионах. Непосредственно перед облучением эмбрионы подвергались тепловому шоку в инкубаторе при температуре 40°C/30 мин при нормальной аэрации. Облучение проводили в дозах 2, 0,1 и 0,03 Гр при следующих условиях: установка РУМ-17, напря-

напряжение 200 кВ, сила тока 15 мА, фильтры—0,5 мм меди+1,0 мм алюминия, фокусное расстояние 60 см, мощность дозы 0,3 Гр/мин.

По окончании инкубации в контрольных и опытных группах высчитывали процент эмбриональной летальности.

Результаты и обсуждение. Отметим, в первую очередь, что тепловой шок у необлученных эмбрионов заметно снижает эмбриональную летальность и повышает выживаемость (таблица).

Терминдукция радиорезистентности у 3- и 8-дневных эмбрионов птицы

Тип воздействия	Всего живых эмбрионов	В том числе				Разница эмбриональной выживаемости в %		
		исходящих эмбрионов		живых цыплят		с облученными	с ТШ	с контрольными
		число	%	число	%			
Контроль	50	0	18,0	11	82,0	—	—	—
3-е сутки эмбриогенеза								
ТШ—40°, 30 мин	129	16	12,1	113	87,6	—	—	5,6
2,0 Гр	108	37	34,3	71	65,7	—	-21,9	-16,3
ТШ+2,0 Гр	107	31	28,9	76	71,1	-5,4	-16,5	-10,9
0,1 Гр	54	17	31,5	37	68,5	—	-19,1	-13,5
ТШ+0,1 Гр	56	6	10,7	50	89,3	-20,8	+1,7	+7,3
0,03 Гр	51	2	3,9	49	96,1	—	8,5	14,1
ТШ+0,03 Гр	58	6	10,3	52	89,7	-6,4	2,1	7,7
8-е сутки эмбриогенеза								
ТШ—40°, 0 мин	79	7	8,9	72	91,1	—	—	+9,1
2,0 Гр	105	24	22,9	81	77,1	—	-14,0	4,9
ТШ+2,0 Гр	108	24	22,2	84	77,8	+0,7	-13,3	-4,3

ТШ—тепловой шок.

При облучении 3-дневных эмбрионов дозой 2 Гр наблюдалась высокая эмбриональная летальность—34,3%, что превышало контроль на 16,3%. После теплового шока облучение этой дозой снижало летальность незначительно. Она составляла 28,9%, или на 5,4% ниже, чем в облученной группе, и соответственно на 16,5 и 10,9% выше эмбриональной летальности в варианте с тепловым шоком и контроля.

Облучение дозой 0,1 Гр также приводило к высокой летальности—31,5%, что на 13,5% превышает смертность в контрольной группе. Тепловой шок существенно снижал летальный эффект этой дозы облучения. При этом смертность составляла 10,7%, что на 20,8% ниже летальности в облученной группе и соответственно на 1,7 и 7,3% ниже, чем в варианте с тепловым шоком и контроле.

Доза облучения 0,03 Гр существенно снижала эмбриональную смертность. Она составляла 3,9%, т. е. на 14,1% ниже, чем в контроле. При облучении этой дозой после теплового шока эмбриональная летальность повышалась до 10,3%, что на 6,4% выше, чем у облученных, уступая летальности в контроле и группе, подвергнутой тепловому шоку, соответственно на 2,1 и 7,7%.

Облучение 8-дневных эмбрионов дозой 2 Гр приводило к повышению летальности по сравнению с контрольной группой на 4,9%. Эта же доза, примененная после теплового шока, почти не снижала процент эмбриональной летальности (0,7%). Однако тепловой шок у интактных эмбрионов этого возраста, как и у 3-дневных, снижал эмбриональную летальность по сравнению с контролем соответственно на 5,6 и 4,4% (таблица).

Таким образом, пик летальности эмбрионов при дозе облучения 2 и 0,1 Гр (соответственно 34,3 и 31,5%) приходится на третьи сутки развития. В этой стадии эмбриогенеза после предварительного термического шока при дозе облучения 2 Гр эмбриональная летальность снижается незначительно (с 34,3 до 28,9%), в то время как при дозе облучения 0,1 Гр наблюдается существенное повышение радиорезистентности. При этом эмбриональная летальность резко снижается (с 31,5 до 10,7%).

Доза облучения 0,03 Гр, оказывающая стимулирующее действие на эмбриогенез [1], существенно снижает летальность по сравнению с контролем (с 18,0 до 3,9%). Однако использование этой дозы после термического шока заметно повышает эмбриональную летальность (с 3,9% до 10,3%). По-видимому, термический шок способствует формированию радиорезистентности к стимулирующему эффекту этой дозы облучения.

Данные показали, что предварительный термический шок у 8-дневных эмбрионов не вызывает развития радиорезистентности к дозе облучения 2 Гр.

Итак, индукция радиорезистентности предварительным термическим шоком, выражающаяся в снижении эмбриональной летальности, наблюдается при малых дозах облучения (0,1 и 0,03 Гр). При дозе облучения 2 Гр термический шок оказался неэффективным.

ЛИТЕРАТУРА

1. Килин А. М. Стимулирующее действие ионизирующего излучения на биологические процессы. М., 1977.
2. Пидысан Г. Ф., Закощиков Г. Ф. Радиобиология, 27, 5, 621—625, 1987.
3. Светлов П. Г., Корсаков Г. Ф. В сб.: Влияние ионизирующего излучения на течение беременности, состояние плода и новорожденного, 37, Л., 1960.
4. Стакжевская Г. Н. Радиобиология, 11, 6, 913—916, 1971.
5. Цыб А. Ф., Палица Г. Ф. В кн.: Действие малых доз ионизирующего излучения на гонады и плод. Тез. докл. Всесоюз. конф. Обнинск, 1988.
6. Shimada Y. I. Int. Radiat. Biol., 18, 2, 189, 1975.
7. Shimada J. Int. J. Radiat. Biol., 48, 3, 423, 1985.
8. Shimada J., Shima A., Egami A. Rad. Res., 104, 1, 78, 1985.
9. Shimada J., Shima A., Egami A. Rad. Res., 75, 11, 1975.

Поступило 15.VI 1989 г.

ВЛИЯНИЕ ПЖЛ НА ФАГОЦИТАРНУЮ АКТИВНОСТЬ ПОЛИМОРФНОЯДЕРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ

Л. С. ГРИГОРЯН, М. И. ГЕВОРКЯН

Ереванский государственный медицинский институт
Лаборатория иммунологии ЦНИЛ

Продукты жизнедеятельности лимфоцитов—фагоцитоз.

Ввиду того, что описанные поражения полинуклеарной фагоцитирующей системы врожденные иммунодефициты по фагоцитозу относят к ряду патологических состояний, поиск новых естественных биологически активных веществ, стимулирующих фагоцитоз, представляет научно-практический интерес [2, 7].

По требованиям ВОЗ, одним из основных параметров, характеризующих иммунную реактивность организма, является функциональное состояние полинуклеарной фагоцитирующей системы.

Полинуклеарная фагоцитирующая система является важным звеном иммунной системы, участвующей одновременно и адаптивных и гомеостатических процессах организма.

Как известно, лимфоцитами выделяются ряд факторов, регулирующих не только иммунную, но и интегративные системы организма [7]. Однако до сих пор не изучено влияние ПЖЛ на бактерицидную активность полиморфноядерных нейтрофилов крови [5]. Между тем критерием функциональной полноценности этих элементов крови и эффективности фагоцитоза является их бактерицидная активность [10].

Материал и методы. Опыт поставлен на белых крысах-самцах (84 животных) массой 120 г.

Продукты жизнедеятельности лимфоцитов вводили внутривенно 3 дня (ежедневно по 800 μ белка и объеме 1 мл). Через 28 дней определяли фагоцитарную активность нейтрофилов периферической крови.

Для характеристики процесса фагоцитоза определяли как поглотительную, так и бактерицидную активность полиморфноядерных лейкоцитов. С этой целью использовали ряд параметров—индекс Гамбургера, число Райта, процент активности нейтрофилов. Реакцию фагоцитоза осуществляли модифицированным методом микрометодом (прим. предложение № 74 от 17 октября 1988 г.).

Для характеристики киллерной и бактериолитической активности нейтрофилов сравнивали результаты фагоцитоза через 30 мин и 3,5 часа.

Бактерицидную активность расценивали как киллерную в случае полного освобождения нейтрофилов от заочеченных микроорганизмов, а бактериолитическую—при частичном освобождении от микроорганизмов.

Результаты и обсуждение. Как показали результаты исследования, через 28 дней после 3-дневного введения ПЖЛ повышается как поглотительная, так и киллерная активности нейтрофилов (табл.). Если в контрольной группе процент активных нейтрофилов составлял 41 ± 19 , то в опытной $98 \pm 2,6$.

Сокращения: ПЖЛ—продукты жизнедеятельности лимфоцитов; ПЯЛ—полиморфноядерные нейтрофильные лейкоциты.

Влияние продуктов жизнедеятельности лимфоцитов на фагоцитарную активность нейтрофильных гранулоцитов крови

Группа животных		Показатели фагоцитоза						
		Число Гамбургера, % активных нейтрофилов			Клиническая активность нейтрофилов, % нейтрофилов, освобожденных от микроорганизмов	Фагоцитарное число Райта. Количество захваченных микробов 1 фагоцитом		
		n	M $\pm$ m	P		n	M $\pm$ m	P
Контрольная	через 30 мин	3	11 $\pm$ 19	—	—	3	10,9 $\pm$ 0,6	5,3
	через 3,5 ч	5	77 $\pm$ 6,2		—	5	5,1 $\pm$ 0,66	
Опытная, получающая ПЖЛ (3 дня)	через 30 мин	6	98 $\pm$ 2,5	P<0,01	—	6	14 $\pm$ 1,7	P ₁ <0,05
	через 3,5 ч	8	69 $\pm$ 7,8	P<0,01	29	8	5,8 $\pm$ 0,5	P ₂ <0,001

Примечание: Показатели P₁ в сравнении с контрольной группой, P₂ в сравнении с опытной группой через 30 минут.

Отмечалось также повышение киллерной и бактериолитической активности лейкоцитов. В контрольной группе за 3,5 ч лейкоциты не очищались от поглощенных микроорганизмов, а наоборот, увеличивалось количество лейкоцитов с захваченными микроорганизмами (на 36%).

В опытной группе за указанный срок отмечалось освобождение лейкоцитов от захваченных микробов, и киллерная активность составляла 29%. Бактериолитическая активность в той же группе составляла 58,9%.

Таким образом, ПЖЛ существенно стимулируют функциональную активность лейкоцитов, повышая как поглотительную, так и бактерицидную—киллерную активность их. Это позволяет рекомендовать применение отдельных очищенных фракций ПЖЛ, обладающих стимулирующей активностью, в терапии тех патологических состояний и синдромов, в патогенезе которых ведущим является нарушение киллерной активности лейкоцитов: при синдроме Чедиака-Хигаси, хроническом гранулематозе, врожденных дефектах бактерицидной активности лейкоцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иммунология. Под ред. У. Пола (пер. с англ.), 1, 2, 476, 456, М., 1987.
2. Иммунологические аспекты инфекционных заболеваний. Под ред. Дж. Дика (пер. с англ.), 576, М., 1982.
3. Иммунологические методы. Под ред. Г. Фримеля, 472, М., 1987.
4. *Кашкин К. Н., Карцев З. О.* Иммунная реактивность организма и антибиотическая терапия. 200, Л., 1984.
5. *Кемилева З.* Вильчковая железа. (пер. с болгарского), 256, М., 1984.
6. *Купер Э.* Сравнительная иммунология, 421, М., 1980.
7. Механизмы иммунопатологии. Под ред. С. Коена, П. А. Уорда, П. Мак-Клоски (пер. с англ.), 400, М., 1983.
8. *Петров Р. В.* Иммунология, 416, М., 1987.
9. Последнее достижение в клинической иммунологии. Под ред. Р. А. Томсона. (пер. с англ.), 496, М., 1983.
10. *Фримель Х., Брок И.* Основы иммунологии (пер. с англ.), 254, М., 1986.

Получено 25.IV 1989 г.

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ЭТАПЫ СОЛЮБИЛИЗАЦИИ
ЛЕЦИТИНОВЫХ ЛИПОСОМ ДЕЗОКСИХОЛАТОМ НАТРИЯ

Т. Г. АМБАРЦУМЯН, Г. Г. МАРИКЯН, Л. С. ПЕТРОСЯН

Ереванский физический институт ГКАЭ СССР

Оптическая плотность—липидная суспензия—температура—детергент

Известно, что солюбилизация липида детергентом по мере увеличения соотношения липид:детергент (R) проходит несколько стадий: липосома—смешанные липосомы—смешанные мицеллы [2]. Измерения ОП липидной суспензии показали резкое ее увеличение начиная с определенного значения R [1]. Поскольку указанные стадии солюбилизации носят характер переходов из одного агрегатного состояния в другое, естественно, возник вопрос о температурной зависимости этих переходов. В качестве исследуемого параметра вновь была взята ОП суспензии.

Материал и методика. Опыты проводили на яичном лецитине Харьковского завода химреактивов. Очистку лецитина от изолецитина осуществляли с помощью окиси алюминия. Сухую липидную пленку, полученную на роторном испарителе и очищенную от паров хлороформа, эмульгировали вручную в течение 15 мин в 20 мМ триацетатного буфера с 130 мМ КСl и различными концентрациями ДХНа. pH раствора равнялся 8,2. Концентрация липида в буферном растворе составляла 8,0 и 16,0 мМ. Соотношения детергент:липид указаны в тексте. Полученную суспензию отстаивали в течение часа для образования мультиламеллярных липосом. Далее для получения унिलамеллярных липосом отстаивали эмульсию в ультразвуковом излучателе с частотой 22 кГц на ультразвуковом дезинтеграторе УЗ.ИИ-2 до достижения просветления и опалесценции. Затем суспензию отстаивали в течение часа для получения крупных униламеллярных липосом.

ОП суспензии определяли методом светорассеяния на спектрофотометре СФ-26 с приставкой для непрерывного сканирования температуры раствора в кювете при длине волны 500 нм.

Результаты и обсуждение. Исследование зависимости ОП суспензий липосом, сформированных при двух концентрациях липида с детергентом в разных молярных соотношениях, показало, что исследуемая система нечувствительна к изменениям температуры для области R от 0,2 до 0,2.

Мы предположили, что наблюдаемое линейное падение оптической плотности по мере роста температуры связано не с изменениями липидной структуры, а с изменениями pH раствора. Для проверки этого предположения был использован чувствительный к pH краситель крезоловый красный в триацетатном буфере (pH раствора при комнатной температуре 8,2). Измерения ОП в той же температурной области вновь обнаруживают линейное падение оптической плотности от 0,275 до 0,103. Так как технически не были возможности в ходе эксперимента одновременно следить и за изменением pH раствора, его измерения проводили при ком

Сокращения: ОП—оптическая плотность; ДХНа—дезоксихолат натрия; ДФГТ—1,6-дифенил-1,3,5-гексаatriен.

ватной температуре для растворов, имеющих те же величины ОП (0,275–0,160). Из полученной калибровочной кривой (рис. 1) видно, что при этом pH раствора крезолового красного меняется от 8,8 до 7,6, что в конечном итоге указывает на закисление липосомальной суспензии с ростом температуры.

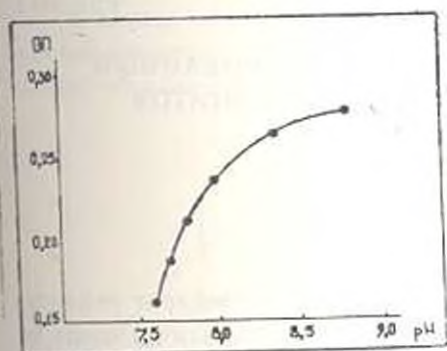


Рис. 1.

Рис. 1. Зависимость оптической плотности от pH для крезолового красного, растворенного в триацетатном буфере.

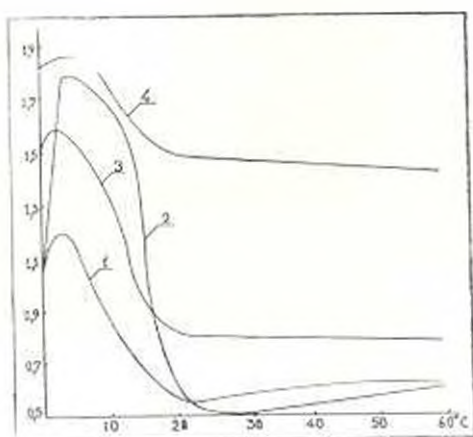


Рис. 2.

Рис. 2. Зависимость оптической плотности липосомальной суспензии от температуры

С_{лип.} 8 мМ. (1) — R = 0,6, (2) — R = 1,0,
С_{лип.} 16 мМ. (3) — R = 0,6, (4) — R = 0,8.

Исследование зависимости ОП от температуры для суспензий с высоким отношением детергент-липид выявило (рис. 2) существенную температурную зависимость по достижении R значения 0,4 и выше, независимо от концентрации липидов. Если понижение температуры от 60° до 20°C не оказывает заметного влияния на ОП, то дальнейшее ее понижение приводит к резкому помутнению системы. Причем, чем выше концентрация липида, тем раньше (то есть при более высокой температуре) оно начинается.

Проведенные нами параллельные определения анизотропии флуоресценции (τ) ДФГТ, встроенного в углеводородную часть мембраны, не указывают на разрушение бислойной структуры в этой области отношений R в данном диапазоне температур.

Таким образом, детергент является агентом, способствующим переходам из одного агрегатного состояния в другое. Причем его присутствие становится эффективным лишь после достижения определенного значения R, независимо от температуры. Только после его достижения температура (как правило, ниже комнатной) становится фактором, существенным для увеличения ОП. Это может быть связано либо с агрегацией липосом, либо с их слипанием. Опыты показывают обратимый характер повышения мутности, что, по-видимому, может служить аргументом в пользу первого предположения. Возможно, понижение температуры ниже комнатной делает бислойную структуру более напряженной, что создает предпосылки для образования агрегатов из смешанных мицелл.

1. Jackson M. L., Schoudt C. F., Lichtenberg D., Litman B. J. *Virology*, 110, 4576—4582, 1982.
2. Lichtenberg D., Robson R., Dennis E. *Biochim. Biophys. Acta*, 77, 233—241, 1981.

Поступило 1.III 1989 г.

Биолот. ж. Армения. № 1.(43).1990

УДК 578.2

ВЛИЯНИЕ РЕМАНТАДИНА НА ИНДУЦИРОВАННЫЙ ВИРУСОМ СЕНДАЙ ГЕМОЛИЗ ЭРИТРОЦИТОВ

М. М. КОРХМАЗЯН

Ереванский физический институт ГКАЭ

Вирусный гемолиз—ремантадин.

В терапии гриппа достаточно широко применяется препарат ремантадина (Rem), однако механизм его противовирусного действия до конца не выяснен. По мнению ряда авторов, он действует на ранних стадиях адсорбции вируса на мембране и при проникновении вируса в клетку [7, 10], согласно данным других авторов, Rem действует на стадии репродукции вирусных частиц внутри клетки [3, 9].

Эритроциты являются удобной моделью для изучения взаимодействия вируса с клеточной мембраной. Вирус Сендай (HVJ) хорошо адсорбируется на эритроцитах, мембрана которых содержит специфические для него рецепторы, и эффект взаимодействия может быть оценен по величине гемолиза, вызванного вирусом [2]. В настоящей работе влияние Rem оценивается по его воздействию на индуцированный HVJ гемолиз эритроцитов, т. е. на стадии взаимодействия вируса с мембраной клетки.

Материал и методика. Исследования проводили на эритроцитах человеческой крови I группы. Эритроциты осаждали, трижды промывали и ресуспендировали в растворе следующего состава: 145 мМ NaCl:5 мМ трис-HCl, (pH 7.4).

В работе использовали ремантадин производства ИОС АН Латв. ССР, вирус Сендай (штамм 960), выращенный в Институте вирусологии им. Д. И. Ивановского АМН СССР. Титр вируса в ГАЕ определяли по методу [1].

Инкубацию вирусов и эритроцитов с Rem проводили в течение 40 мин при 37°. Вирус-индуцированный гемолиз осуществляли инкубацией 1%-ной суспензии эритроцитов с вирусом в течение 30 мин на холоду, затем 30 мин при 37°.

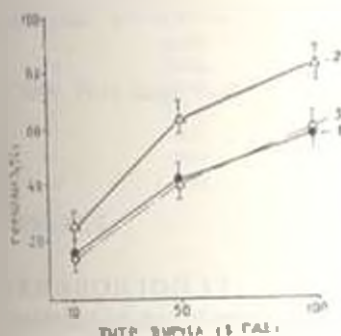
Величину гемолиза определяли поглощение на 540 нм надосадочного раствора после осаждения клеток.

Результаты и обсуждение. Прежде чем судить о влиянии Rem на индуцированный вирусом гемолиз, необходимо выяснить, какое влияние оказывает Rem на устойчивость эритроцитов к лизису. В качестве контроля мы выбрали осмотический гемолиз эритроцитов. Инкубация

Сокращения: ГАЕ—гемагглютинирующая единица.

1%-ной суспензии эритроцитов с Rem (1 мМ) приводит к уменьшению величины осмотического гемолиза с 52 до 28% в присутствии Rem. Этот результат согласуется с литературными данными [6], а также с тем фактом, что в присутствии Rem наблюдается некоторое «разжижение» мембран (на глубине 0,8 нм) [4]. В этих случаях Rem, являясь амфипатическим соединением, идет себя как типичный представитель этого класса веществ и по своему эффекту сходен с широко исследованными в этом плане местными анестетиками [8].

В случае гемолиза, вызванного HIV, Rem усиливает поражение клеток вирусом — доля лизированных клеток выше в суспензии эритроцитов, обработанных Rem, чем в контрольных клетках (рис.). На рис.



Влияние ремантадина (1 мМ) на индуцированный вирусом Сендай гемолиз эритроцитов (1%-ная суспензия): 1 — гемолиз контрольных клеток, 2 — гемолиз эритроцитов, обработанных ремантадином, 3 — гемолиз под действием обработанного ремантадином вируса Сендай.

видно также, что предварительная обработка вируса Rem не изменяет величины гемолиза относительно контрольного уровня. Этот результат согласуется с данными [5], согласно которым антивирусное действие производных адамантана заключается не в прямом подавлении активности вируса.

В иной модификации опыта, когда после инкубации эритроцитов с Rem несвязавшийся с клеткой Rem удаляли центрифугированием и децантированием надосадка, величина вирус-индуцированного гемолиза оказывалась близкой к контрольной.

Таким образом, Rem, повышая осмотическую устойчивость клеток, одновременно понижает их устойчивость к индуцированному гемолизу.

Согласно данным [6], обработка эритроцитов Rem вызывает понижение уровня гемолиза, вызванного вирусом гриппа A₀PR8. Авторы считают, что защитный эффект Rem и в случае вирусного гемолиза объясняется повышением механической устойчивости мембран и проявляется на стадии набухания клетки [6].

Полученная нами обратная картина — увеличение процента лизированных клеток в присутствии Rem — может быть следствием того, что изменения в структуре мембраны, вызванные Rem, облегчают взаимодействие HIV с клеткой. Изменения эти обратимы и при удалении Rem из раствора уровень индуцированного HIV гемолиза оказывается близким к контрольному.

Из изложенного видно, что Rem, хотя и влияет на взаимодействие вируса с клеточной мембраной, защитного эффекта на этой стадии инфицирования клетки не обнаруживает.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барлет Г., Ильяс С. Вирусология, методы. М., 1988.
2. Караджян М. М., Слепушкин В. А., Меликян Г. Б. Биодет. ж. Армения, в печати.
3. Наринкянтоп Р. А., Тулькес С. Г., Воркикова Н. К. и др. Вопросы вирусол. 27, 23, 1982.
4. Харитоненков Н. Г., Полатов В. И., Рунге Э. К. Мол. биол., 19, вып. 5, 1035—1043.
5. Davies W. B., Granger D., Hall R. P. Science, 144, 862—863, 1964.
6. Dineen E. Ed., Herrmann L., Cockley W. T. Biochem pharmacol., 36 (4), 481—487, 1987.
7. Kell N. S., Knight G. T. J. Virol., 31, 251—263, 1978.
8. Seeman P. Pharmacol. Rev., 24 (4), 83—855, 1972.
9. Skehel J. J., Hay A. V., Armstrong V. A. J. Gen. Virol., 38, 97, 1977.
10. Tverdislov V. A., El Karadagi S., Khartonenkov I. G. Gen. Physiol. and Biophys., 5 (1), p. 61—77, 1986.

Поступило 11.IV 1989 г.

Биодет. ж. Армения, № 1, (43), 1990

УДК 577.1

СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КРОВИ (ГЕМОГЛОБИНА) ЖИВОТНЫХ ПОД ДЕЙСТВИЕМ РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ

Г. М. МИНАСЯН, Дж. М. ДЖАВРШЯН, А. С. ОГАНЕСЯН

Институт биохимии АН АрмССР, Ереван

Облучение рентгеновское—радикалы—гемоглобин

Ранее нами было показано, что при общем однократном облучении (в дозе 800 р) у экспериментальных животных (белые крысы) повышается чувствительность мембран эритроцитов и усиливается их разрушение [2]. Известно, что при облучении рентгеновскими лучами в тканях животных образуются многочисленные радикалы, которые, атакуя белки, липиды и в первую очередь тиоловые соединения, вызывают выраженные структурные изменения в клеточных мембранах, что соответствующим образом приводит к снижению физиологической активности клеток. При этом преимущественно страдают клеточные мембраны—разрушаются белок-белковые и белок-липидные связи и в результате нарушаются их проницаемость и метаболические процессы, что в конечном итоге приводит к снижению клеточной активности.

Целью настоящего сообщения явилось изучение изменения содержания радикалов в крови, образующихся после общего однократного облучения рентгеновскими лучами (800 р) белых крыс, и также интенсивности ПОЛ.

Об интенсивности ПОЛ судили по накоплению в сыворотке крови МДА [1]. Радикалы в крови определяли методом ЭПР спектроскопии (электроно-парамагнитный резонанс).

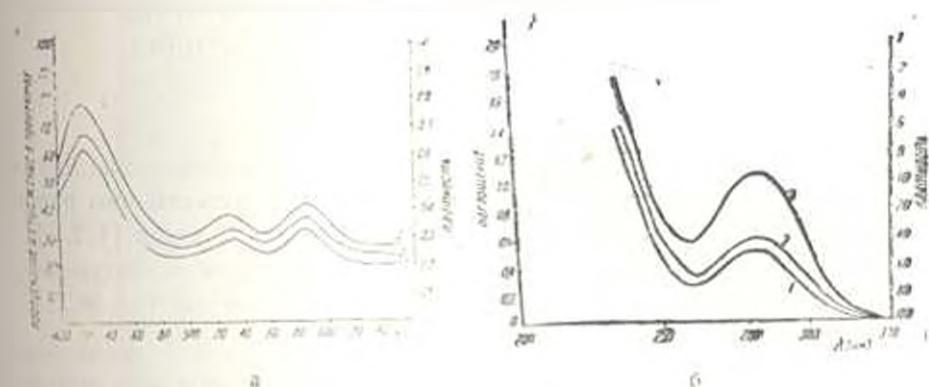
Сокращения: ПОЛ—перекисное окисление липидов, МДА—малондиальдегид.

Результаты и обсуждение. В таблице приведены данные, показывающие развитие патофизиологических отклонений и динамики—лейкопении, эритропении, гипогемоглобинемии и другие явления, приводящие к развитию выраженной лучевой болезни и гибели экспериментальных животных.

Влияние рентгеновского облучения на количество форменных элементов крови и на содержание гемоглобина у белых крыс при экранировании почек

Дни после облучения	Контрольные крысы			Крысы с экранированными почками		
	Количество лейкоцитов в мм ³	Количество эритроцитов в мм ³	Содержание гемоглобина, %	Количество лейкоцитов в мм ³	Количество эритроцитов в мм ³	Содержание гемоглобина, %
Норма	6800	5 100 000	89			
3	4800	5 100 000	89	3500	4 800 000	86
4	3800	4 800 000	83	2800	4 550 000	79
5	2800	4 200 000	74	2556	4 100 000	72
6	2100	3 750 000	65	2400	3 800 000	68
7	1000	3 200 000	62	2100	3 100 000	65
8	950	2 750 000	32	2300	3 500 000	70
9	800	2 050 000	22	2600	4 200 000	72
15	—	—	—	3000	4 300 000	71
20	—	—	—	3550	4 200 000	80
25	—	—	—	4500	4 600 000	83
30	—	—	—	5500	4 850 000	84

ных животных (через 8—9 дней после облучения). Между тем при экранировании почек указанные явления выражаются в легкой форме и смертность экспериментальных животных резко снижается. После облучения наблюдается увеличение спектра свободного гемина в сыворотке крови, что сопровождается снижением содержания гемоглобина в эритроцитах (табл., рис. а). С другой стороны, было установлено повышение содержания МДА в сыворотке крови (на 65%).



а. Спектр изменения содержания свободного гема в цельной крови (а) и сыворотке (б) при рентгеновском облучении (800 р) у белых крыс. 1—контрольные крысы 2—облучение с экранированием области почек, 3—общее облучение.

На основании результатов настоящих, а также наших прежних исследований можно сделать предположение, что радикалы, образовавшиеся под воздействием ионизирующего излучения, атакуя эритроциты (а также клетки других тканей), вызывают выраженные структурные

изменения в их мембранах, в частности, стимулируя свободнорадикальное перекисное окисление фосфолипидов, приводящее к повышению содержания МДА в сыворотке крови. Структурные изменения мембран эритроцитов приводят к повышению их проницаемости и выходу гемоглобина из них в сыворотку крови, что, по-видимому, является причиной повышения содержания геминна в ней (рис. 6). В этих условиях имеет место также выраженное разрушение эритроцитов (наряду с подавлением гемопоэза) с последующим развитием эритропении. Следует отметить, что при экранировании почек вышеуказанные эффекты облучения проявляются в легкой форме, и в течение короткого времени (примерно через 30 дней) постепенно восстанавливаются нормальная картина и общее состояние экспериментальных животных. Экранирование других частей тела животных (с эквивалентной поверхностью) не предотвращает развитие лучевой болезни у них.

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю. А., Арчиков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972
2. Микасян Г. М., Оганесян А. С. Биолог. ж. Армении. 36, 2, 171—173, 1984

Поступило 10.II 1989 г.

Биолог. ж. Армении, № 1.(43) 1990

УДК 616.36—092:537.2

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКОГО ПОЛЯ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ КРЫС

Г. Г. АРЦУНИ, Р. А. ДОВЛАТЯН, А. В. ЗИЛЬФАРЯН

Ереванский государственный медицинский институт, ЦНИЛ

Печень—электростатическое поле.

Ранее нами было показано, что ЭСП приводит к интенсификации липидной пероксидации, нарушению окислительно-восстановительного равновесия и изменению энергетического обмена печеночной ткани [1, 2, 5].

Целью настоящего исследования явилось изучение структурных и метаболических параметров печеночной ткани при воздействии ЭСП.

Материал и методика. Опыты проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 120—150 г. ЭСП напряженностью 2000 в/см создавали при помощи установки конденсаторного типа с контролирующими параметрами [3]. Исследовали влияние ЭСП на структурно-метаболические параметры печени при часовом, суточном и дробном воздействии (6 сут по 6 ч ежедневно). Сразу после пребывания в поле животных убивали, печень после соответствующей обработки окрашивали общепринятыми гистологическими и гистохимическими методами гематоксилин-эозином, по Шабадашу на гликосен, на NH₂-группы белка по Исаева-Итчинава [6]. Параллельно готовили свежемороженые криостатные срезы для выявления ацидной фосфатазы

Сокращения: ЭСП—электростатическое поле.

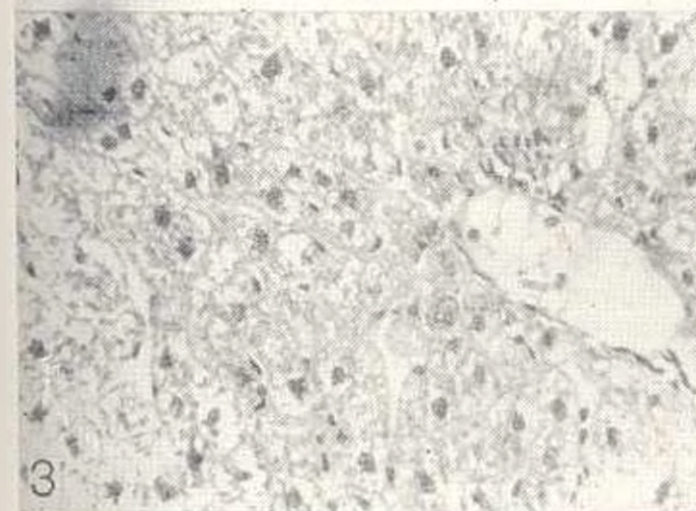
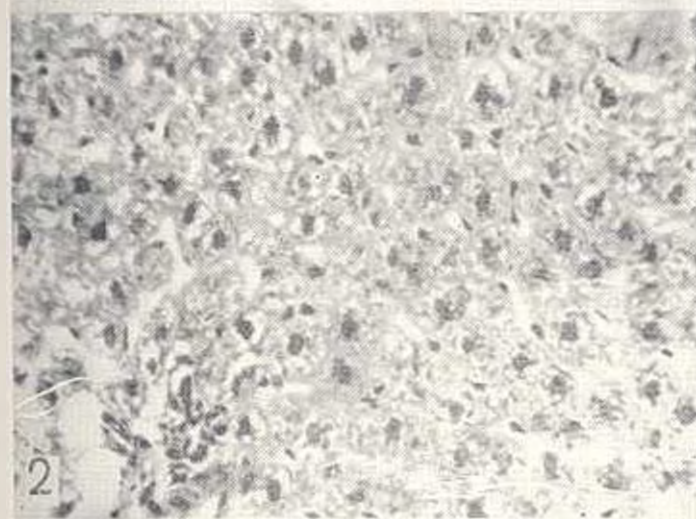
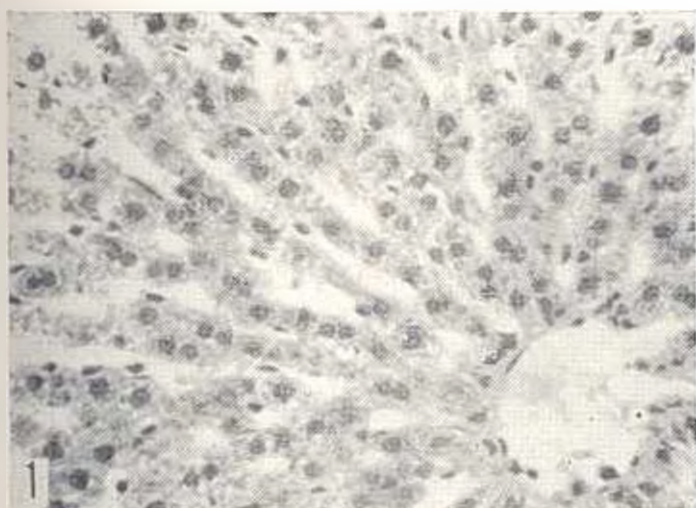


Рис. 1. Печень крысы, подвергнутой воздействию ЭНЭ. Нормальная ангиоархитектоника органа без явных структурных нарушений.

Рис. 2. Гидропическая дистрофия гепатоцитов при подвержении суточной экпозиции.

Рис. 3. Выраженная дисколоризация соединительной ткани с явлениями капиллярита и некроза после недельной экпозиции ЭНЭ. На рис. 1—3 окраска гематоксилином эозина, об. $\times 20$, ок. $\times 10$.

4]. Качественная оценка активности фермента осуществлена на микроцит-фотометре. С этой целью в микроскоп вводили монохроматический луч с длиной волны 550 нм, который устанавливали на приставке к микроскопу (Sprecol). В предварительно выбранных полях проводили замер 50 печеночных клеток. Активность фермента выражали в условных единицах поглощения: данные статистически обрабатывали.

Результаты и обсуждение. Как показали результаты исследований, при однократном воздействии ЭСП в печени происходят морфогистохимические изменения, которые свидетельствуют о повышении синтетических и метаболических процессов в гепатоцитах. Структура органа сохраняется, встречаются единичные участки дискомплексации печеночных балок, где преобладают дистрофически измененные клетки (рис. 1). По всей паренхиме органа обнаружено заметное повышение ШИК-положительного материала в цитоплазме гепатоцитов. Исключительно все клетки богаты зернами NH_2 -групп белка.

Количественный цитофотометрический анализ активности кислой фосфатазы выявил ее достоверное снижение по сравнению с контрольными показателями ($59,7 \pm 0,63$ против $70,8 \pm 0,7$ в контроле).

Суточное пребывание животных в поле характеризовалось заметным нарушением структуры и функции печени. Дольчатое строение печени было полностью нарушено (рис. 2). Цитоплазма большинства гепатоцитов была резко вакуолизирована, отмечались признаки вакуольной и жировой дистрофии. На отдельных участках паренхимы печеночные клетки распадались. Следует отметить, что цитоплазма эндотелиальных клеток в основном характеризовалась сравнительно низким содержанием ШИК-положительного материала и NH_2 -групп белка. Однако при суточном воздействии ЭСП заметно увеличивалась активность кислой фосфатазы. Высокая активность фермента выявлена как в цитоплазме гепатоцитов, так и в эндотелии микрососудов. Обращает на себя внимание тот факт, что фермент распределен по всей цитоплазме печеночных клеток в виде интенсивно окрашенной гомогенной массы. Количественный подсчет активности кислой фосфатазы также выявил ее увеличение по сравнению с контрольными показателями ($84,7 \pm 0,25$ против $70,8 \pm 0,7$ в контроле).

Структурные и метаболические сдвиги в печеночной ткани при дробном и суточном воздействии ЭСП носили односторонний характер. Однако помимо отмеченных нарушений при дробном воздействии выявлены изменения и в системе микроциркуляции органа, что выражалось в расширении центральных вен и микрососудов триад (рис. 3). Эндотелий сосудов набухает, наблюдается выраженная периваскулярная инфильтрация нейтрофильных лейкоцитов. Содержание гликогена, NH_2 -групп белка в цитоплазме печеночных клеток снижается. В отдельных очагах паренхимы зерна гликогена обнаружить не удалось. При окраске на кислую фосфатазу наблюдался двойной характер в распределении и активности фермента: чередование печеночных долек с высокой активностью (в виде зерен) с участками паренхимы со сравнительно

низкой активностью фермента. Количественная оценка активности кислой фосфатазы выявила снижение ее по сравнению с контролем ($65,4 \pm 0,17$ против $70,8 \pm 0,7$).

Таким образом, проведенные исследования показали, что ЭСП вызывает структурно-метаболические изменения в печеночной ткани, характер и степень которых находится в зависимости от длительности пребывания животных в поле. Одночасовая экспозиция в ЭСП характеризуется активацией печеночной ткани, что, по-видимому, следует рассматривать как одно из проявлений адаптационно-приспособительной реакции организма в ответ на воздействие внешнего физического фактора. Суточное и дробное воздействие ЭСП приводит к выраженным органическим и функциональным нарушениям печеночной ткани, причем при дробном воздействии в процессе вовлекается и микроциркуляторное звено органа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арцруни Г. Г., Мамладян М. М., Саякян Р. А. Биолог. ж. Армения, 31, 11, 1185—1188, 1980.
2. Арцруни Г. Г., Тер-Маркосян А. С. Биолог. ж. Армения, 31, 7, 1978.
3. Арцруни Г. Г. Конф. мол. уч. посвещ. XXV съезду КНСС. 15, Ереван. 1976.
4. Берстон М. Гистохимия ферментов. 215, М., 1965.
5. Мкртчян С. Л., Арцруни Г. Г. Биолог. ж. Армения, 31, 7, 1978.
6. Пирс Э. Гистохимия. М., 1962.

Поступило 11 III 1989 г.

Биолог. ж. Армения, № 1 (43) 1990

УДК 612.821.6

МЕТОДИКИ ИЗУЧЕНИЯ ЭЛЕМЕНТАРНОЙ РАССУДОЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ У БЕЛЫХ КРЫС

Л. Г. КАЗАРЯН, Ж. С. САРКИСЯН, Н. Р. МАДАТОВА,
А. А. ГАРИБЯН, Л. М. КАРАПЕТЯН

Институт зоологии АН АрмССР, Ереван

Условный рефлекс—условный раздражитель—Т-образный и У-образный лабиринты.

В 1912—1913 гг. в докладе на Обществе русских врачей И. П. Павлов писал: «...Все наши классификации, все наши законы всегда более или менее условны и имеют значение только для данного времени, и условиях данной методики, в пределах наличного материала» [2]. Это указание И. П. Павлова дало импульс для разработки методик по изучению поведения животных. В большинстве из них поведение животного программировалось самим экспериментатором, и реакции носили автоматизированный характер. Однако дальнейшее наблюдение за поведением животных показало, что при использовании некоторых методик возможно изучить и новые стороны мозговой деятельности. В связи с этим ниже приводится описание методик, позволяющих животному совершать активное действие, проявляя элементарную рассудочную деятельность [1].

Сущность первой методики заключалась в том, что крысы обучались из двух отсеков Т-образного лабиринта выбирать белый отсек, где находилась пища.

Т-образный лабиринт состоял из длинного коридора, начинающегося стартовым отсеком, и перпендикулярно расположенного к нему коридора, состоявшего из двух отсеков: правого, окрашенного в белый цвет, и левого, черного. Перпендикулярная часть лабиринта была подвижной, и экспериментатор имел возможность поворотом его на 180° менять расположение этих отсеков (рис. 1). При выработке двигательного

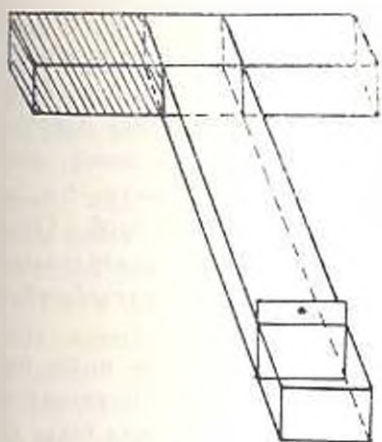


Рис. 1.

Рис. 1. Изображение Т-образного лабиринта.

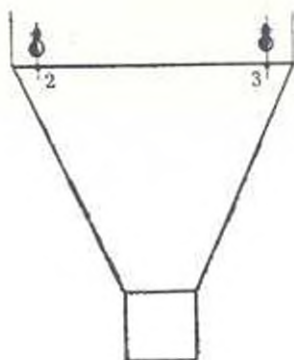


Рис. 2.

Рис. 2. Схематическое изображение Y-образного лабиринта. 1 — стартовый отсек; 2, 3 — левая и правая поилки с источником света.

поведения животное пробегало по длинному коридору и на участке перекрещения со вторым коридором само активно выбирало белый отсек. Так как экспериментатор имел возможность менять местоположение отсеков, то крыса каждый раз сама должна была найти белый отсек с пищей. Работа начиналась с того, что крыса помещалась в стартовый отсек, затем открывалась дверца (условный раздражитель) и животному предоставлялась возможность выйти в длинный коридор. Пробегая по этому коридору, она доходила до перпендикулярного коридора и путем анализа черно-белого соотношения выбирала белый отсек, независимо от его местоположения.

Таким образом, у животного сначала вырабатывалась обычная реакция на открывание дверцы (условный раздражитель), затем реакция на соотношение раздражителей («белый—черный»), которая и являлась формой реакции, расцениваемой нами как элементарная рассудочная деятельность.

Интактные крысы обучались почти безошибочно выбирать сторону подкрепления уже на третий день, после применения 15—29 проб [3].

Вторая методика, которая применялась нами, основана на выработке двигательных ориентационных реакций у крыс. Опыты проводились в Y-образном лабиринте со стартовым отсеком (рис. 2). Камера имела

форму усеченного треугольника. На передней стенке ее на расстоянии 120 см от старта справа и слева были проделаны отверстия, в которые вставлялся кончик поилки. Рядом с каждой поилкой вмонтирована лампочка. Условный раздражитель (направленный свет электрической лампочки в 60 Вт) сигнализировал сторону подкрепления. В момент подачи условного раздражителя открывалась дверца стартового отсека, крыса входила в камеру, и, сама определив сторону подкрепления, подходила к поилке и получала воду. В течение всего периода проведения экспериментов производили 48-часовую депривацию крыс. Животные имели неограниченный доступ к сухой пище и только во время опыта получали воду.

На первом этапе обучения у животных вырабатывали навык побежки к левой поилке. Крысу помещали в стартовый отсек. При подаче условного сигнала (свет левой лампочки) открывалась дверца стартового отсека, крыса входила в камеру и подходила к левой поилке для получения воды. Время экспозиции условного сигнала—5 с, интервал между сигналами—1—1,5 мин. В каждом опыте—5 проб. Опыты проводили до достижения принятого критерия (100% правильных ответов из 10 проб). О правильности ответов судили по кратчайшей траектории побежки животного к месту подкрепления.

На втором этапе обучения повторяли описанную выше процедуру выработки навыка с той разницей, что теперь условный сигнал предъявляли всегда справа, и крыса при его появлении должна была бежать к правой поилке. После достижения принятого критерия мы приступали к третьему этапу выработки условного рефлекса. В случайном порядке по схеме Геллермана предъявляли условный сигнал то слева, то справа. Схема Геллермана содержала порядок предъявления разных поворотов, позволяющих избегать показателей, зависящих от склонности крысы сворачивать в одну сторону или от склонности к простому и парному чередованию направлений. Интактные животные достигали критерия обученности в среднем после применения 100 проб.

Оценка местоположения питьевого подкрепления и кратчайшая траектория побежки к нему являлись формой реакции, рассматриваемой нами как элементарная рассудочная деятельность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Крушинский Л. В. Биологические основы рассудочной деятельности. М., 1977.
2. Павлов И. П. Полное собр., т. 1, М., 1949.
3. Саркисян Ж. С., Казарян Л. Г., Боякян О. А. Биол. ж. Армении, 35, 1, 17, 1982.

Поступило 4.IV 1989 г.

К МЕТОДИКЕ УЛУЧШЕНИЯ ГОРНЫХ ЛУГОВ

П. В. ШАТВОРЯН, А. Ш. ГАЛСТЯН, Ж. В. АВАКЯН

Ереванский зоотехническо-ветеринарный институт

Луга горные—методика улучшения.

Типы естественных горных лугов формируются под влиянием высоты местности над уровнем моря, рельефа, экспозиции и крутизны склона. Как считал Раменский [1], луговая растительность в природе чаще изменяется закономерно, не подчиняясь закону случайного распределения. Т. А. Работнов указывает «опыты... лучше закладывать на небольших, но однородных площадях, нежели на больших и неоднородных». Шерба [2] считает, что на делянках площадью 2—5 м² можно проводить многолетние опыты с удобрениями. Согласно Шур-Багдасарян [3], в альпийском поясе средний урожай, полученный с учетной площади 1 м² при 20-кратной повторности, составлял 263 г сена, а 3-кратной—261 г.

С 1951 г., с начала проведения опытных работ по улучшению естественных кормовых угодий в Армянской ССР делянки составляли 1, 10, редко 20 м² при четырехкратной повторности. Однако детальное изучение строения фитоценозов, подвергавшихся улучшению, показало, что уже на 0,25 м² горных лугов встречаются все основные виды растений, характеризующие данный тип луга.

Впервые нами проведены исследования по выявлению величин опытных делянок и их повторности, позволяющих определить урожай и видовой состав лугов.

Материал и методики. Исследования проводили в субальпийском поясе Вазгенского хребта на лесных сенокосах и пастбищах совхоза Азатек Азизбековского района Армянской ССР.

Опытный участок находился на высоте 2550 м над ур. м. на широко распространенном влаково-разнотравном лугу с преобладанием и травяное пырея ползучего и ежи сборной, распространенных на среднекрутых маломощных склонах. Полюсы субальпийские, горно-луговые, слабодерновыс, типичные.

Исследования проводили на распространенной методике проведения опытов на сенокосах и пастбищах, предложенной Всесоюзным НИИ кормов им. В. Р. Вильямса. Учет урожая проводили на всех делянках одновременно в период сенокосной спелости травостоя на высоте 7 см. Полученные данные по урожаю, для сравнения, переводили в ц/га по всем вариантам. По всем годам данные опыта подвергали вариационной статистике и определяли НСР. Средние образцы пробных снопов сена подвергали качественно-групповому анализу—отдельно выделяли злаковые, бобовые и группу разнотравья; определяли процент их участия в травостое для сравнения вариантов.

Результаты и обсуждение. Как показывают данные таблицы, разница в урожае и групповом составе сена вариантов опыта с делянками 1 м² при восьмикратной повторности, 10 м² и 50 м² при четырехкратной повторности по всем годам опыта незначительна. В урожай они состав-

Урожай и хозяйственно-групповой состав сена в зависимости от величины опытных делянок и повторностей

Годы проведения опыта	Делянки 1 м ² , повторность 8-кратная					Делянки 10 м ² , повторность 4-кратная					Делянки 50 м ² , повторность 4-кратная				
	Средний урожай, ц/га		Групповой состав, %			Средний урожай, ц/га		Групповой состав, %			Средний урожай, ц/га		Групповой состав, %		
			-----					-----					-----		
	НСР	1 к	бобовые	разно- травные	НСР	1 к	бобовые	разно- травные	НСР	1 к	бобовые	разно- травные	НСР	1 к	бобовые
1985	17,3	0,90	71,6	6,6	21,8	16,8	1,16	73,0	6,3	20,7	17,5	1,30	69,9	7,0	23,1
1986	21,2	0,97	73,5	4,3	19,5	20,8	1,24	76,5	6,3	17,8	22,0	1,36	74,8	6,7	19,5
1987	13,5	0,70	76,9	5,3	16,4	13,1	0,93	75,7	4,2	20,1	14,3	1,00	79,2	4,8	16,0
1988	18,5	0,96	67,7	6,7	25,6	18,8	1,23	69,4	5,9	24,7	19,5	1,36	70,8	7,3	21,9
Всего	20,5		291,1	25,9	83,3	69,5		295,6	22,7	83,3	73,3		294,7	25,8	79,4
в сред.	17,6		72,8	6,5	20,8	17,3		73,0	5,7	20,8	18,3		73,7	6,5	19,9

ляет от 0,9 до 0,98%, а в хозяйственно-групповом составе—от 0,8 до 0,9%.

Результаты исследований приводят к выводу, что в условиях мозаичного горного рельефа Армянской ССР, если невозможно выделить участки с однородным травостоем данного типа луга для проведения крупноделяночных опытов, то без ущерба для результатов можно ограничиться небольшими площадями с однородным травостоем и использовать делянки величиной 1 м² при восьмикратной и 10 м² при четырехкратной повторности.

Поступило 21.IX 1989 г.

Биолог. ж. Армении, № 1.(43).1990

УДК 577.1

ВЛИЯНИЕ ГА₃ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЗЕРНА ПШЕНИЦЫ В М₁ И М₂

О. Х. ТАДЖИРЯН

Ереванский государственный университет, кафедра цитологии и генетики

Ключевые слова: гибберелловая кислота пшеницы—биохимический состав.

Изучение действия ГА₃ на пшеницу сорта Безостая 1 методом предпосевной обработки семян выявило наиболее эффективную для этой культуры концентрацию (0,02% при 4-часовой экспозиции), оказывающую значительное стимулирующее действие на рост и развитие растений на протяжении всего периода вегетации и обеспечивающую повышение урожайности и улучшение качества урожая не только непосредственно после обработки семян (М₁), но и в первом семенном поколении обработанных растений (М₂) [1, 3, 4].

Целью настоящей работы было изучение действия выделенной эффективной концентрации ГА₃ на биохимические показатели зерна пшеницы, выращенной в производственных, как в неполивных (К и М₁), так и в поливных (К, М₁ и М₂), условиях.

Материал и методика. Опыты проводили на пшенице сорта Безостая 1 в лаборатории биохимии микроорганизмов Научно-исследовательского геоботанического института аминокислот (НИТИА) в двух повторностях по 5—6 проб в каждой.

Анализировали урожай растений, выращенных на непосредственно обработанных ГА₃ семян (М₁) в неполивных (1985 г.) и поливных (1986 г.) условиях, и урожай первого семенного поколения (М₂) растений, выращенных из обработанных в 1985 году ГА₃ семян.

Изучали содержание белка, общего, белкового и небелкового азота и крахмала в муке пшеницы.

Общий азот определяли микрометодом Кьельдаля [2]. При извлечении крахмала применяли несколько модифицированный метод Пьючера—крахмал экстрагировали из муки пшеницы хлорной кислотой и осаждали в виде йодного комплекса, затем его разлагали и гидролизовали до глюкозы, которую определяли методом Бертрапа. Пи ко-

Сокращения: ГА₃—гибберелловая кислота; К—контроль.

Сокращения: ГА₃—гибберелловая кислота; К—контроль.

Белок определяли следующим образом: навеску пшеничной муки (10 мг) помещали в маленькие узкие пробирки, куда добавляли 1 мл 2% Na_2CO_3 + 0,1 М NaOH , pH 10—11 (реагент Фолина-Чикольте). После этого с помощью ультразвука (8×30 с на каждую пробу) экстрагировали белок (ультразвук марки В BRAUN, Melsungen A. G.). Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре (PERKIN-ELMER 550 S, UV/VIS Spectrophotometer) методом двухволновой спектрофотометрии при 224—236 нм [6]. По количеству белка судили о содержании белкового азота в муке, делая это на коэффициент 5,7 [2]. Суммарное количество небелковых азотистых соединений определяли по разности общего и белкового азота [2].

Статистическую обработку проводили традиционными методами количественного анализа [5].

Результаты и обсуждение. Полученные данные свидетельствуют о значительном влиянии GA_3 на химический состав зерна пшеницы сорта Безостая 1. Количество белка и общего азота в муке пшеницы обработанных вариантов превосходило контроль, а содержание крахмала, наоборот, уступало ему (табл.).

Влияние гиббереллина GA_3 на некоторые биохимические показатели пшеницы сорта Безостая 1 в неполивных и поливных условиях. ‰

Условия культиви- рования	Варианты опыта	Белок	Общий азот	Крахмал	Белковый азот	Небелковый азот
Неполивные	Контроль	$12,44 \pm 0,188$	$2,35 \pm 0,031$	$72,94 \pm 1,708$	$2,18 \pm 0,032$	$0,17 \pm 0,007$
	0,02% $\text{GA}_3 \text{ M}_1$	$14,58 \pm 0,159$	$2,77 \pm 0,030$	$62,57 \pm 1,773$	$2,56 \pm 0,029$	$0,21 \pm 0,007$
Поливные	Контроль	$11,06 \pm 0,125$	$2,08 \pm 0,018$	$70,99 \pm 1,36$	$1,94 \pm 0,011$	$0,14 \pm 0,010$
	0,02% $\text{GA}_3 \text{ M}_1$	$12,70 \pm 0,176$	$2,41 \pm 0,031$	$65,25 \pm 0,975$	$2,23 \pm 0,028$	$0,16 \pm 0,012$
	0,02% $\text{GA}_3 \text{ M}_2$	$12,54 \pm 0,107$	$2,37 \pm 0,024$	$66,34 \pm 0,861$	$2,20 \pm 0,019$	$0,17 \pm 0,008$

В неполивных условиях у растений, выращенных из непосредственно обработанных GA_3 семян, содержание белка и общего азота оказалось выше контроля соответственно на 2,14 и 0,42‰, а количество крахмала, наоборот, ниже на 10,36‰.

Аналогичную картину мы наблюдали в поливных условиях как у растений, выращенных из непосредственно обработанных GA_3 семян (M_1), так и в 1 семенном поколении (M_2) растений, выращенных из обработанных GA_3 семян в неполивных условиях. Разница между M_1 и К составляла соответственно 1,64 и 0,33‰, а между M_2 и К—1,48 и 0,29‰.

Действие GA_3 более эффективно в M_1 . Количество белка и общего азота в M_1 выше аналогичных показателей в M_2 соответственно на 0,16 и 0,04‰, содержание крахмала, наоборот, ниже на 1,09‰.

В непосредственно обработанном GA_3 варианте (M_1) количество белкового азота в муке пшеницы, выращенной в неполивных условиях, превосходит контроль на 0,38‰.

В поливных условиях также по отношению к контролю лучше себя проявили обработанные семена: как в M_1 , так и M_2 . Разница между M_1 и К составляла 0,29‰, а между M_2 и К—0,26‰. Выявлена разница и между M_1 и M_2 , действие GA_3 лучше проявилось в растениях M_1 .

По суммарному количеству небелковых азотистых соединений обработанные ГА₃ варианты также превосходили контроль.

Как в неполивных, так и в поливных условиях в муке пшеницы, выращенной из непосредственно обработанных семян, содержание небелкового азота было на 0,04% выше контроля. Аналогичная картина наблюдалась и в М₂ и поливных условиях.

Полученные данные подтверждают положительное действие ГА₃ на биохимический состав зерна. Они позволяют предположить, что разница между контролем и обработанными ГА₃ растениями в содержании крахмала в М₁ и М₂ как в неполивных, так и в поливных условиях обусловлена свойством гиббереллина стимулировать выделение фермента α -амилазы в эндосперм, что и ведет к распаду запасного крахмала.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бегларян Н. П., Таджирян О. Х. Биолог. ж. Армении, 11, 4, 339—340, 1988.
2. Плешков Б. П. Практикум по биохимии растений, 3—8, 34—35, 130—133, 1976.
3. Таджирян О. Х., Бегларян Н. П. Биолог. ж. Армении, 11, 2, 159—161, 1988.
4. Таджирян О. Х., Бегларян Н. П. ЕГУ, 3, 169, 124—127, 1988.
5. Урбах В. Ю. Биометрические методы, 1964.
6. Determination of Moial Protein by Garry L. Peterson. Methods in Enzymology 91, 95—119, 1983.

Поступило 9.XI 1989 г.

Биолог. ж. Армении, № 1.(43).1990

УДК 599.423.426.591

ЗИМОВКА ОБЫКНОВЕННОГО ДЛИННОКРЫЛА *MINIOPTERUS SCHREIBERSII* KULL. 1819., НА ТЕРРИТОРИИ АРМЕНИИ

Э. Г. ЯВРУЯН, Л. В. СОГОМОНЯН, Д. Э. ЯВРУЯН

Ереванский государственный университет, кафедра зоологии

Фауна Армении—длиннокрыл обыкновенный—зимовка.

В отечественной литературе отсутствуют достоверные данные относительно зимовок обыкновенного длиннокрыла на территории СССР [1, 2, 4—6]. Наоборот, с той или иной степенью категоричности отмечается: «На зиму улетает за пределы СССР» [3]; или: «В нашей стране на зиму длиннокрылы, видимо, совсем не остаются» [4]; или: «Экземпляры, остающиеся на юге Армении на зимовку, погибают» [2], что сравнительно ближе к истине. Целью нашей работы являлось уточнение имеющихся данных о зимовке обыкновенного длиннокрыла на территории Армении.

Результаты наших наблюдений за обитателями пещеры «Кармир-Блур», начатые еще в 1959 году, подтверждают все то, что писали указанные выше авторы. Поэтому, докладывая на конференции «Фауна и ее охрана в республиках Закавказья» [7] о результатах наблюдений в этой пещере, мы отметили, что обыкновенные длиннокрылы используют ее как остановочный (перевальный) пункт при перелетах. Зимую-

ют же там остроухие починцы — *Miotis (oxygnathus) blythi* и подковоносы Мегели — *Rhinolophus mehelyi*. Так, еще осенью 1969 года в пещере можно было насчитать более 350 остроухих починцев, 80—90 подковоносов Мегели и 25—30 обыкновенных длиннокрылов, а уже в 1972 году их число снизилось соответственно до 190, 28 и 10. Осенью же 1974 года удалось насчитать всего соответственно 124, 14 и 6 зверьков этих трех видов [7].

К концу 1974 года пещера стала местом частого посещения местными жителями, и в 1975 году в ней не осталось на зимовку ни одного зверька какого-либо вида. Однако зимы 1976-77 и 1977-78 годов явились поворотными в исследовании данного вопроса. Если до этого наблюдались лишь единичные неудачные попытки зимовки длиннокрыла, то в 1976-78 гг. их присутствие отмечалось в пещере «Кармир Блур» круглый год (табл.). К сожалению, эта пещера с весны 1979 года

Хронология наблюдений за рукокрылыми в пещере «Кармир Блур» (1976—78 гг.)

Дата	Время пол.	Подковонос Мегели		Подмыший подковонос		Остроухая починца		Обыкновенный длиннокрыл		Бурый ушан	
		п	пол	п	пол	п	пол	п	пол	п	пол
1976 г	9.11	—	—	4	♂	19	♂	39	♂ ♀	—	—
	11.12	—	—	—	—	21	♂ ♀	17	♂ ♀	—	—
	19.01	—	—	—	—	20	♂ ♀	17	♂ ♀	—	—
	4.02	—	—	—	—	18	♂ ♀	11	♂ ♀	—	—
	7.03	—	—	—	—	18	♂ ♀	3	♂ ♀	—	—
	12.04	—	—	—	—	33	♂ ♀	—	—	—	—
	8.05	32	♀ ♀	—	—	125	♂ ♀	40	♂ ♀	1	♂
	17.05	—	—	—	—	200	♂ ♀	71	♂ ♀	—	—
	24.05	—	—	—	—	135	♂ ♀	49	♂ ♀	—	—
	9.06	—	—	9	♂	170	♂ ♀	5	♂ ♀	6	♂ ♀
1977 г	10.07	2	♂	—	—	170	♂ ♀	55	♂ ♀	—	—
	22.08	2	♂	—	—	170	♂ ♀	51	♂ ♀	—	—
	22.09	—	—	6	♂	170	♂ ♀	55	♂ ♀	—	—
	26.09	—	—	6	♂	170	♂ ♀	55	♂ ♀	—	—
	9.11	—	—	26	♂	320	♂ ♀	124	♂ ♀	—	—
	11.12	—	—	—	—	20	♂ ♀	120	♂ ♀	—	—
	13.01	—	—	—	—	320	♂ ♀	120	♂ ♀	—	—
1978 г	7.02	—	—	—	—	320	♂ ♀	100	♂ ♀	—	—
	11.03	—	—	—	—	320	♀	21	♂ ♀	—	—
	14.01	—	—	3	♂	120	♂ ♀	21	♂ ♀	—	—
	23.05	—	♂	—	—	250	♂ ♀	64	♂ ♀	2	♂ ♀
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Примечание: 1. Количество зверьков более 100 в таблице приближительное (± 10); 2. буква «г» с цифрой означает число найденных трупов зверьков.

виона стала местом регулярного посещения разного рода любителями экзотики. Сейчас там лишь изредка в теплое время года на короткий период задерживаются остроухие починцы. Что касается обыкновенных длиннокрылов, то они нами затем были зарегистрированы лишь в ноябре 1978 и в апреле 1985 года. В промежутке же между 1979 и 1985 годами и до настоящего времени обыкновенные длиннокрылы, как, широ-

чем, и другие виды, ранее обычные в пещере, стали появляться эпизодически и всего на несколько дней.

Зимовка обыкновенных длиннокрылов в 1984-86 годах совместно с большими подковоносами — *Rhinolophus ferrum-equinum* и остроухими ночницами — *Miotis (loxynathus) blythi* была отмечена также в Хатунархской пещере (Октемберянский район). За период декабрь—февраль 1984-85 гг. там зимовали 19 ♂♂ и ♀♀, а за тот же период 1985-86 гг. — 37 ♂♂ и ♀♀ обыкновенного длиннокрыла.

Зима 1987-88 гг. была богата неожиданностями, так как в пещере «Магели зага» (с. Арени, Ехегнадзорский р-он) за период с 4 ноября до 5 декабря 1987 года совместно с большими *R. ferrum-equinum* и ложными подковоносами (*R. euryale*) нами были обнаружены обыкновенные длиннокрылы. Причем из трех групп зверьков (в 17, 36 и 42 особи), локализованных в разных участках пещеры, две (17 и 36 ♂♂ и ♀♀) держались вместе с большими подковоносами в зале «Южных подковоносов», а группа в 42 особи — отдельно, под куполом «Центрального» зала. Эта последняя группа (42 особи) была в глубоком оцепенении, тогда как первые две группы были сравнительно активны, но и они даже после 45-минутного освещения и фотографирования не пытались улететь. Южные же, а затем и большие подковоносы уже минут через 12—17 после работы в пещере начали активно летать.

Неожиданностью явилось и то, что в пещере «Магели зага» присутствие обыкновенного длиннокрыла отмечено впервые, хотя эта пещера под нашим постоянным наблюдением находится с 1960 года. Однако уже 6 декабря 1987 года в связи с общим потеплением в АрмССР длиннокрылы, впрочем, и многочисленные колонии больших и южных подковоносов покинули пещеру «Магели зага». В пещере мы обнаружили одиночек (♂♂ большого подковоноса (12 особей), а также 6 ♂♂ и 1 ♀ южного подковоноса. Длиннокрылов же (более 200) совместно с большими подковоносами (около 450) случайно удалось обнаружить благодаря помощи членов клуба альпинистов «Арагац» в убежище «Песочные часы». Здесь, по всей вероятности, они зимуют не первый год, так как дно убежища под четвертым сводом второго лабиринта сплошь покрыто почти метровым слоем гуано этих зверьков.

Считаем необходимым отметить, что лет длиннокрылов — теплое время года в течение ряда лет на территориях Ехегнадзорского и Азизбековского районов нами отмечался неоднократно, однако обнаружить их временные убежища или места зимовок не удавалось из-за сложности проникновения в убежище «Песочные часы».

Основываясь на приведенных выше данных, на наш взгляд, можно пересмотреть бытующее представление о зимовках обыкновенного длиннокрыла на территории СССР, в частности, в Армении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Громов И. М., Биранова Г. И. Каталог Млекопитающих СССР. Л., 1981.
2. Дель С. К. Животный мир Армянской ССР. 141—146, Ереван, 1954.
3. Кузнецов Б. А. Определитель позвоночных животных фауны СССР. 3. Млекопитающие. М., 1975.
4. Кузьян А. П. Летучие мыши. М., 1950.
5. Сатунян К. А. Знание и геогр., 9, 38—82, 1904.

6. Стрелков Ш. П. Каталог Млекопитающих СССР. Рукокрылые. Л., 1981.
7. Яворский Э. Г., Барсегян А. А. Мат-лы конф. «Фауна и ее охрана в республике Закавказья». 175—177, Ереван, 1975.

Поступило 21.II 1989

Биолог. ж. Армении, № 1 (43), 1990

УДК 635.54:581.51

АНАТОМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОРНЕЙ БРИОНИИ БЕЛОЙ

Л. В. РЕВАЗОВА, А. С. КАРАГЕЗЯН, А. Г. ПАНОСЯН

Ереванский государственный медицинский институт. Институт радиологии
МЗ АриССР, Ереван

Бриония белая—анатомия корней—кукурбитацины.

Бриония белая (*Bryonia alba* L., *Cucurbitaceae*) — пореступень белый — широко распространенное на территории Армении многолетнее лазящее с помощью усиков травянистое растение с сильно утолщенными корнями, пятиугольными листьями, однодомными цветками, черными плодами (шаровидными трехгнездными ягодами, обыкновенно с 2 семенами в каждом гнезде). Семена слегка сплюснутые. Растение ядовитое. Встречается в среднегорной зоне на каменистых местах в окрестностях Еревана, Севанском (на Гюссе до 2000 м), Абовянском (Гарни), Арташатском (Боз-Бурун), Алазбекском, Мегринском, Степанаванском, Туманянском районах. Декоративно, возможна культура [1, 5]. Корни брионии белой беловатого цвета, весят до 20 кг, нередко имеют разветвленную, напоминающую человеческую фигуру форму, обладающую широким спектром фармакологической активности, издавна применяются в официальной и традиционной медицине многих стран, а также в гомеопатии при ряде заболеваний различной этиологии [3, 6].

Сведения о фармакологической активности брионии белой многочисленны, но зачастую противоречивы, что можно объяснить сложностью химического состава (до недавнего времени не выясненного), неодинаковостью испытываемых доз и недостаточностью данных о биохимических механизмах фармакологического действия препаратов.

В настоящее время химический состав корней брионии белой изучен достаточно полно. Основными компонентами его являются кукурбитацины и их гликозиды, пентациклические тритерпеновые кислоты и липиды: моно- и дигликозидглицериды, фосфидиглицериды, фосфатидилхолин, стерины и их производные.

Фармакологические испытания показали, что гликозиды кукурбитацинов оказывают тонизирующее, иммуностимулирующее и противоаллергическое действие. Кукурбитацины повышают устойчивость мышей к стафилококковой инфекции, фракция триглицидов октадиеновых кис-

лот повышает тонус гладкой мускулатуры, подобно простагландинам, проявляет стимулирующее, тонизирующее, антистрессорное, гипогликемическое действие и препятствует образованию сгустка крови [4].

Из корней брйонии белой получен новый тонизирующий препарат «Лощтак», представленный в фармкомитет МЗ СССР [4].

Анатомическое исследование корней брйонии белой продиктовано необходимостью создания ИТД на лекарственное растительное сырье для производства препарата.

Материал и методика. Исследования проводили на корнях брйонии белой, размягченных методом холодного размачивания в смеси вода—глицерин—спирт (1:1:1), окрашенных в 1%-ном растворе сафранина в 50%-ном спирте и промытых подкисленным спиртом. Микроскопический анализ проводили на временных препаратах в глицерине.

Результаты и обсуждение. При микроскопическом исследовании поперечного среза корня брйонии белой виден толкий слой коры и широкая древесина.

Покровная ткань представлена тонким слоем пробки, клетки которой расположены тангентально в несколько рядов. Под ним расположены светло-желтые клетки вторичной коры, в паренхиме которой находятся одиночные кристаллы оксалата кальция (округлые, пилочковидные, таблеччатые). Между корой и ксилемой видно кольцо камбия. Основная часть древесины состоит из паренхимной ткани, клетки которой округлые, клетка угловатые, заполнены запасными питательными веществами, представленными простыми и сложными крахмальными зернами. Зерна овальной, округлой формы. В паренхиме видны такжеместилища со слизистым содержимым (окрашиваемые суданом-3). В паренхимной ткани радиально расположены крупные сосуды пористого и сетчатого типа. Диаметр сосудов неодинаков, наиболее крупные сосредоточены в ранней древесине—кольцесосудистого типа. Сосуды могут быть одиночными или встречаются группами до 10 и более. Изолированные сосуды имеют округлые или овальные очертания, сосуды, расположенные группами, уплощены вдоль линии их контакта друг с другом. Сосудисто-волокнистые пучки биколлатерального типа, открытые. Порошок из очищенного сырья желтоватого цвета. Под микроскопом видны обрывки паренхимы, клетки которой содержат большое количество крахмальных зерен, и обрывки сосудов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Золотницкая С. Я. Лекарственные ресурсы флоры Армении. 2, 284, Ереван, 1966.
2. Никитин А. А., Панкова Н. А. Анатомический атлас полезных и некоторых ядовитых растений. 505, Л., 1982.
3. Пакосян А. Г., Аветисян Г. М. Арм. хим. ж., 38, 10, 644—655, 1985.
4. Пакосян А. Г. Автореф. докт. дисс., Ереван, 1985.
5. Флора Армении. 5, 47, Ереван, 1965.
6. ФС 42—143—72. Radix Bryoniae albae recens. Корень плющеплода белого (брйонии белой) свежий.

Поступило 13.11 1989 г.

ДЕЙСТВИЕ ФОСФОЛИПАЗЫ A_2 НА АЦЕТИЛХОЛИН- ВЫЗВАННЫЕ ИОННЫЕ ТОКИ, ТРАНСПОРТ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ И РУБИДИЯ

Т. М. МАРТИРОСЯН, С. С. ДАДАЛЯН, С. Н. АИРАПЕТЯН

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР

Исследовано влияние ацетилхолина на вход ионов кальция (^{45}Ca) и рубидия (^{86}Rb) в нейроны виноградной улитки как в нормальных условиях функционирования клеточной мембраны, так и после обработки ее фосфолипазой A_2 (ФЛ- A_2).

Результаты экспериментов показали, что АХ стимулирует поступление внеклеточного Са в нейроны. Ингибирование Na-насоса приводит к устранению эффекта ацетилхолина. Для выяснения зависимости входа Са от фосфолипидного окружения мембранных белков ганглии предварительно обрабатывали фосфолипазой. Обнаружено, что в этих условиях действие АХ полностью нейтрализуется. Из этих данных следует также, что влияние АХ на вход ионов Са зависит как от исходного состояния Na-насоса, так и от фосфолипидного микроокружения мембраносвязанных ферментов.

Результаты опытов по изучению входа рубидия в клетки свидетельствуют о важной роли липидного компонента в модуляции чувствительности Na-насоса ацетилхолином. Если в нормальных условиях различные дозы АХ подавляют вход ^{86}Rb приблизительно на 40%, то предварительная обработка нейронов фосфолипазой приводит к усилению указанного эффекта в 2–3 раза, причем ФЛ- A_2 как бы упорядочивает влияние АХ (чем выше концентрация АХ, тем сильнее вызываемый им эффект).

Электрофизиологические эксперименты, проведенные на одиночных нейронах улитки, выявили подавляющий эффект ФЛ- A_2 на АХ-вызванные ионные токи. Удаление из среды ФЛ- A_2 предотвращало дальнейшее снижение АХ-ответа, но восстановления первоначального ответа при этом не происходило, т. е. вызываемые фосфолипазой изменения носят необратимый характер.

Таким образом, на основе полученных данных можно полагать, что фосфолипаза A_2 модулирует влияние ацетилхолина как на вход ионов кальция, так и на функцию Na-, K-насоса, кроме того, она необратимо подавляет АХ-ответы клеточных мембран виноградной улитки.

10 с., 3 ил., библиогр. 12

Полный текст статьи деп. в ВИНИТИ. № 7124–В 89 от 29.11.89 г

Поступило 28.VIII 1988 г

СИНТЕЗ ПОЛОНИКОВИДНОЙ ПШЕНИЦЫ НА ГЕКСАПЛОНДНОМ УРОВНЕ *TRITICUM* L.

С. Х. ГАЛСТЯН-АВАНЕСЯН

Сланинская зональная опытная станция НИИЗ Госагропрома АрмССР

В ходе исследований по формообразованиям у гибридов пшеницы наблюдаются формообразовательные процессы видообразующего характера.

Методом принудительного скрещивания около 80 различных комбинаций, где участвовали разные генотипы (с исключением пшеницы полоником—*Triticum polonicum* L.), получены разные гибридные формы. В статье анализируются результаты параллельного ресинтеза полониковидной пшеницы на гексаплондном уровне—*T. aestivum* L. supsp. *hexapolonicum* Avan ($2n=42$).

За критерий полониковидности принимались сравнительная удлиненность боковых (колосковых) чешуй, а также обязательная выравнивание уровня боковых чешуй с уровнем центральных цветков в колосках.

Становление гексаполоникомов протекает ступенчато и завершается в старших поколениях, что указывает на сложность определения полониковидности.

Характерно, что у всех полониковидных форм, независимо от их родительской, колосья оказались довольно рыхлыми ($D=10.8-13.8$). Полученные формы в основном не отличались между собой и по конфигурации зернышек: у большинства они оказались довольно удлиненными и крупными со стекловидной в той или иной степени консистенцией.

Исходя из полученных обширных материалов, выдвигается тезис о полной возможности ресинтезирования всех видов пшеницы полиплондных рядов.

10 с. библиогр. 19 назв.

Полный текст статьи деп. в ВИНТИ, № 7127—В 89 от 29.11.89 г.

Поступило 13.11.1989 г.

К ВОПРОСУ О ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ СОХРАНЕНИЯ ВСХОЖЕСТИ СЕМЯН *TRITICUM* L.

А. С. ПЕТРОСЯН, Л. С. МКРТЧЯН

Армянский сельскохозяйственный институт, Ереван

Известно, что полиморфизм рода пшеницы, включающий диплоидные, тетраплоидные и гексаплоидные виды, оказывает существенное влияние на продолжительность сохранения всхожести семян.

Для определения всхожести старых семян изучали более 200 образцов диких и культурных, плечатых и голозерных форм пшениц 21 вида. Семена проращивали на фильтровальной бумаге в чашках Петри, в термостате при температуре 24° (ГОСТ 12038-84).

Материал собран из разных экологических зон Армении: Эчмиадзин (Аракатская равнина, 800 м над ур. моря); Паракар (предгорье Аракатской равнины, 900 м); Ботанический сад Академии наук АрмССР (1000 м); Котайк (предгорье Аракатской равнины, 1400 м); Горис-Кестут (Зангезурская зона); Егегнадзор (Даралагязская зона, 1250 м); Гарни-Тегард (предгорная зона, 1500 м).

Исследован также материал, имеющийся в проблемной лаборатории генофонда культурных растений и из диких сородичей АрмССР (1988 г.).

На семенах 9 образцов вида *T. araraticum* установлено, что в пределах вида продолжительность сохранения жизнеспособности зерна пшеницы зависит от условий выращивания растений.

Дикие пленчатые тетраплоидные виды *T. dicoccoides*, *T. araraticum* сохраняли всхожесть (66,6—93,7%) в течение 10—13 лет; семена диких, пленчатых диплоидных видов *T. boeoticum* и *T. urartu* — на 75,0—95,7% в течение 10—13 лет.

Из культурных пленчатых видов пшеницы у разновидности *T. molitorum* всхожесть семян после 10—13-летнего хранения составляла 81,2—95,0%. Семена тетраплоидных видов *T. israhoniticum*, *T. paleo-colehicum*, *T. timopheevi* после 13-летнего хранения сохраняли высокий процент всхожести (90,5—95,6%). У семян культурных пленчатых гексаплоидных видов пшеницы после 13—14 лет хранения она составляла 61,7—100%.

Аналогичные данные получены и у видов пшеницы *T. turgidum*, *T. petropavlovskii*, *T. compactum*, *T. aestivum*, *T. sphaerococcum*.

Таким образом, изучение всхожести диких и культурных, пленчатых и голозерных видов пшеницы показало, что полная всхожесть у семян 12—13-летней давности составляет 73,3—50%.

По мере увеличения продолжительности хранения всхожесть семян снижается.

На продолжительность сохранения всхожести семян в значительной мере влияют экологические условия.

9 с. табл. 3. библиогр. 11 назв.

Полный текст статьи деп. в ВНИИТИ № 7129 В 89 от 29.11.89 г.

Поступило 23.11.1989 г.

Бюлл. ж. АрмССР № 1, (43), 1990

УДК 635.25:631.563.632.4

ЗАЩИТА МОРКОВИ ОТ АЛЬТЕРНАРИОЗА И СТЕМФИЛИОЗА

Л. Г. ТАМРИЗЯН, С. Г. АМИРХАНИЯ

Институт защиты растений Госагропрома АрмССР, пос. Мерцван

Использован химический метод защиты при выращивании и хранении моркови сорта Пантекая 4 от альтернариоза *Alternaria tenuis* Nees ex Fries и стеффилиоза *Stemphylium Hirs* Tengwa. в Ахурянском районе АрмССР. При этом применены препараты контактного и системного действия из группы медьсодержащих производных бензимидазола и ди-

тиокарбаминовой кислоты. Проведены протравление семян, осенне-весенняя обработка маточников и опрыскивание растений моркови первого года.

Из протравителей семян наиболее эффективными, обеспечивающими значительное повышение урожая растений (1,2—1,6 раза), явились цинеб, фито, поликарбацин, полихом (н. р. 5 г/кг), исходя из чего эти препараты рекомендуются как заменители ТМТД-эталона в районном возделывании моркови в республике.

При осенне-весеннем протравлении маточников моркови из использованных препаратов наиболее эффективной оказалась смесь цинеб (1,5%) с ТМТД (1,5%): количество сгнивших корнеплодов снизилось на 20%, урожайность семян повысилась на 48% по сравнению с контролем. Кроме указанной смеси, почти на уровне эталона (ТМТД 8 г/кг) были цинеб (3%), поликарбацин (1%), ТМТД (3%) и смеси поликарбацин (1,5%) + ТМТД (1,5%), цинеб (3%) + ТМТД (3%).

Растения моркови, обрабатываемые в течение вегетации цинебом, фитоном, поликарбацином (0,1%) и бордосской жидкостью (1%), оказались наиболее устойчивыми к болезням в период хранения.

6 — библиогр. 7 назв

Полный текст статьи деп. в ВНИИТН, № 7126 В 89 от 29.11.89 г.

Поступило 20.III 1989 г.