

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ
ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ
Հ Ա Ն Դ Ե Ս

БИОЛОГИЧЕСКИЙ
Ж У Р Н А Л
АРМЕНИИ

Журнал издается с 1946 г., выходит 12 раз в год

на армянском и русском языках

Айстапи кенсабанакан анлес

Հայաստանի կենտրոնական հանդիսը, հրատարակում է Հայկական ԽՍՀ Գիտությունների ակադեմիայի հրատարակչությունը և արտադրում է հայկական բուսաբանություն, կենդանաբանություն, բժշկություն, կենսաբանություն, կենսաֆիզիոլոգիա, մանկավարժություն, զենասիրական և ընդհանուր և կրթական կենսագրություն այլ բնագավառների վերաբերյալ:

Թափանցողիկն է Տ. Ռ. 10 կ.: Թափանցողությունն անցնում է Ստանդարտի բյուրոյի քննարկմանը:

«Հայաստանի կենտրոնական հանդիսը» — научный журнал, издаваемый Академией наук Армянской ССР, публикует оригинальные статьи по ботанике, зоологии, физиологии, биологии, психологии, антропологии, генетике и другим отраслям общей и прикладной биологии.

Подписная цена за год 8 руб. 10 коп. Подписки на журнал: можно производить во всех отделениях Союзпечати.

Խմբագրական կոլեկտիվ է. Գ. Աֆրիկյան (պատվոք խմբագիր), Ս. Մ. Ազատյան, Վ. Ե. Զեյ-
տրյան, Յու. Ռ. Արսենյան, Հ. Գ. Բակրաջյան, Մ. Ա. Դավթյան, Ժ. Ի. Զաքարյան, Ե. Ս.
Հարությունյան (պատվոք օգնական խմբագիր), Ռ. Ն. Հարությունյան, Վ. Հ. Կարաբյան,
Գ. Ա. Կանգրյան, Վ. Գ. Կարամյանյան, Ս. Մ. Մովսիսյան (պատվոք խմբագիր անդակալ):

Խմբագրական խմբակ է. Գ. Աֆրիկյան (խմբագիր), Ն. Ն. Արսենյան, Վ. Ե. Ազատյան,
Հ. Ս. Աֆրիկյան, Է. Մ. Կարամյան, Ա. Ա. Կարաբյան, Ա. Ի. Կարաբյան, Գ. Ա. Կարաբյան,
Ս. Մ. Կարաբյան, Է. Ի. Կարաբյան, Է. Ս. Կարաբյան, Ա. Ա. Կարաբյան, Մ. Ե. Կարա-
բյան, Վ. Ս. Կարաբյան:

Редакционная коллегия: Э. К. Африкян, (главный редактор), Ц. М. Аветян, В. Е. Авет-
исян, Ж. Н. Акрамян, К. Т. Алексанян, Г. С. Арутюнян (ответственный секретарь),
Р. М. Арутюнян, Г. Г. Бакалавджян, П. А. Гандилин, М. А. Давтян, В. О. Казарян,
К. Г. Карамян, С. О. Мовсесян (заместитель главного редактора).

Редакционный совет: Э. К. Африкян (председатель), А. С. Аветян, М. Ш. Агабабян,
Н. Н. Акрамянский, Э. Ц. Габриелян, А. А. Галоян, Л. С. Гамбарян, А. А. Матевосян,
М. Г. Оганесян, Л. Т. Оганесян, К. С. Погосян, А. Л. Тухтаджян, П. А. Хуршудян,
М. Х. Чаклахан.

Технический редактор Л. А. Азизбекян

Сдано в набор 16.07.90 г. Подписано к печати 19.09.90 г.

Бумага № 2, сыктинкарская. Формат 70×108/16. Высокая печать.

Печ. лист. 6,54-1 вкл. Усл. печ. лист. 7.7

Учет-пзд. 6,41. Тираж 720 Заказ 324. Издэт.

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.

ՈՆՆՆԵՐԱՏՆԵՐ

Ազադեյան Ա. Լ., Չախի Ա. Մ., Դավթյան Մ. Ա. Պրոլիերի օրիգամման ֆեմինոները լորտի բնականի թրթուռների և հարմարակի ստոր	532
Չախի Ա. Մ. Արսրանյան Ա. Լ., Դավթյան Մ. Ա. Պրոլիերի կենսականի ֆեմինո- ների որոշ հատկությունները լորտի բնականի մոտ	533
Սիմոնյան Ա. Ս. Կապոյի բրտապիտոցիտների որոշ ստանձնումը և կոմպենսցիաները նախալին ստանձնումների և որոշ հիպոթիալաների դեպքում	534

СОДЕРЖАНИЕ

Баклавиджян О. Г., Казарян Н. А., Адамян Ф. А. Электрофизиологическая ха- рактеристика висцеросенсорных нейронов ядра солитарного тракта при раз- дражении латерального гипоталамуса	453
Григорян С. С., Баклавиджян О. Г. Микроэлектрофизиологическое изучение представительства вестибулярной афферентной системы в гипоталамусе	459
Ананьевы А. В., Аюкян Ж. Н., Мелик-Оганджян Р. Г., Мауринин Ю. А., Павлов Р. А., Лидак М. Ю. Аффинная очистка пуришуклеотидафосфорил- зы по методу А. И. Ингибирующий эффект некоторых аналогов пуриновых субстратов	465
Зихарян Р. А., Бакуни К. А., Геворкян М. Г. Фосфорилирование белков плаз- матической мембраны Са-деРНҚ как фактор, подавляющий адсорбцию вируса	472
Гюльханджян А. В., Гюкчакян Г. М. Механизмы регуляции индуцированной окис- ляющими агентами Са ²⁺ -зависимой катионной проводимости эритроцитов	477
Каралетян Р. О., Попова Т. В., Мурадян М. Ш., Галоян А. А. Влияние нейро- гормона «С» на захват ³ H-норадреналина срезами сердца крысы при бло- каде рецепторов	481
Аствацатуров В. А., Орунханян А. А., Торгонян Е. Х., Арустимян С. С., Мина- сян А. Р. Применение факторного анализа в целях изучения патогенеза первичной болезни у детей	489
Арунханян Г. М., Ширинян Г. С., Маргаросян К. Ю., Кочар Н. Р. Антропoge- ветическое исследование выходцев с территории исторической Армении Муш (жители Талишского района)	495
Аветисян А. Р. Темпы соматического и полового развития городских и сельских школьников 7—17 лет	501
Долиян А. С., Аюкян А. О., Мадоян М. А. Изменение активности супер- оксиддисмутазы и содержания тиоловых групп при хронической молибде- новой интоксикации	504
Оганесян С. Н., Бабалян А. Г. Образование оксидазы D-аминокислот плесневым грибом Aspergillus nidulans N-3 в зависимости от источников азота	508
Исаян Д. Г., Азнавурян А. В., Особенности строения ретикулярной стромы лимфатического узла	512

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Худавердян Д. Н., Тер-Маркосян А. С., Кишоян К. С., Геворкян Г. А. Влия- ние паратиреоидного гормона на транспорт Са ²⁺ в гладкомышечных эле- ментах сосуда	516
Минасян Г. А. Концепция механизмов цитопротективного и антисекреторного дей- ствия блокаторов кальция на слизистую оболочку желудка	518
Минасян Г. А. Концепция механизмов антисекреторного и противовоспалительного действия лития на слизистую оболочку желудка	521
Григорян Л. С. Иммунорегуляторное действие перекисей липидов	524
Казарян Н. А., Мадоян Д. Н. Уровень фосфолипидов, активность перекисле- ния липидов и фосфолипазы А при хроническом пылевом бронхите	525

<i>Адрикс А. П., Оганесян Г. Г., Арутюнян Р. М.</i> Оценка уровня микровизер в слизистой ротовой полости у больных аллергиями и здоровых лиц, проживающих в сельской местности	528
<i>Карабахян Р. Г.</i> Особенности гормонального статуса при юношеском гипоталамическом синдроме	530

РЕФЕРАТЫ

<i>Агаджанян А. Х., Заки А. М., Давтян М. А.</i> Ферменты окисления пролина у личинок и куколок фасоловой зерновки	532
<i>Заки А. М., Агаджанян А. Х., Давтян М. А.</i> Некоторые свойства ферментов биосинтеза пролина у фасоловой зерновки	533
<i>Симонян А. С.</i> Некоторые особенности морозостойчивости винограда при осенних морозах и заморозках	534

SUMMARY

<i>Baklavudjian O. G., Kazarian N. A., Adamian F. A.</i> Electrophysiological characteristics of the viscerosensor neurons of the nucleus tractus solitarius to stimulation of the postero-lateral hypothalamus	453
<i>Grigorian S. S., Baklavaglan H. G.</i> Microelectrophysiological investigations of the vestibular afferent system representation in hypothalamus	459
<i>Anan'ev A. V., Hakopian Zh. I., Melikogandjanyan R. G., Gharutash Yu. A., Raegle R. A., Lidak M. Yu.</i> Affined cleaning of <i>Pantoclis</i> sp. anthophilises gemma of rabbit. Inhibiting effect of some analogs of natural substrates	465
<i>Zakharian R. A., Bakunts K. A., Gevorgian M. G.</i> The straight dependence established between the levels of plasmatic membrane proteins phosphorylation and inhibition of the virus adsorption on L-cells	472
<i>Gyulghandanyan A. V., Geokchukyan G. M.</i> Mechanisms of regulation induced by oxidating agents Ca^{2+} -dependent potassium conductivity of erythrocytes	477
<i>Karapetian R. H., Popova T. V., Muradian M. Sh., Galoyan A. A.</i> The influence of neurohormone "C" on the uptake of noradrenaline- H^+ by rat heart slices at the blockade of receptors	483
<i>Astvatsatrian A. A., Ordukhanyan A. A., Torosian E. Kh., Aramian S. S., Mughaklan A. R.</i> The use of factor analysis for purpose of studying the pathogenesis of periodical disease of children	489
<i>Harutjunian R. M., Shtrichian G. S., Martirosian K. Yu., Kochkar N. R.</i> Anthropogenetical research of natives from the territory of historical Armenia. Mush. (inhabitants of Talin region)	493
<i>Avetisyan L. R.</i> Rates of somatic and sexual development of urban and village pupils from 7-17 years old	501
<i>Dollinian L. S., Avakian A. O., Madoyan M. A.</i> Activity changes of superoxid-dissmutases and contents of thiotic groups during chronic molybdenal intoxication	504
<i>Ogenesian S. H., Babayan A. G.</i> Formation of Oxidase D aminoacid growing mouldily of mushrooms depending from the nitrogen sources	508
<i>sahakian D. G., Aznaurtun A. V.</i> The particularity of structure of reticular stroma of lymphatic knot	512

SHORT COMMUNICATIONS

<i>Khudaverdian D. N., Ter-Markosian A. S., Kishotian K. S., Gevorgian G. A.</i> The influence of parateroid hormone on the transport Ca^{2+} on the smooth muscular vessel elements	516
--	-----

<i>Minassian H. A.</i> The concept of cytoprotective and antisecretory action mechanisms of calcium blockers to gastric mucous membrane	519
<i>Minassian H. A.</i> Mechanisms conception of antisecretory and anti ulcer activity of lithium on the mucus membrane of the stomach	521
<i>Grigorian L. S.</i> The immune-regulatory effect of lipid peroxides	521
<i>Kazarian P. A., Gladunian D. N.</i> The rate of phospholipids, the activity of peroxidase lipids and phosphatases A during chronic liver bronchitis	525
<i>Arian A. P., Oganessian G. G., Harutunian R. M.</i> Rate valuation of micronucleus in the mucus of the mouth cavity of patients with allergies and healthy persons living in rural places	526
<i>Karabukhtian R. G.</i> Hormonal status peculiarities of patients with infant hypotonic syndrome	530

ABSTRACTS

<i>Agajanian A. Lh., Zakl A. M., Davtian M. A.</i> Ferments of oxidation of larva proline and chrysalises of haricot grains	532
<i>Zakl A. M., Agajanian A. Kh., Davtian M. A.</i> Some characteristics of ferments of proline biosynthesis of haricot grains	533
<i>Simonian A. S.</i> Some peculiarities of frostresistance of grapes in spring frost	534

ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИСЦЕРОСЕНСОРНЫХ НЕЙРОНОВ ЯДРА СОЛИТАРНОГО ТРАКТА ПРИ РАЗДРАЖЕНИИ ЗАДНЕЛАТЕРАЛЬНОГО ГИПОТАЛАМУСА

О. Г. БАКЛАВАДЖЯН, И. А. КАЗАРЯН, Ф. А. АДАМЯН

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

Установлено, что при раздражении заднелатерального гипоталамуса нисходящее влияние его на висцеросенсорные нейроны ядра солитарного тракта осуществляется как моносиннаптическим, так и полисиннаптическим путем.

Կատսեւների մոտ քլորալոզային նարկոզի պայմաններում նեյրոնների արտաբևեռային գրանցման մեթոդով ախտահարվել է սոլիտար տրակտի կորիզի ռազմային իդենտիֆիկացված նեյրոնների բնույթը հետին լատերալ հիպոթալամոսի գրգռումից:

Փորձվել է, որ սոլիտար տրակտի կորիզի 50 իդենտիֆիկացված ռազմային նեյրոններից 58 (72,5%) -ը հետին լատերալ հիպոթալամոսի գրգռմանը պատասխանել են դրդող տիպի ռեպոնդայով:

Ստացված պատասխանները, ըստ զաղտերի շրջանների, կարելի է բաժանել 3 խմբի՝ կարճ (4—9 մվրկ.), միջին (10—19 մվրկ.), երկար (20 և ավելի մվրկ.) տևողությամբ: Ստատիստիկական նեյրոններից մի քանիսը պատասխանել են մինչև 50 ներք ռազմայինություն: Ելնելով վերոհիշյալից, կարելի է ենթադրել, որ հետին հիպոթալամոսի ազդեցությունը սոլիտար տրակտի կորիզի նեյրոնների վրա տեղի է ունենում ինչպես միասինապտիկ, այնպես էլ բազմասինապտիկ ուղիներով:

Responses of identified "vagal" neurons of the caudal visceroreceptive region of the nucleus tractus solitarius (NTS) to stimulation of the postero-lateral hypothalamus were recorded on anesthetized and immobilized cats. From 80 investigated units 58 (72,5%) neurons show excitatory responses of short (4—9 ms), middle (10—19), and long latency (20—70) ms. Possible projection from structure of posterior hypothalamus to the nucleus tractus solitarius is discussed.

Гипоталамус—ядро солитарного тракта—блуждающий нерв.

Известно, что влияние вагусной афферентной системы на активность нейронов гипоталамуса опосредовано сенсорными нейронами перинципного реле в области ядра солитарного тракта. О прямой проекции ядра солитарного тракта в гипоталамус свидетельствует ряд как

Сокращения: ЯСТ—ядро солитарного тракта.

гистоморфологических [12—15], так и электрофизиологических данных [1, 6, 10].

По данным ряда авторов, висцеросенсорные нейроны ядра солитарного тракта передают вагусные афферентные сигналы к структурам гипоталамуса через ретикулярную формацию ствола мозга [4, 5, 7].

Очевидно, гипоталамическая регуляция висцеральных функций обеспечивается не только интероцептивной афферентацией, но и механизмом гипоталамического контроля входа висцеросенсорных сигналов на уровне ядра солитарного тракта. В ряде гистологических и гистохимических исследований показаны прямые проекции гипоталамуса к структурам ЯСТ [3, 8]. Имеются и электрофизиологические данные о влиянии гипоталамуса на активность нейронов ЯСТ [11]. Показано, что электрическое раздражение медиальных структур гипоталамуса вызывает генерацию антидромных ответов у АСТ-нейронов и полисинаптических реакций висцеросенсорных нейронов в области ЯСТ. Однако в этих исследованиях не проведена идентификация входных нейронов и интернейронов вагусной афферентации системы ЯСТ. Исходя из этого, мы задались целью изучить влияние заднелатерального гипоталамуса на идентифицированные «вагусные» висцеросенсорные нейроны ЯСТ.

Материал и методика. Исследования проведены на котятах, паразитированных хлоралозой 55 мг/кг и обезьян, обезьяненных дитилином. Экстрацептивную регистрацию импульсной активности производили с помощью стеклянных микроэлектродов с диаметром кончика 1—2 мк, сопротивлением 3—5 МОм и электролитом 2М раствором цитрата калия. Микроэлектродное отведение активности нейронов ЯСТ проводили по координатам атласа Грантия [2]. Шейный отдел блуждающего нерва раздражали при помощи серебряных электродов с межэлектродным расстоянием 3 мм, а заднелатеральный гипоталамус — концентрическим электродом с межэлектродным расстоянием 0,5 мм, который вводили в заднелатеральный гипоталамус по координатам атласа Джаспера и Лимон Марсина [9]. Раздражение шейного отдела блуждающего нерва и заднелатерального гипоталамуса проводили одиночными, парными и частотными импульсами длительностью 0,5 мс, амплитудой 10—30 В. Механически раздражающих электродов контролировали морфологически. Статистическую обработку проводили по методу Ойнина.

Результаты и обсуждение. На начальном этапе исследования мы идентифицировали нейроны ЯСТ, которые отвечали на стимуляцию шейного отдела блуждающего нерва. Из исследованных 176 нейронов ЯСТ 80 (45,5%) реагировали на стимуляцию шейного отдела блуждающего нерва, а 71 (40,3%) отвечали возбuditельным типом реакции. Установлено также, что из 80 исследованных нейронов ЯСТ при раздражении заднелатерального гипоталамуса 58 (72,5%) реагировали возбuditельным типом реакции, 5 (6,25%) начальным торможением, а 17 (21,25%) оказались ареактивными. Возбuditельные ответы нейронов ЯСТ на раздражение как блуждающего нерва, так и заднелатерального гипоталамуса имели большой разброс латентного периода, который колебался в пределах 4—70 мс. Подробный анализ латентных периодов возбuditельных реакций нейронов ЯСТ показал (рис. 1), что по скрытым периодам начального разряда возбуди-

тельные реакции могут быть подразделены на 3 типа: коротколатентные (4—9 мс), реакции со средним скрытым периодом (10—19 мс) и длиннлатентные (20—70 мс).

На рис. 1 приведены реакции нейронов ядра солитарного тракта с начальным возбуждением и вторичным торможением с последующим восстановлением фоновой активности на одиночное раздражение

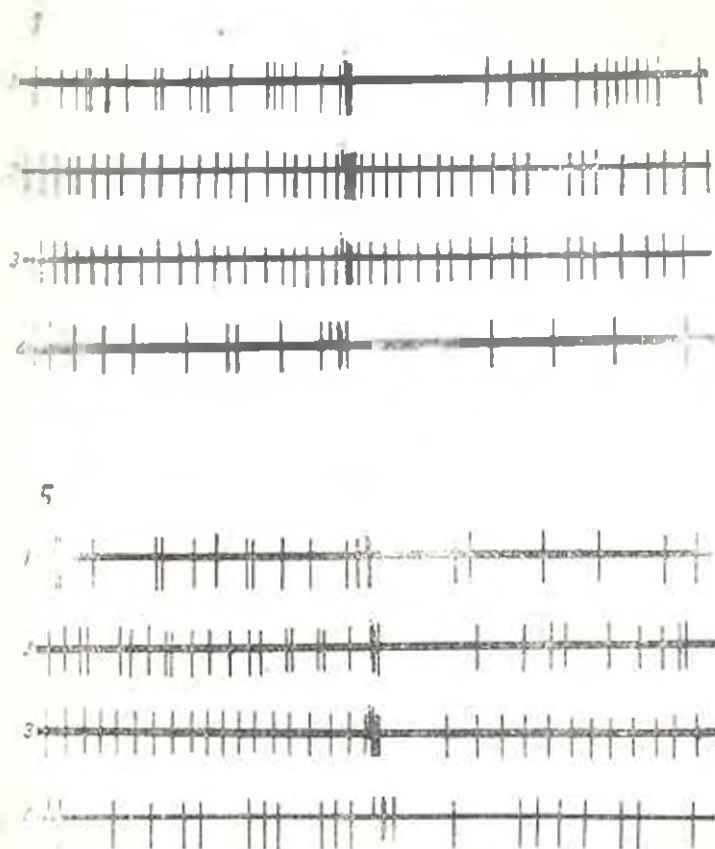


Рис. 1. Возбудительные реакции нейронов ядра солитарного тракта при одиночном раздражении (А) шейного отдела блуждающего нерва; (Б) заднелатерального гипоталамуса. На А 1—4—реакции на раздражение блуждающего нерва с латентными периодами 7, 18, 40, 60 мс; на Б 1—4—реакции на раздражение заднелатерального гипоталамуса с латентными периодами: 7, 12, 30, 62 мс соответственно. Калибровка: 250 мкВ, 100 мс.

шейного отдела блуждающего нерва (А) и заднелатерального гипоталамуса (Б). Коротколатентные ответы нейронов характеризовались латентным периодом 7 мс (осц А1, Б1). Среднюю латенцию ответов имели нейроны с латентным периодом 18 мс (А2) и 12 мс (Б2). К длиннлатентным ответам нейронов ЯСТ относятся нейроны с латентным периодом 40 и 30 мс (осц А3, Б3), 60 и 62 мс (осц А4 Б4) соответственно.

Идентифицированные вагусные нейроны ЯСТ исследовали на тетаническую стимуляцию заднелатерального гипоталамуса. На рис. 2

приведены реакции нейрона ЯСТ на стимуляцию шейного отдела блуждающего нерва частотой 0, 25, 1, 2, 5, 10, 20 Гц (А1-6) соответственно. Видно, что данный висцеросенсорный нейрон реагирует стимуля-

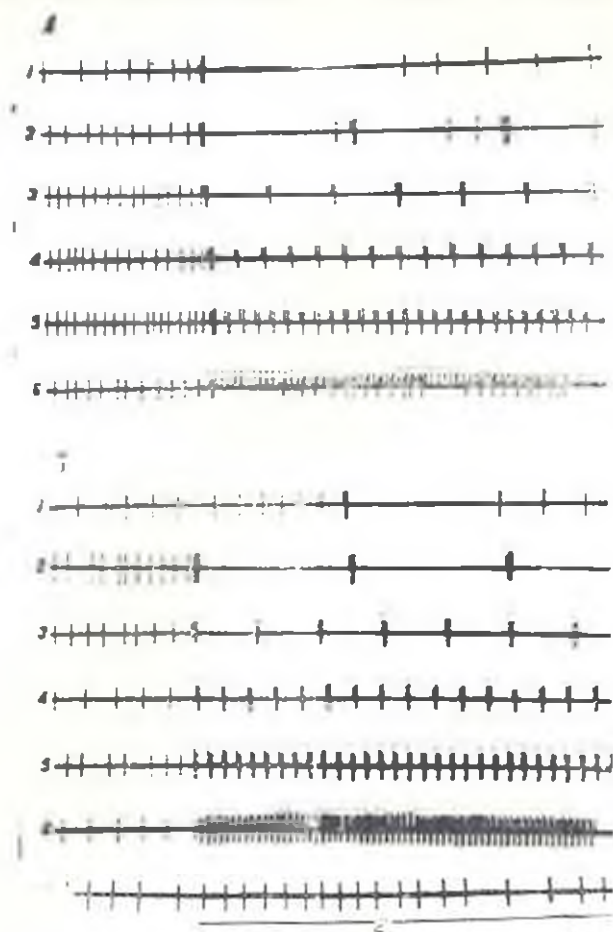


Рис. 2 Реакции нейрона ЯСТ на раздражение шейного отдела блуждающего нерва (А) и заднелатерального гипоталамуса (Б). На А 1—6—реакции на раздражение блуждающего нерва частотой 0,25, 1, 2, 5, 10, 20 Гц соответственно, на Б 1—7—реакции на раздражение гипоталамуса частотой 0,25, 2, 5, 10, 20, 50 и 100 Гц соответственно. Калибровка: 500 мкВ; 100 мс.

янными ответами только на частоту раздражения до 10 Гц (осц А5). На осциллограмме Б показана реакция того же вагусного нейрона на стимуляцию заднелатерального гипоталамуса частотой 0, 25, 2, 5, 10, 20, 50 и 100 Гц (осц Б1-7). Данный нейрон повторяет частоту раздражения до 50 Гц (Б6), что указывает, очевидно, на моносинаптическую природу реакции. Нейроны ЯСТ также тестировались на парную стимуляцию шейного вагуса (3А) и заднелатерального гипоталамуса (3Б). На осциллограмме А показаны реакции нейронов ЯСТ на одиночное и парное раздражение блуждающего нерва с интервалом 50 мс (осц. А1, 2) соответственно. На осциллограммах Б представлены реакции того же вагусного нейрона ЯСТ при одиночном (осц. Б1) и парном раздражении заднелатерального гипоталамуса (Б2-9). При парной стиму-

ляции в интервалах 5, 10 мс (осц Б2, 3) наблюдается ответ только на кондиционирующий стимул. Однако при интервале 20, 50, 60 мс (осц Б4-6) выявляются ответы на оба раздражения. При отставлении тестирующего стимула на 70, 100 мс (осц Б7-8) реакция на второй стимул отсутствует, а полное восстановление возбудимости нейрона наблю-

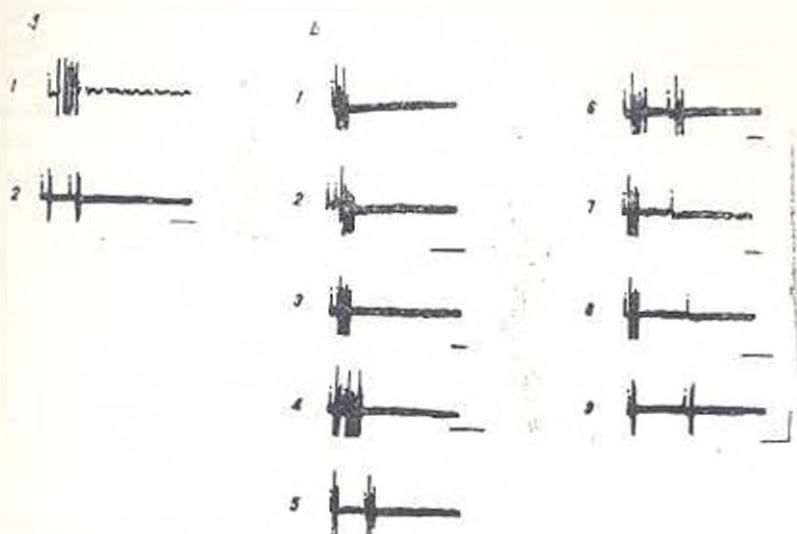


Рис. 3. Реакции вагусного нейрона ЯСТ на парную стимуляцию (А) шейного вагуса; (Б) заднелатерального гипоталамуса. На А 1—одиночное раздражение, 2—парное раздражение с интервалом 50 мс. Б 1—одиночное раздражение, 2—9 парное раздражение с отставлением 5, 10, 20, 50, 60, 70, 100, 200 мс соответственно. Калибровка: для А—50 мс; для Б (2, 3, 5—7) 20 мс; 4, 8—50 мс; 9—100 мкс; 100 мс.

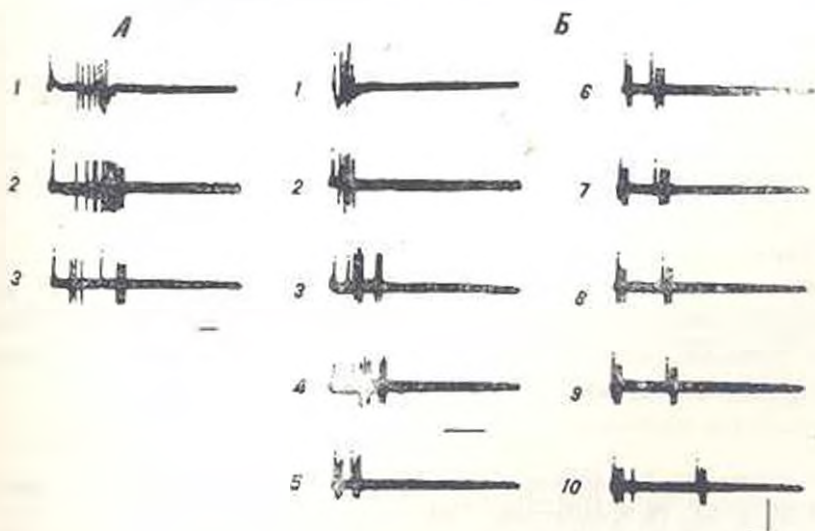


Рис. 4. Реакции нейронов ядра солитарного тракта на парное раздражение (А) шейного вагуса и (Б) заднелатерального гипоталамуса. На А 1—одиночное раздражение, 2—суперпозиция одиночного раздражения, 3—парное раздражение 50 мс. На Б 1—одиночное раздражение, 2—суперпозиция, 3—10 парное раздражение с интервалами 7, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90 мс соответственно. Калибровка: 250 мкс; 20 мс.

дается при интервале 200 мс (оси Б9) Цикл восстановления ответов некоторых «вагусных» нейронов на парное раздражение заднешлатерального гипоталамуса составил $200 \pm 70,7$ мс. Отдельные «вагусные» нейроны ядра солитарного тракта отвечали на тестирующие раздражения заднешлатерального гипоталамуса без фазы промежуточного торможения. На рис. 4А приведены осциллограммы реакций нейрона на одиночное (А1, 2) и парное (А3) раздражение блуждающего нерва. Тест-ответ нейрона вызывается при всех интервалах парного раздражения заднешлатерального гипоталамуса (Б3—10). Как показали результаты наших исследований, при раздражении заднешлатерального гипоталамуса вагусные нейроны ЯСТ в зависимости от латентных периодов условно можно разделить на три группы. Регистрация коротколатентных ответов с небольшой флюктуацией ЛП ($4,33 \pm 0,25$) предполагает моно-синаптическую передачу исходящего разряда гипоталамуса к «вагусным» нейронам ЯСТ. Это предположение подтверждается и тем, что при раздражении заднешлатерального гипоталамуса некоторые вагусные нейроны отвечают на частоту до 50 Гц.

Данные, полученные при парной стимуляции, показали, что некоторые «вагусные» нейроны ЯСТ отвечают на тестирующие раздражения заднешлатерального гипоталамуса при интервалах 7 и более мс.

Полученные результаты подтверждают результаты морфологических и гистохимических исследований, свидетельствующих о существовании прямых проекций между гипоталамусом и ЯСТ [3, 14, 15].

Наличие реакций нейронов ЯСТ со средним ($10,32 \pm 0,23$) и длинным ЛП ($11,89 \pm 2,88$) предполагает существование олиго- и полисинаптических путей реализации гипоталамического влияния на нейроны ЯСТ.

В ряде электрофизиологических и морфологических работ показано, что передача к нейронам гипоталамуса висцеральных сигналов происходит также сложной системой многоканального проведения вагусной афферентации [4, 5, 7]. Очевидно, гипоталамический контроль висцеральных функций осуществляется благодаря механизму даущих нейронных моно-олиго-полисинаптических каналов взаимодействия гипоталамуса и висцеросенсорных нейронов ядра солитарного тракта.

Таким образом, исходящее влияние заднешлатерального гипоталамуса на висцеросенсорные нейроны ЯСТ осуществляется многоканальной системой моно-олиго-полисинаптических путей, обеспечивая, очевидно, механизм обратной связи контроль висцеральной информации, поступающей в структуры гипоталамуса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бахлавиджян О. Г., Адамян Ф. А., Левтисян Э. А., Саркисян С. Г. Физиол. журн. СССР, 19, 8, 1100—1107, 1984.
2. Грантынь А. А. В кн.: Актуальные проблемы фармакологии ретикулярной формации и синаптической передачи, 165—166, 1963.
3. Березовский В. К., Кебкало Т. Г., Савоськина Л. А. «Нейрофизиология», 16, 3, 353—361, 1984.
4. Brodal A., Szabo T., Torvik A. J. Comp Neurol., 106, 2, 527—556, 1955.
5. Calaresu F. R., Ciriello J. Amer. J. Phys., 239, 1, 130—136, 1980.

6. Girello J., and Calaresu F. R. Neurosci. Abst. 5, 39, 1979.
7. Cottle M. K., and Calaresu F. R. Compar. Neurol. 161, 1, 1975.
8. Hosoya Y., Matsushita M. A. Brain Res., 214, 1, 144—149, 1981.
9. Jasper H., Asman Marsan G.—A. Stereotaxic atlas of the cat, Ottawa national connell, Canada, 1954.
10. Kannun H., Yamashita H. Brain Res., 329, 1/2, 205—212, 1985.
11. Nosaka S. Exp. Neurol., 85, 3, 493—505, 1984.
12. Ricardo J., Koh E. T. Brain Res., 153, 1, 1—26, 1978.
13. Sakumoto T., Toyhama M., Satou K. et al. Exp. Brain Res., 31, 1, 81—94, 1978.
14. Terreberry R. R., Neafsey E. J. Brain Res., 278, 245—249, 1984.
15. Van der Kooy D., Koda L. Y., Mc. Ginty J. F., Grefen C. R., Bloom F. E. J. Comp Neurol, 224, 1, 1—24, 1984.

Поступило 10 III 1989 г.

Биолог. журн. Армении, № 6, (131) 1990.

УДК 612.886+612.826

МИКРОЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЬСТВА ВЕСТИБУЛЯРНОЙ АФФЕРЕНТНОЙ СИСТЕМЫ В ГИПОТАЛАМУСЕ

С. С. ГРИГОРЯН, О. Г. БАКЛАВАДЖЯН

Ереванский государственный университет, кафедра физиологии человека и животных

На кроликах методом внеклеточного отведения исследованы эффекты одностороннего и парного раздражения ЛВЯ Дейтерса и вестибулярного нерва на активности нейронов гипоталамуса. Показано, что стимуляция ЛВЯ Дейтерса вызывает ответы трех типов: коротколатентные (2,5—4,0 мс), ответы средней латенции (6—8 мс) и длиннолатентные ответы (11—18 мс).

Коротколатентные ответы регистрировались из задней гипоталамической области. Они воспроизводят высокую частоту раздражения, свидетельствуя о существовании моносинаптической связи ЛВЯ Дейтерса с нейронами задней гипоталамуса. Раздражение вестибулярного нерва вызывает реакции нейронов преимущественно из среднего и заднего гипоталамуса.

Վարդանիկի փր արտաբերչային միկրոէլէկտրոֆիզիոլոգիական հետազոտութիւններէ մեթոտի օգտօյամբ ստումնատիգիկ են հիպոթալամուտի ներքոններէ պատտախանները Դէյտերսի վետիբուլար կորիգը և վետիբուլար ներքի մեկական ու որոյն որդորիկներով գրգռելիս:

Գարգիկ և որ Դէյտերսի կորիգի գրգռումներն առայացնում են երեք տիպի պատտախաններ՝ կարճ (2,5—4 մվ), միջին (6—8 մվ) և երկար (11—18 մվ)։ Կարճ զադտերի շրջանով պատտախանները գրանցվել են հետին հիպոթալամիկ շրջանից՝ որոնք վերարտադրվել են որդուման մեծ առախակաւտթիւններով։ Սա ապացոյց է Դէյտերսի վետիբուլար կորիգի և հետին հիպոթալամուտի միջև որդորիկ տեսնող մետսինապսիկ կապերի առկայութեան։

Վետիբուլար ներքի գրգռումները առաւտխան սեւեցիաներ են առայացնում միջին և հետին հիպոթալամիկ կորիգներում։ Պատտախաններէ փոկտալին ախտիթիւթիւնը գտնվում է հետին հիպոթալամուտում։

The responses (reflexes) of the hypothalamus neurons, Dater's vestibular nucleus and the vestibular nerve irritating with single or pair irritants were studied on rabbits by means of the extracellular microelectrophysiological investigation method.

It has become clear that Dater's nucleus irritations bring about three types of responses—short (2.5—4mv), middle (6—8mv) and long (11—18mv).

The short series cycle responses have been recorded from the posterior hypothalamic region, which reproduce great irritative frequencies, as a proof of the availability of the monosynaptic connections.

Сокращения: ЛВЯ Дейтерса—латеральное вестибулярное ядро Дейтерса.

The irritations of the vestibular nerve bring about response-reactions in the middle and posterior hypothalamic nuclei.

The focus activity of the responses is found in the posterior hypothalamus.

Гипоталамус—латеральное вестибулярное ядро Дейтерса—вестибулярный нерв—моносинаптический ответ.

Вегетативные реакции принадлежат к числу постоянных коррелятов вестибулярных рефлексов. По данным ряда авторов [1, 5, 6], в ответ на стимуляцию вестибулярных ядер возникают висцеро-соматические реакции различных функциональных систем (сердечно-сосудистой, дыхательной, соматической и др.), реализация которых возможна благодаря тесным связям вестибулярных ядер с вегетативными центрами продолговатого мозга. Очевидно, в формировании вестибуло-вегетативных рефлексов принимают участие и структуры высших вегетативных центров гипоталамуса. Однако до настоящего времени не изучены гипоталамические механизмы формирования вегетативных проявлений вестибулярных рефлексов. Нисходящие коррелирующие и пусковые влияния гипоталамуса на бульбоспинальные вегетативные механизмы, активируемые афферентными сигналами вестибулярной системы, очевидно, запускаются вестибулярной афферентацией, поступающей к нейронам гипоталамуса. В литературе имеются лишь единичные экспериментальные работы, посвященные вестибуло-гипоталамическим связям [3, 4, 11]. В связи с этим нами были изучены реакции заднего, туберального и переднего гипоталамуса при электрической стимуляции вестибулярного ядра Дейтерса и вестибулярного нерва.

Материал и методика. Исследования проводили на половозрелых кроликах массой 2,5—3,5 кг в условиях острого опыта. Хирургические вмешательства выполняли под общим наркозом (хлоралгез 50 мг/кг, нембутал 8 мг/кг внутривенно) и местной анестезией 2%-ным раствором новокаина.

После трахеотомии производили кожный разрез длиной 5—7 см внутри от нижней челюсти так, чтобы середина разреза проходила соответственно углу челюсти. Рассекали поверхностную фасцию, выделяли наружную яремную вену, перевязывали и выделяли каждую из трех ее ветвей. После нащупывания *tub. ossea* расщепом отсепа- ровывали мышцы и окружающие ткани. Очищали корень скулового отростка височной кости и барабанный пузырь.

С целью предотвращения побочных эффектов раздражения расположенный рядом лицевой нерв выдерживали из наружного отверстия лицевого канала. К среднему уху подходили с заднецентральной стороны. При помощи иглодержателя скисывали тонкие костные пластины барабанного пузыря. На внутренней стороне буллы по обе стороны костного гребня и открывающиеся овально (корешок вестибулярного нерва) и круглое (корешок кохлеарного нерва) отверстия ставляли для металлических игло-чатых изолированных, кроме кончиков, электрода, которые фиксировали при помощи зубо-врачебного цемента.

После введения электрода в овальное отверстие во всех опытах наблюдался характерный вестибуло-глазной рефлекс: глаз из стороны операции смещался в орбите в латеральном направлении, диаметр зрачка резко уменьшался. По этим признакам можно судить о точности попадания кончика электрода в овальное отверстие.

Через 10—15 мин после высыхания зубо-врачебного цемента животные переносились на стереотаксический аппарат СЭЖ-3 и производилась трепанация черепной кости (ипсилатерально) в виде форточки (6 мм × 10 мм). После удаления твердой мозговой оболочки животные переводились на искусственное дыхание (внутрибрюшное)

вводили дитимин, искусственное дыхание давали при помощи аппарата УИДЖ-1). Стелянные микроэлектроды (с сопротивлением кончика 1—5 мегаом) по координатам атласа [9] вводили в разные ядра гипоталамуса.

Регистрацию нейрональной активности проводили с экрана двухлучевого осциллографа «Амплиер II» при помощи фоторегистратора ФОР-2. Вестибулярный нерв раздражали (одиночными, парными и частотными стимулами) при помощи стимулятора (длительность импульса от 0,3 до 0,5 мс).

На отдельной группе животных нами были изучены ответы различных отделов гипоталамуса на раздражение вестибулярного ядра Дейтерса, результаты которого приводятся в работе для сравнения с ответами, полученными при раздражении вестибулярного нерва.

Результаты и обсуждение. Внеклеточная запись активности 180 фоновоактивных нейронов различных ядер гипоталамуса показала, что 135 из них отвечали на раздражение ЛВЯ Дейтерса, 15% гипоталамических нейронов были ареактивными.

Как показали наши исследования, при раздражении ЛВЯ Дейтерса из различных отделов гипоталамуса регистрируются ответы нейронов, отличающиеся друг от друга длительностью латентных периодов и постоянством повторения. Полученные ответы были разделены на три группы: 1) 35 из общего числа отвечающих нейронов имели короткий латентный период (2,5—4,0 мс) и воспроизводили высокую частоту раздражения (рис. 1А, Б); 2) 82 нейрона имели латентный период 6,0—8,0 мс, оказались нестабильными и не воспроизводили высокую частоту раздражения (рис. 1В, Г); 3) 38 нейронов были длиннолатентными (11,0—18,5 мс) (рис. 1Д, Е, Ж).

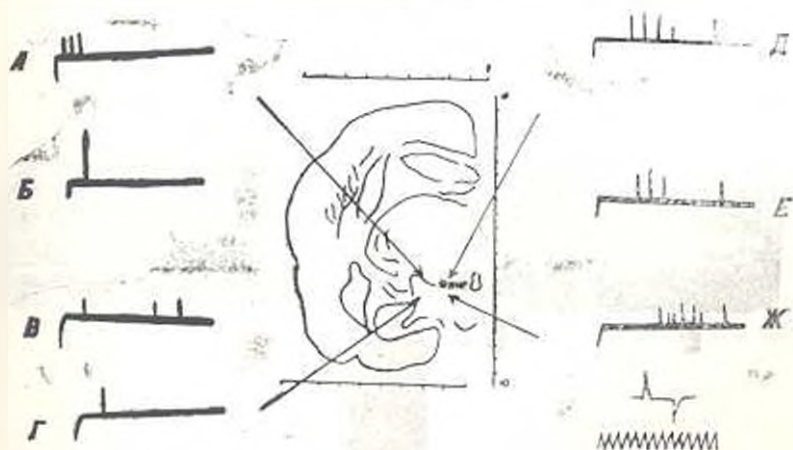


Рис. 1. Нейрональная активность гипоталамуса на раздражение латерального вестибулярного ядра Дейтерса. Калибровка—300 мВ, время—500 гц.

Коротколатентные ответы в основном регистрировались на задней гипоталамической области, ответы со средней и длинной латенцией были характерны для нейронов среднего и переднего гипоталамуса.

Коротколатентные ответы, воспроизводившие высокую частоту (50—100 гц) раздражения, свидетельствуют о существовании моносинаптической или антидромной связи ЛВЯ Дейтерса с нейронными элементами заднего гипоталамуса. Реакции нейронов среднего и переднего гипоталамуса, имеющие латентные периоды от 6,0 до 18,5 мс и по-

вторяющие частоту раздражения менее чем 50 гц, указывают на поли-
синаптический путь проведения возбуждения, очевидно, переключаю-
щийся через ретикулярную формацию мозга.

Для выяснения проекции вестибулярного нерва в гипоталамус нами
была изучена активность 275 фоновых активных нейронов. 240 из них от-
вечали на раздражение вестибулярного нерва; 85% были зарегистриро-
ваны из области заднего гипоталамуса и 15% — из переднего и тубераль-
ного гипоталамуса.

Раздражение вестибулярного нерва вызывает реакции нейронов
преимущественно из области среднего и заднего гипоталамуса с лока-
лизацией фокуса максимальных реакций в области заднего гипо-
таламуса. Из общего числа отвечающих нейронов около 25% имели
латентный период от 4,0 до 6,0 мс; 45% нейронов — от 6,0 до 8,0 мс;
30% нейронов — от 10,0 до 12,0 мс. Незначительное количество нейро-
нов имели латенцию от 14,0 до 20,0 мс. Коротколатентным ответам
(4,0—6,0 мс), регистрируемым непосредственно из области заднего
гипоталамического ядра, свойственна стабильность латентного пе-
риода (рис. 2 А, Б).

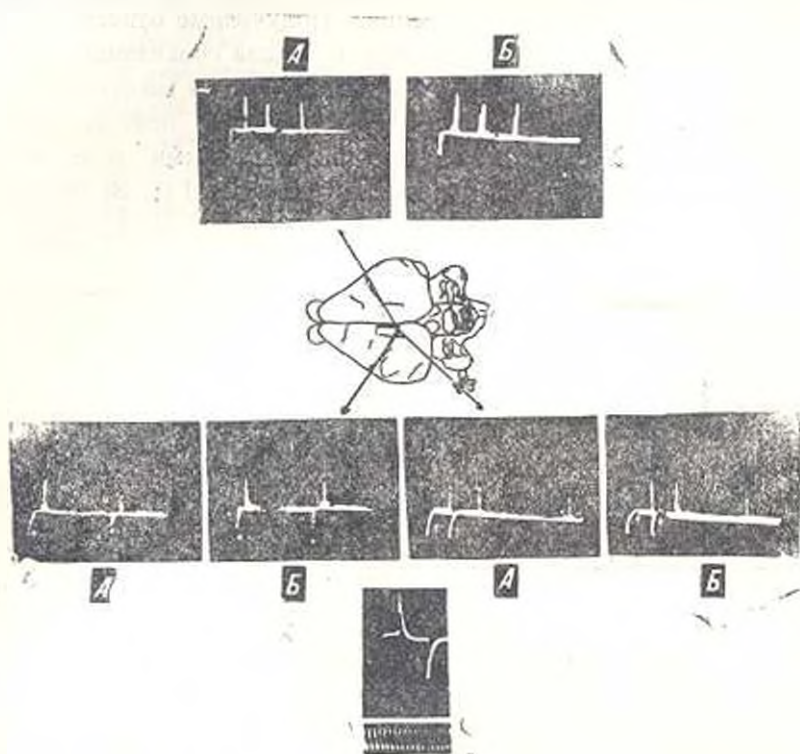


Рис. 2. Нейронная активность заднего гипоталамического ядра на раз-
дражение вестибулярного нерва. А — ответы нейрона на одиночное раз-
дражение; Б — суперпозиция того же нейрона; 2А, 3А — ответы нейрона на
парное раздражение с различным интервалом стимулов; 2Б, 3Б — суперпо-
зиция того же нейрона. Калибровка — 300 мВ, время — 500 Гц.

При парном раздражении (интервал между стимулами 12 и 18 мс)
на тестирующее и кондиционирующее раздражения регистрировались
ответы одинаковой амплитуды (рис. 2 2А, Б, 3А, Б).

При смещении отводящего электрода на 0,5—1,5 мм от координат ядра заднего гипоталамуса (по латерали, фронтالي и вертикали) наблюдалось увеличение латентного периода в пределах 10—12,4 мс, и ответы нейронов становились нестабильными.

Нестабильность реакции при суперпозиции и увеличение латентного периода регистрируемых ответов свидетельствуют о том, что нейрональная активность регистрируется вне фокуса максимальной активности заднего гипоталамуса (рис. 3).

При отведении нейрональной активности из точек, наиболее удаленных от фокуса максимальной активности (2—3 мм), происходило

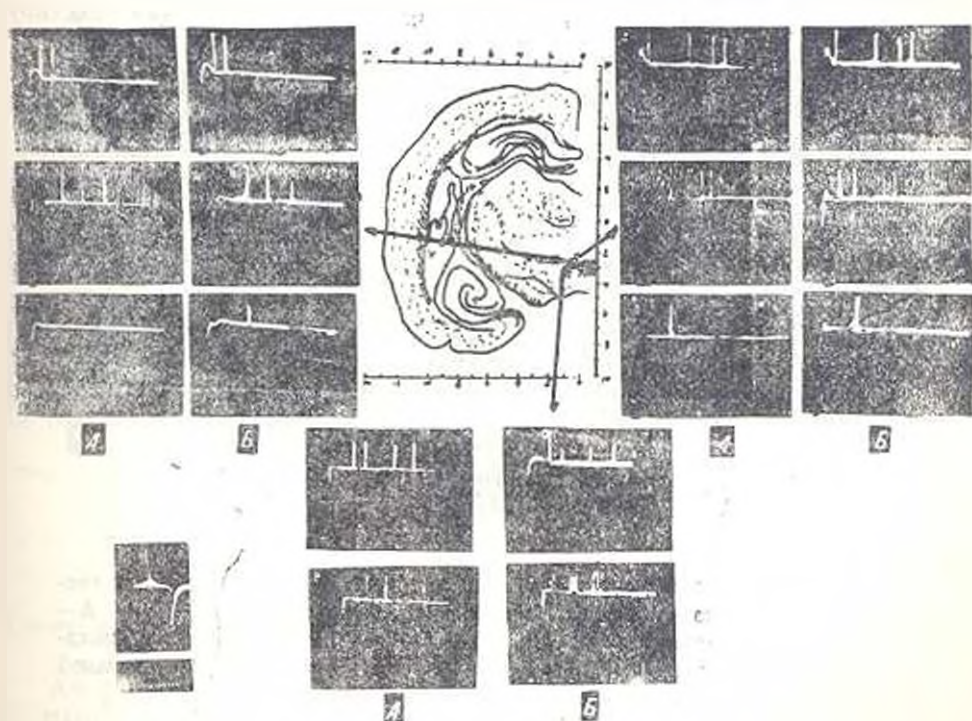


Рис. 3. Нейрональная активность заднего гипоталамического ядра при смещении электрода от фокуса максимальной активности на 0,5—1,5 мм. 1, 2, 3А, Б—отведение нейрональной активности при смещениях электрода по латерали; 4, 5, 6, 7, 8А, Б—отведение нейрональной активности при смещениях электрода по вертикали. Калибровка—300 мВ, время—500 Гц.

резкое увеличение (до 22—25 мс) латентных периодов реакции нейронов на раздражение вестибулярного нерва (рис. 4).

Итак, при анализе реакции нейронов гипоталамуса на раздражение как вестибулярного ядра, так и вестибулярного нерва, нами впервые показана локализация фокуса максимальной активности нейронов в области заднего гипоталамуса. Коротколатентные ответы со сравнительно стабильным латентным периодом, воспроизводимые при частоте раздражения 50—100 гц, на раздражение вестибулярного ядра являются, очевидно, моносинаптическими реакциями и свидетельствуют о наличии прямой проекции нейронов вестибулярного ядра Дейтерса в структуры заднего гипоталамуса. По данным ряда авторов [2, 7, 8], ядро Дейтерса имеет эфферентные связи не только со струк-

турами спинного мозга и мозжечка, но и со многими образованиями ствола мозга.

Вестибулярный аппарат дает эфферентные волокна к другим структурам ц. н. с. Помимо трех основных компонентов—волокон к спинному мозгу, мозжечку и более высоким уровням мозгового ствола,—имеются короткие волокна, идущие к ретикулярной формации и другим клеточным группам в прилежащих областях [2].

Методом ретроградного транспорта пероксидазы хрена показана прямая проекция вестибулярного ядра в супраамилярную и задне-латеральную область гипоталамуса [1]. Регистрируемые нами коротколатентные реакции, повторяющие частоту раздражения вестибу-

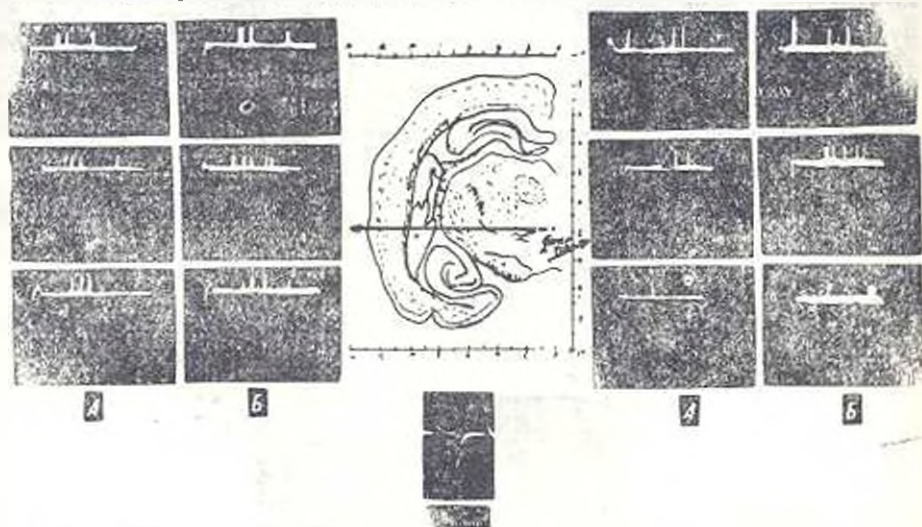


Рис. 4. Нейрональная активность заднего гипоталамического ядра при смещении электрода от фокуса максимальной активности на 3—4 мм. А—одиночные, Б—суперпозиция, 1, 2, 3А, Б—3—4 мм выше фокуса максимальной активности; 4, 5, 6А, Б—на 3—4 мм ниже фокуса максимальной активности. Калибровка—100 мВ, время—500 Гц.

лярного ядра до 100 гц, являются электрофизиологическим выражением моносинаптической организации вестибулярного входа в гипоталамус с латентным периодом 4—6 мс, вызванные раздражением вестибулярного нерва, свидетельствуют об олигосинаптической организации вестибулярного афферентного входа в гипоталамус. Реакция нейронов со стабильным латентным периодом, повторяющих частоту раздражения выше 100 гц, очевидно является интродомным ответом нейронов гипоталамуса, посылающих свои аксоны в область вестибулярного ядра и, таким образом, обеспечивающих двустороннюю связь гипоталамуса и вестибулярного ядра Дейтерса. Эти данные согласуются с гистоморфологическими данными о претерминальной дегенерации, выявленной в области ядра Дейтерса при повреждении гипоталамуса [10] и являющейся электрофизиологическим выражением наличия прямых гипоталамо-вестибулярных путей. Дальнейшие нейрофизиологические и нейрофармакологические исследования вестибуло-гипоталамической рефлекторной дуги представляются важными для разработки эффек-

тивных способов управления активностью этой рефлекторной дуги в норме и в условиях воздействия экстремальных факторов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Березовский В. К., Кебикало Т. Г., Савоскина Н. А. Нейрофизиология, 3, 353—362, 1984.
2. Вальберг Ф., Броуэлл А., Пожиско О. Вестибулярные ядра, связи, анатомия, функциональные корреляции. 163, М.—Л., 1966.
3. Григорян С. С., Паганин Л. Г. Микроэлектрофизиологический анализ вестибулярных проекций в гипоталамусе кролика. XIII съезд Всесоюз. физиол. об-ва им. И. П. Павлова, 2, Алма-Ата, 1979.
4. Григорян С. С. Сравнительный анализ проекций вестибулярного и седличного нервов в различных областях гипоталамуса. XIV съезд Всесоюз. физиол. об-ва им. И. П. Павлова, Баку, 1983.
5. Курашвили А. Е., Бабиян В. П. Физиологические функции вестибулярной системы. М., 1975.
6. Райцев В. С., Шаджасенов А. А. Физиол. ж. СССР, 58, 3, 377—384, 1972.
7. Саркисян В. А., Фанарджян В. В. Систематические механизмы афферентного контроля активности нейронов латерального вестибулярного ядра Дейтерса. Эффекты стимуляции ядер ретикулярной формации ствола мозга. Сенсорные системы, 1, 1, 370—380, 1987.
8. Саркисян В. А., Фанарджян В. В. Нейрофизиология, 16, 6, 822—829, 1984.
9. Фифкович Е., Маршал Дж. Стереотаксические атласы мозга кошки, кролика и крысы. Я. Буриш, П. Петрань, Н. Захар. Электрофизиологические методы исследования, 384—426, М., 1968.
10. Smith A. P., Mogg D. Lancet, 1, 103, 1966.
11. Katayama T., Yoshimatsu H., Pashuraya K. P. and Oomura Y. Neuronal input from the lateral vestibular nucleus to the lateral, hypothalamic area in rats. Kyushu University Faculty of Medicine, Department of Physiology, Fukuoka Japan, 1987.

Поступило 14.IV 1989 г.

Биол. журн. Армении, № 6, (43), 1993

УДК 577.154.5

АФФИННАЯ ОЧИСТКА ПУРИННУКЛЕОЗИДФОСФОРИЛАЗЫ ПОЧЕК КРОЛИКА. ИНГИБИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТ НЕКОТОРЫХ АНАЛОГОВ ПРИРОДНЫХ СУБСТРАТОВ

А. Б. АНАНЬЕВА, Ж. И. АКОЯН, Р. Г. МЕЛИК-ОГАНДЖАНИН*,
Ю. А. МАУРИНЬШ**, Р. А. ПАЗГЛЕ**, М. Ю. ЛИДАК**

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР, Ереван,

*Институт тонкой органической химии им. Мнджояна АН АрмССР, Ереван,

**Институт органического синтеза АН Латвии, Рига

Разработан новый метод очистки пуриинуклеозидфосфорилазы (КФ 2.12.1), включающий биоспецифическую аффинную хроматографию. Впервые получены гомогенные препараты пуриинуклеозидфосфорилазы из почек кролика, выход—75% общей активности.

Изучено влияние 23 синтетических производных пуриновых нуклеозидов и родственных конденсированных пиримидиновых соединений на активность фермента.

Մշակված է պուրիննուկլեոզիդֆոսֆորիլազի անբյուրեղյան և որ մեթոդ, որն իր մեջ
ընդգրկում է սպեցիֆիկ աֆֆինային քրոմատոգրաֆիա:

Сокращения: ПНФ-аза—пуриинуклеозидфосфорилаза.

Առաջին անգամ առաջադրված է պուրիննուկլեոզիդֆոսֆորիլազի նմանատիպ պարամետրիկ մագնարի էրեկամից, ընդհանուր ակտիվության հիշում— 75% թուրմանախրված է 23 պուրինային և ուկլեոզիդների օքսիդացման և կոնդենսացման պրոբիդիդիային ազդեցական միացությունների ազդեցությունը ֆերմենտի ակտիվության վրա:

The method of purification of purine nucleoside phosphorylase (EC—2.4.2.1), including biospecific affinity chromatography, has been developed. The electrophoretically homogenous enzyme is obtained with 75% yield.

The effect of 23 synthetic derivatives of purine nucleosides and relative condensity pyrimidine compounds on enzyme activity is studied.

Пуриинуклеозидфосфорилаза—аналоги природных субстратов.

Пуриинуклеозидфосфорилаза (КФ 2.4.2.1.) играет принципиальную роль в усвоении клеткой нуклеотидов и нуклеозидов. Фермент катализирует обратимую реакцию фосфорилиза пуриновых (дезоксирибонуклеозидов с образованием (d) Rib-1-P и соответствующих оснований, которые служат основным источником пуринов. Он выделен был из разных органов и тканей млекопитающих [11, 12].

Наиболее удачные из описанных методы очистки включают аффинную хроматографию, при которой в качестве лиганда использовались аналоги инозина. В качестве первого аффинного лиганда был применен периодат-окисленный формицин Б, связанный с сефарозой 4Б [8, 15]. Применение колонки с этим аффинным сорбентом сразу после единственного этапа ионно-обменной хроматографии позволяет получить гомогенные препараты из эритроцитов человека [9, 15], фибробластов [16] и гранулоцитов [14], а также из печени крысы [8] и цыпленка [13]. Второй из двух известных аффинных лигандов, 6-гидрокси-9-р-бензиламинопурин, связанный на трихлоротриазини активированной сефарозе С1-6В, был использован для очистки ПНФ-азы из эритроцитов человека [10].

Разработка и совершенствование новых эффективных методов очистки ПНФ-аз из различных источников актуальны в связи с интенсивным поиском малотоксичных ингибиторов этого фермента. Некоторые из них уже находят применение в создании селективного Т-клеточного иммунодефицитного статуса организма при трансплантации органов и тканей, а также при химиотерапии ряда патологий [1]. Но для успешного практического применения необходимо глубокое знание структуры, функций, аффинности как ПНФ-азы человека, так и фермента из органов тех лабораторных животных, на которых будут испытываться препараты. С нашей точки зрения, удобным объектом для этой цели является кролик, так как ПНФ-аза кролика по своим физико-химическим свойствам и субстратной специфичности имеет большое сходство с ферментом человека [3, 11, 15].

Нами разработан новый метод очистки ПНФ-азы почек кролика с применением биоспецифической аффинной хроматографии, проверена способность к ингибированию фермента некоторыми аналогами пуриинуклеозидов и конденсированных пиримидиновых соединений.

Материал и методика. Аффинный лиганд—9(р-аминобензил) гипоксантин был синтезирован и любезно предоставлен нам д-р-м А. Голи из Института органической химии и биохимии АН ЧССР. Соединения 1—13 были синтезированы и любезно предоставлены лабораторией синтетических лекарственных средств Института органического синтеза АН Латвии [4], соединения 14—23—лабораторией синтеза противоопухолевых препаратов Института тонкой органической химии им. Миджояна АН Арм. ССР [5].

Аффинный сорбент индивидуальной специфичности получали путем связывания 9(р-аминобензил)гипоксантина на Вг CN-активированной сефарозе 4В. Для этого к матрице Вг CN-активированной сефарозы 4В в качестве спейсера присоединяли 6-аминокапроновую кислоту в буфере А, содержащем 100 мМ NaHCO_3 — NaCO_3 , pH 9,0 и 0,5М NaCl (перемешивая при комнатной температуре в течение 10 ч). Отношение 6-аминокапроновой кислоты к матрице составляло 20 ммоль/л мл. Затем матрицу с присоединенным к ней спейсером дважды промывали растворами в следующей последовательности: 0,1 М Na -ацетат (pH 4); буфер А; H_2O . Для создания прочной пептидной связи между свободной аминогруппой лиганда и свободной концевой карбоксильной группой спейсера использовали карбодимид, катализирующий эту реакцию. Стандартная процедура включала следующие процедуры: гель промывали разбавленным до 50% и подкисленным до pH 4,5 диоксаном (0,5 л); лиганд растворяли (50 ммоль/мл геля) также в 50%-ном диоксане (pH 4,5); карбодимид—в воде, доводя pH до 4,5 разбавлением HCl . Концентрацию карбодимида брали из расчета 10 мг на 1 мл геля. Растворы лиганда, карбодимид и воду смешивали в, контролируя pH, оставляли при комнатной температуре на магнитной мешалке. После 20-часового перемешивания оставшиеся спейсеры блокировали давлением этаноламина, а затем обильно промывали 50%-ным этанолом и использовавшимися буферами, а также буфером Б, содержащим 20 мМ трис- HCl (pH 7,6) и 2 мМ ЭДТА, перед нанесением на аффинный сорбент фермента.

Перед нанесением на аффинную колонку экстракт из почек кролика подвергали предварительной очистке, повторяя первые два этапа (осаждение сульфатом аммония и хроматографию на колонке с ДЭАЭ-целлюлозой), описанного ранее выделения [2]. Затем активные фракции объединяли и наносили на колонку (0,9×7,1) с сефарозой 4В, иммобилизованной аффинным лигандом—9 (р-аминобензил) гипоксантином. Колонку промывали сначала 250 мл буфера Б, затем 100 мл того же буфера, содержащего 0,5М NaCl . После такой промывки связанная с сорбентом ПНФ была элюирована буфером В, содержащим 40 мМ NaH_2PO_4 — NaOH (pH 6,9) и 1 мМ ниозина. Объединенные активные фракции диализовали против 100-кратного объема буфера Б в течение 20 ч с четырьмя сменами диализного буфера. Диализованный препарат фермента концентрировали, используя колонку (0,9×2,5 см) с гидроксилапатитом, как описано ранее [12]. Скоцентрированный препарат ПНФ из почек кролика хранили в 40%-ном глицерине при -18° .

Ферментативную активность в процессе очистки определяли калориметрически по скорости гуанина (по цветной реакции этого основания с реактивом Фолина) [6].

Все пуриновые и конденсированные пиримидиновые производные были изучены на способность ингибировать реакцию фосфорилиза гуанозина. При этом фосфоролитическую активность фермента определяли спектрофотометрически (на двухлучевом спектрофотометре Specord M 40 (ГДР) с термостатируемой кюветой) по изменению поглощения вследствие различий в молярной абсорбции субстрата и продукта ($\lambda = 258$ нм). Концентрация аналога в реакционной смеси, содержащей 50 мМ Na -фосфата (pH 7,0), составляла 0,1 мМ и превышала концентрацию субстрата—гуанозина в 4 раза.

Реакции фосфорилиза нуклеозидов проводили при 37° , за единицу ферментативной активности принимали количество фермента, катализирующее превращение 1 мкмоль субстрата за 1 мин. Во всех спектральных исследованиях использовали кварцевые кюветы с длиной пробега 1 см. Объем реакционной смеси составлял 2 мл. Концентрацию белка определяли по методу Лоури, используя в качестве стандарта бычий сывороточный альбумин. Электрофорез в ПААГ проводили при ранее описанных условиях [2].

В экспериментах были использованы: гуанозин, ниозин, ксантозин, гипоксантин,

гуанин, ксантин, набор маркерных белков, трис, 2,3,5-трифенилтетразолия хлорид, активированный уголь, ксантиноксидаза (уд. акт — 1 Е/мг) производства фирмы «Серва» (ФРГ), DS-Na—«Сигма» (США), BrCN-активированная сефароза 4В-«Фармация» (Швеция); ДЭАЭ-целлюлоза ДЕ-32 «Ватман» (Англия), глицерин «Мерк» (ФРГ), кумалес R-250—«Ферак» (Зап. Берлин), набор реактивов для электрофореза—«Реал» (ВНР).

Результаты и обсуждение. Большинство изученных к настоящему времени ПНФ из различных биологических объектов были выделены с помощью многоступенной очистки, включающей фракционирование сульфатом аммония, хроматографию на ДЭАЭ-целлюлозе и гидроксилапатите с небольшими модификациями [11, 12]. Ранее нами были использованы эти подходы при получении гомогенных препаратов ПНФ из эмбрионов и различных органов кролика [3]. Из почек кролика был выделен гомогенный препарат фермента с удельной активностью 12,3 Е/мг и с 26%-ным выходом общей активности [2].

Биоспецифическая аффинная хроматография ПНФ из почек кролика на колонке с BrCN-активированной сефарозой, иммобилизованной лигандом—9(р-аминобензил) гипоксантином, впервые осуществленная в данном исследовании, оказалась гораздо более эффективной.

Таблица 1. Схема аффинной очистки ПНФ из почек кролика

Этапы очистки	Объем, мл	Общая активность	Общая белок, мг	Удельная активность, Е/мг	Выход, %	Степень очистки
Экстракт	95	17,3	761,5	0,023	100	1
Осаждение сульфатом аммония	57	15,7	325,6	0,048	91	2,1
ДЭАЭ-целлюлоза	35	14,8	77,4	0,191	86	8,3
Аффинная хроматография	8	12,9	0,7	19,4	75	847

Как видно из табл. 1, при использовании такой очистки удалось получить около 75% выхода общей активности, что почти в 3 раза выше, чем при традиционной многоступенной очистке. Данные литературы также указывают на то, что без использования аффинной хроматографии при очистке не удастся избежать больших потерь и выход составляет от 5 до 36% [11, 12]. Удельная активность полученного препарата фермента 19,4 Е/мг также значительно выше аналогичного показателя полученного ранее препарата (12,3 Е/мг).

Большим преимуществом данного метода является также то, что аффинный гель можно использовать многократно без видимой утраты специфичности. Электрофорез очищенного препарата ПНФ из почек кролика выявил одну белковую полосу, совпадающую с ПНФ активностью, что говорит о высокой степени гомогенности полученного препарата.

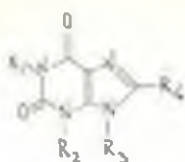
Аффинный лиганд—9(р-аминобензил) гипоксантин является аналогом инозина и конкурентно ингибирует фермент с $K_i = 2 \times 10^{-4}$ [7]. Бензильная группа иммобилизованного ингибитора эффективно связывается, по-видимому, в том участке активного центра, с которым обычно связываются рибоза или дезоксирибоза. В условиях отсутствия

фосфатных ионов ПНФ настолько хорошо связывается с гелем, что выдерживает промывку колонки буфером с очень высокой молярностью, содержащим свыше 0,5 М NaCl. При этом элюируются неспецифически связанные белки. Ионы фосфата (одного из субстратов) ослабляют связывание ПНФ с аффинным гелем и уменьшают емкость колонки. Поэтому удавалось элюировать фермент буфером, содержащим 1 М NaCl и 200 мМ фосфат, но пик элюции при этом был намного шире, чем при пропускании через колонку инозин-фосфатного буфера. Полученный гомогенный препарат ПНФ из почек кролика был использован нами при исследовании влияния на его активность некоторых отдаленных аналогов природных субстратов.

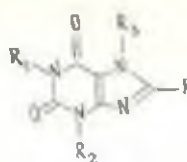
Была проверена группа производных мочевой кислоты и ксантина, гликозилированных триацетатом β -D-глюкофурануроно-6,3-лактона [4]. Ранее нами было показано [3], что скорость фосфороллиза ксантозина составляет всего 4% от скорости фосфороллиза инозина, т. е. кетогруппа в положении С (2) резко уменьшает сродство пуринового нуклеозида с ПНФ. Наша задача заключалась в проверке возможности предотвращения этого уменьшения некоторыми замещениями в положениях 1, 3, 7, 9 гетероциклического основания (табл. 2). Спектральное исследование аналогов ксантозина было сопряжено с некоторыми объективными трудностями из-за невозможности использования наиболее чувствительного метода определения активности фермента по приросту гипоксантина в сопряженной с ксантиноксидазой реакции ввиду того, что многие аналоги легко вступают во взаимодействие с ксантиноксидазой и окисляются ею. Поэтому эти соединения были изучены только в прямом спектральном исследовании на способность ингибировать реакцию фосфороллиза гуанозина. Результаты показывают, что проведенные модификации не обеспечивают аналогам ксантозина способности значительно подавлять реакцию фосфороллиза гуанозина (табл. 2), хотя, как было показано ранее, аналогичные замены приводят к повышению аффинности производных инозина и гуанозина [7, 17]. Видимо, кислотность ксантозина ($pK_a=5,7$) может мешать связыванию с ферментом. Возможно также, что гидроксильная группа в положении С (2) взаимодействует с углеводным остатком, мешая связыванию с активным центром фермента. Метилирование положений N (1) и N (3) также не приводит к усилению ингибирования этими аналогами. Это можно объяснить, видимо, тем, что метил-группы в этих положениях не воздействуют на ароматические свойства пуринового кольца гетероциклического основания и не влияют на сродство аналогов ксантозина с ферментом.

Были исследованы также отдаленные аналоги пуринов—конденсированные пиримидиновые соединения (14—23 из табл. 3 и 4). Пирроло-2,3-пиримидины несколько сильнее влияют на активность ПНФ, чем соединения 14—19 из табл. 3, но ингибирующий эффект настолько незначителен, что какие-либо выводы о связи химической структуры этих соединений с их биологической активностью делать преждевременно. Однако исследование таких соединений, по своему строению отдаленно напоминающих природные субстраты ПНФ-азы и не обла-

Т а б л и ц а 2. Ингибирование фосфоролитической активности ПНФ производными мочевой кислоты и ксантина

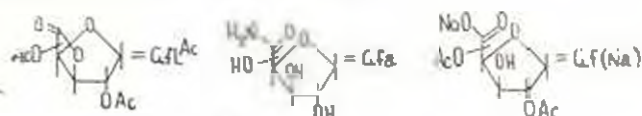


1, 2, 11

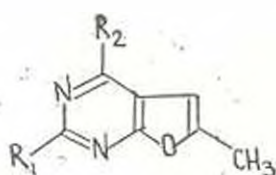


3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 12, 13

№	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	% ингибирования
1	H	H	GlfAc	H	7
2	H	H	GlfAc	H	12
3	CH ₃	CH ₃	GlfAc	H	14
4	CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	GlfAc	H	9
5	H	GlfAc	H	OH	8
6	C ₂ H ₅	CH ₃	Glf(Na)	H	3
7	H	H	Glf	H	6
8	H	H	Glf	H	17
9	CH ₃	CH ₃	Glf	H	3
10	CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	Glf	H	7
11	H	H	Rib	OH	10
12	H	Rib	Rib	OH	11
13	H	H	Rib	OH	16



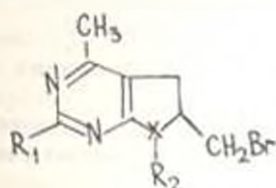
Т а б л и ц а 3. Ингибирование фосфоролитической активности ПНФ конденсированными фуру [2,3-d] пиримидинами



№	R ₁	R ₂	% ингибирования
14	NHNC ₆ H ₄ F	CH ₃	5
15	NHNC ₆ H ₄ NO ₂	CH ₃	5
16	CH ₃	CH ₂ NNHC ₆ H ₄	7
17	CH ₃	CH ₂ NNHC ₆ H ₄ NO ₂	6
18	OH	CH ₃	7
19	N(CH ₃) ₂	CH ₃	6

дающих сильным ингибирующим действием, все же необходимо, так как дальнейшее направление работы предполагает компьютерный анализ соотношений между химической структурой аналогов пурин-нуклеозидов и их биологической активностью. Для этого необходим

Таблица 4. Ингибирование фосфоролитической активности ПНФ конденсированными пирроло [2,3-d] пиримидинами



№	R ₁	X	R ₂	% ингибирования
20	SCH ₃	O	—	13
23	NH ₂	O	—	11
22	CH ₃	N	—CH ₂ CH ₃	14
23	—	—	—	9

определенный набор статистических данных по соединению, обладающим различной конформацией и ингибиторной способностью. После проведения такого анализа можно будет целенаправленно синтезировать гораздо более эффективные ингибиторы ПНФ-азы и создавать на их основе новые лекарственные препараты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акишян А. В., Акопян Ж. И. Журн. эксперим. и клин. мед. АН АрмССР, 29, 3, 266—273, 1989.
2. Акишян А. В., Бегларян Х. О., Акопян Ж. И. Биолог. журн. Армении, 39, 9, 768—772, 1986.
3. Акишян А. В., Бегларян Х. О., Акопян Ж. И. Биохимия, 22, 12, 2022—2028, 1987.
4. Мауринов Ю. А., Пазыс Р. А., Лидак М. Ю., Каабул Е. И., Матийдопуло Н. А. Биоорганическая химия, 12, 11, 1514—1521, 1985.
5. Мелик-Оганджян Р. Г., Гипоян А. С., Хачатрян В. С., Меликян Н. С. Химия гетероцикл. соединений, 3, 678—681, 1985.
6. Ahmad S. J., Pritchard R. H. Mol. and Genet. Med., 351—357, 1969.
7. Anan'ev A. V., Akopyan Zh. I., Zhuk R. A., Madre M. A., Maurins J. 2nd International Symposium on molecular aspects of chemotherapy, 63, Gdansk, 1988.
8. Cowen M. E., Oogami T. R., Sanitberg J. N., Drach J. C. Fed. Proc., 35, 376—380, 1976.
9. McRoberts J. A., Martin D. W. Jr. J. Biol. Chem., 253, 12, 5605—5615, 1980.
10. Osborn W. R. A. J. Biol. Chem., 255, 15, 7037—7042, 1980.
11. Purks R. E. Jr., Agarwall R. P. In: The Enzymes, New York, Acad. Press., 7, 493—514, 1972.
12. Stockler J. D. In: Developments in cancer chemotherapy, CRC Press., 35—60, 1984.
13. Umemura S., Nishida T., Murakami K., Tsushima K. J. Biol. Chem., 257, 22, 13374—13378, 1982.
14. Wiginton D. A., Coleman M. S., Hartley J. J. J. Biol. Chem., 253, 6663—6669, 1980.
15. Zannis V., Doyle D., Martin D. W. Jr. J. Biol. Chem., 253, 2, 504—510, 1978.
16. Zannis V., Gudas L. J., Martin D. W. Jr. Biochem. Genet., 17, 7—8, 621—630, 1979.
17. Zhuk R., Madre M., Anan'ev A. V., Akopyan Zh. I. 16th International Symposium on the Chemistry of Natural Products (IUPAC), Kyoto, Japan, 661, 1988.

Поступило 16.III 1990 г.

ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ БЕЛКОВ ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ Са-дсРНК КАК ФАКТОР, ПОДАВЛЯЮЩИЙ АДСОРБЦИЮ ВИРУСА

Р. А. ЗАХАРЯН, К. А. БАКУНЦ, М. Г. ГЕВОРКЯН

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР, Ереван

Установлена прямая зависимость процесса подавления адсорбции вируса ВЭМК на L-клетках от степени фосфорилирования белков плазматической мембраны.

Հաստատվում է ուղղահայե կապ ՎԷՄԿ վիրուսի կապման L. բջիջների վրա արգելա-
ցիան ընդհանր պրոցեսի և պլազմատիկ մեմբրանի Բ-պրոթեոնների ֆոսֆորիլացման
աստիճանի հետ:

A straight dependence is established between the levels of plasmatic membrane proteins phosphorylation and inhibition of the virus adsorption on L-cells.

ДсРНК—мембранные белки—фосфорилирование.

Двуспиральные РНК известны как индукторы интерферона, стимуляторы первичного и вторичного иммунного ответа, модуляторы ряда биохимических реакций. Ранее нами на нейронах [3], тромбоцитах кошки и человека [6] было показано, что РНК, ДНК и в особенности дсРНК являются активаторами мембранных функций клетки; в основе их действия лежат процессы, связанные с повышением в клетке уровня цАМФ, активацией трансмембранных токов экстрацеллюлярного Ca^{2+} , активацией фосфолипазы A_2 [12], более выраженных при использовании ДНК, РНК, дсРНК в форме Са-преципитата. ДсРНК существенно повышает степень фосфорилирования белков плазматической мембраны клеток, полученный спектр мол. масс фосфорилированных белков в целом близок к таковому белков мембранной фракции по цАМФ-зависимому фосфорилированию [4, 7]; взаимодействие дсРНК с плазматической мембраной клетки высокоспецифично, факторы связывания на поверхности клеток представлены протенинами, по своим характеристикам взаимодействие дсРНК—мембрана аналогично лиганд-рецептор взаимодействию [5]. Одним из ранних эффектов взаимодействия дсРНК с мембраной является активация фосфолипазы A_2 с накоплением в мембране, клетке ненасыщенных жирных кислот и лизоформ фосфолипидов, обладающих выраженными иммуномодулирующими свойствами. Одновременно накопление ненасыщенных жирных кислот и лизоформ фосфолипидов, обладающих детергентными мембранолизитическими свойствами, повышает подвижность в мембранном фосфолипидном биослое, способствует кластеризации внутримембранных белков, локальным перестройкам липидного матрикса мембраны и микроокружению рецеп-

Сокращения: дсРНК—двуспиральная РНК

торов, нарушению их функции. По нашим данным, такие перестройки в микроокружении рецептора вируса энцефаломиокардита мышей, осповакцины, вызываемые дсРНК, могут, по-видимому, ингибировать сорбцию вируса на клетке на 75—90% [4, 5].

В данном исследовании представлены результаты изучения вклада фосфорилирования белков плазматической мембраны клеток L-929 в ингибирование процесса сорбции вируса ВЭМК.

Материал и методика. ДсРНК выделяли из дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Тотальную фракцию РНК осаждали спиртом, растворяли в $2 \times \text{SSC}$ и обрабатывали РНКазой (50 мкг/мл). Двухспиральную РНК выделяли на колонке с немодифицированной целлюлозой элюируя буфером TES (0,01 M NaCl, 0,001 M EDTA, 0,05 M трисHCl, pH 6,9) с 15% этанолом. Фракцию, содержащую дсРНК, осаждали спиртом.

Фракционирование мозга крыс проводили гомогенизацией тотальной мозговой ткани в 5-кратном объеме 10 mM трисHCl буфера (pH 7,5), содержащего 0,32 M сахарозу и 1 mM MgCl_2 . Очистку и выделение нейрональных плазматических мембран проводили по методу, описанному ранее [9]. При выделении цитозольной фракции гомогенизацию проводили в буфере, не содержащем сахарозу, и центрифугировали при $100\,000 \times g$ в течение 30 минут. Концентрацию белка во фракциях определяли по Лоури [11] и спектрофотометрированием [2].

Фосфорилирование белков мозга проводили следующим образом. Инкубированная смесь содержала 50 mM трисHCl (pH 7,5), 10–25 mM MgCl_2 , 10 mM $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ (0,1 мкКи/милли), 100 мкг белков и содержала различные концентрации дсРНК и без нее.

Через определенные промежутки времени реакции останавливали добавлением 50%-ной ТХУ до конечной концентрации 5% и реакционную смесь наносили на мембранные фильтры с дальнейшей 3-кратной отмывкой 5%-ной ТХУ.

При получении меченого $[\text{}^3\text{H}]$ -уридина вирус ВЭМК использовали 2-часовую однослойную культуру независимой линии клеток L-929, которую заражали вирусом ВЭМК в разведении 10^{-2} . Адсорбцию проводили при 37° в течение 1 часа. После адсорбции монослой промывали средой 199 и клетки инкубировали в той же среде с добавлением 10%-ной сыворотки и $[\text{}^3\text{H}]$ -уридина в концентрации 100 мкКи/мл в течение 24 часов. Культуральную вирусосодержащую среду осветляли при $10\,000 \times g$ в течение 90 мин при 4° . Вирус осаждали центрифугированием при $30\,000 \text{ об/мин}$ в течение 2 часов. Осадок ресуспендировали в буфере TES (0,01 M трисHCl, pH 7,4; 0,1 M NaCl, 0,001 M EDTA), наносили на 20%-ную сахарозу и центрифугировали при $36\,000 \text{ об/мин}$ в течение 1,5 час. Осадок вируса суспендировали в среде 199.

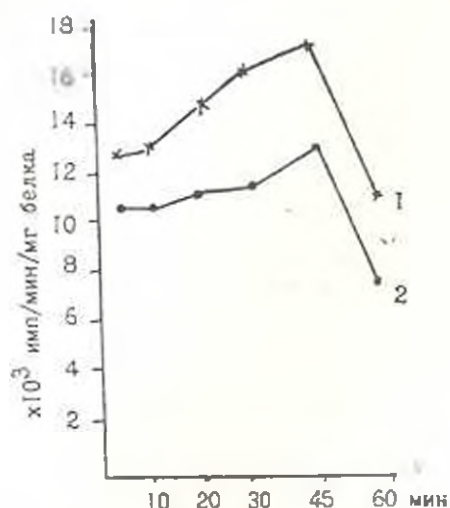
Активность аденилатциклазы определяли по методу [12], активность фосфолипазы разрывала АМФ—по методу [1].

Активацию аденилатциклазы в клетках L-929 индуцировали обработкой клеток фторсколином.

Результаты и обсуждение. При исследовании возможного влияния дсРНК на процесс фосфорилирования в изолированной мембранной фракции мозга крыс получена кинетика процесса, представленная на рисунке. Как видно, в присутствии дсРНК наблюдается значительное фосфорилирование белков мембранной фракции, уровень которого, однако, после определенного времени прекращает увеличиваться и даже несколько снижается. Поскольку этот эффект имеет место как в присутствии дсРНК, так и в среде без нее, можно предположить, что снижение уровня фосфорилирования связано в первую очередь с действием протенифосфатаз.

Данные о фосфорилировании в различных клеточных фракциях представлены в табл. 1, из которой также следует, что стимуляция

дсРНК-протеникиназной активности относительно более выражена (55%) в мембранной фракции. Как известно [10], цАМФ-зависимые протеникиназы в мозге быка и крысы примерно поровну распределяются между цитозолем и тотальной фракцией, содержащей мембраны и органеллы клетки.



Кинетика эндогенного фосфорилирования мембранной фракции мозга крысы в присутствии дсРНК (1) и в среде без нее (2).

Таблица 1. Фосфорилирование клеточных фракций мозга крысы

Фракция	Фосфорилирование, мк моль ^{32}P / мин на 1 мг белка		Степень активации	Процент активации
	— дсРНК	+ дсРНК		
Цитозоль	2.72	7.4	2.7	21
Мембраны	7.52	12.79	1.6	55
Ядра	4.61	5.16	1.12	20

Сходство спектров молекулярных масс фосфорилированных белков при дсРНК-зависимом и цАМФ-зависимом фосфорилировании дает основание полагать, что дсРНК индуцирует процессы, приводящие к повышению уровня цАМФ и, таким образом, включает аденилатциклазную систему, активирует протеникиназу цАМФ, обеспечивая регуляцию фосфорилирования белков плазматической мембраны нервных клеток.

Представлялось существенным выяснить механизмы увеличения содержания цАМФ в клетках мозга крыс. Как видно из данных табл. 2, активность аденилатциклазы в присутствии дсРНК существенно не изменялась.

Можно было предположить, что ингибируется система гидролиза цАМФ. Проведенные эксперименты показали, что дсРНК ингибирует фосфодиэстеразу цАМФ, причем действует на КМ-зависимую активацию, но не на базальную активность. Таким образом, ингибирование КМ-зависимой активации фосфодиэстеразы цАМФ обеспечивает, по-

Таблица 2. Влияние дсРНК на активность аденилатциклазы и фосфодиэстеразы цитоплазматических нуклеотидов

	Активность аде- нлатциклазы, нмп/мин/100 мкг белка		Активность фосфодиэстеразы, активируемой КМ	
			нмп/мин на 100 мкг белка	% ингибирования
Контроль	3485	100	6582	100
дсРНК	3116	90	2202	67
			3225	49

Каждое измерение—среднее 5 экспериментов.

видимому, повышение уровня цАМФ в клетках, которое обеспечивает активацию цАМФ-зависимой протеинкиназы. В пользу данного заключения свидетельствует коллективный нами при действии дсРНК спектро-молекулярных масс фосфорилируемых белков плазматической мем-браны, в целом близкий молекулярным массам белков, фосфорили-руемых системой цАМФ-зависимой протеинкиназы в плазматической мембранах клеток мозга быка и свиньи.

Ранее было показано, что фосфорилирование мембраны приводит к подавлению средства хеморецепторов к синантическим медиаторам, имеющим пептидную природу [8]. По аналогии с взаимодействием рецепторов-лиганд предполагалось, что взаимодействие вирус-мем-брана также будет находиться в зависимости от степени фосфорили-рования белков плазматической мембраны.

Таблица 3. Влияние дсРНК на адсорбцию вируса ВЭМС на клетках L-929

Средняя адсорбция клетки	дсРНК (в % от нуклеотидов, гидроли- зованных в течение 1 мин)	дсРНК (в % от нуклеотидов, гидроли- зованных в течение 3 мин)
Контроль	18361	18360
1 мин	4993	12481
15 мин	10318	8053
30 мин	10432	10729
1 ч	15018	11508
3 ч	10916	9140

Клетки обрабатывались дсРНК в течение 0, 1, 15, 30 мин и 2 ч, далее про-водилась адсорбция вируса в течение 1 часа. Каждое определение—среднее 3 измерений.

Как видно из данных табл 3, дсРНК (в процентах от контроля) существенно снижает (на 74—45%) адсорбцию вируса ВЭМС на плаз-матической мембране клеток L-929. Используемая в тех же кон-центрациях дсРНК, гидролизованная до моно-, ди-, тетра-нуклеотидов, практически не проявляет эффекта.

Если относительно «поздний» эффект (3ч) подавления адсорбции вируса на 30—45% может быть объяснен в конечном итоге индукцией интерферона, то «ранние» эффекты дсРНК—подавление адсорбции ви-

руса на плазматической мембране (1 мин—1 ч) — могут свидетельствовать, по-видимому, о наличии другого механизма, действующего в условиях отсутствия интерферона, на уровне межмолекулярных взаимодействий внутри плазматической мембраны.

С целью установления прямой зависимости процесса подавления адсорбции вируса на клетке от степени фосфорилирования белков плазматической мембраны мы изучали процесс сорбции вируса ВЭМК на плазматической мембране клеток L-929, предварительно обработанных форсколином, активатором фермента аденилатциклазы.

Таблица 4. Сорбция вируса ВЭМК на фибробластах мыши в присутствии форсколина и дсРНК

Препарат	Время воздействия дсРНК или форсколина				
	1 мин	15 мин	30 мин	1 ч	3 ч
	% от контроля				
Контроль	100	100	100	100	100
Форсколин	60	60	65	65	70
дсРНК	40	40	40	40	45

Полученные результаты (табл. 4) свидетельствуют, что активация аденилатциклазы, повышение в клетке уровня цАМФ и, как следствие, увеличение уровня фосфорилирования плазматических мембран вызывают подавление адсорбции вируса ВЭМК на поверхности клеток L-929.

Таким образом, можно сделать вывод об определенном вкладе процесса фосфорилирования белков плазматической мембраны в десенсибилизацию клеточной поверхности к адсорбции вируса.

Авторы благодарят д. б. н. С. Н. Айрапетяна за участие в обсуждении полученных данных о роли фосфорилирования в десенсибилизации сродства плазматических мембран к сорбции вирусом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бобрускин И. Д., Шайкин С. М., Муратова М. В., Баранови Л. А., Северин Е. С. Биохимия, 52, 8, 1344—1352, 1987.
2. Девис Р., Ботстад Д., Ром Д. Генетика бактерий, 153, М., 1984.
3. Захарян Р. А., Рычков Г. Е., Дадалян С. С., Бакунц И. С., Агабалян А. С., Рухкян Л. А., Айрапетян С. Н. Нейрохимия, 5, 3, 239—247, 1986.
4. Захарян Р. А., Бакунц К. А., Скобелева Н. А. Нейрохимия, 8, 1, 34—38, 1989.
5. Захарян Р. А., Бакунц К. А., Геворкян М. Г. Докл. АН АрмССР, 86, 4, 174—177, 1988.
6. Канцян М. Г., Амроян Э. А., Захарян Р. А., Агабалян А. С., Чарчоглян А. А., Акопян Ж. И., Габриелян Э. С. Докл. АН АрмССР, 79, 3, 140—144, 1984.
7. Кочетков С. М., Абдурагимов А. Р., Лукашина Т. Н., Северин Е. С. Биохимия, 49, 2, 344—348, 1984.
8. Ayrapietian S. N., Arvanov V. L., Maginian S. B., Azatian K. V. Cellular and Molecular Neurobiology, 5, 3, 235—243, 1983.
9. Helli F. A. Adv. in Cell Neurobiol., 1, 379—403, 1981.

10. Lohmann B. M., Walter U., Greengard P. J. Biol. Chem., 255, 20, 9985—9992, 1980.
11. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. Z., Randall R. J. J. Biol. Chem., 193, 265—275, 1951.
12. Steiner A. Z., Pagliara A. S., Chase J. R. J. Biol. Chem., 247, 1114—1120, 1972.
13. Zakharian R. A., Karageuzyan K. G., Ovakhimian S. S., Vardanyan M. K., Gasparian N. T. ISF—JACS World Congress, Sept. 26—30, Tokio, 3P12, 1988.

Поступило 9.VIII 1989 г.

Бюлог. журн. Армении. № 6.(43).1990

УДК 577.352.315:612.111.612.014.462.4

МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ИНДУЦИРОВАННОЙ ОКИСЛЯЮЩИМИ АГЕНТАМИ Ca^{2+} -ЗАВИСИМОЙ КАЛИЕВОЙ ПРОВОДИМОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ

А. В. ГЮЛЬХАНДЯН, Г. М. ГЕОКЧАКЯН

Ереванский филиал Всесоюзного научного центра хирургии АМН СССР

Показано усиление под влиянием Ca^{2+} калиевой проводимости эритроцитов человека, индуцированной окисляющими агентами: электронодонорной системой аскорбат + ФМС и периодатом Na. Научены эффекты ингибиторов энергетических процессов, антиоксидантов, некоторых фенольных соединений и SH-реагентов на Ca^{2+} -зависимый выход K^+ . В отличие от действия периодата, образующего поры в мембранах, Ca^{2+} -зависимый калиевый канал, активируемый аскорбатом + ФМС, функционально связан с окислительно-восстановительными компонентами мембран. Сделан вывод о существовании различных механизмов регуляции выхода K^+ из клеток.

Տալյը է արված, որ մարդկային էրիտրոցիտներում Ca^{2+} ազդեցությամբ ակտիվացում է կալիումի չափորոշիչանությունը, առաջացված «բարդացող նյութերով» (էնկաթոնների զոնոթային օրատեմով ապօրոտա ֆենոլիկենմիտուցիան (ՖՖՈ)) և Na պերյոդատով:

Ուսումնասիրված է էներգետիկ ինհիբիտորների, անտիօքսիդանտների, որոշ ֆենոլային միացումների և SH-ռեագենտների էֆեկտները Ca^{2+} կախված K^+ էլիթ վրա: Ի տարբերություն պերյոդատի ազդեցության, որը առջեր է առաջացնում կենսաթաղանթներում, Ca^{2+} կախված կալիումի կանալը, ակտիվացված ապօրոտա—ՖՖՈ-ով, ֆունկցիոնալ կապված է կենսաթաղանթների օքսիդացման կոմպոնենտների հետ: Ոնթադրվում է, որ զոնոթային ունեն բիչինների K^+ էլիթ տարրեր կարգավորման մեխանիզմներ:

The increase by Ca^{2+} of potassium conductivity of human erythrocytes, induced by oxidizing agents, electron donor system ascorbate + phenazine (PMS) and periodate Na was shown. The effects of inhibitors of energetic processes, antioxidants, some phenol compounds and SH—reagents on Ca^{2+} —dependent K^+ efflux were investigated. In contrast to the periodate, forming pores in membranes, Ca^{2+} —dependent K^+ channel activated by ascorbate + PMS is functionally connected with membrane redox components. We concluded, that different regulatory mechanisms of K^+ efflux from cells exist.

Сокращения: ФМС—феназинметосульфат, ПОЛ—перекисное окисление липидов, ГБК—тиобарбитуровая кислота, МДА—малоновый диальдегид, ДЦКД—N,N'-дишнкологексикарбодимид, ДХФИФ—дихлорфенолиндофенол, ПХМБ—парахлормеркуробензоат, SITS—4-ацетамидо-4'-изотиазинон-2,2'-дисульфоновая кислота, НАДН—никотинамидадениндинуклеотид восстановленный.

Электродонорная система аскорбат-ФМС—перiodат Na—Ca²⁺-зависимый калиевый канал—окислительно-восстановительные компоненты мембран.

Как известно, при интенсификации окислительных процессов происходит повреждение мембран эритроцитов, что может привести к утечке ионов из клеток [1, 14]. Показано также, что электродонорная система аскорбат-ФМС «открывает» Ca²⁺-зависимый K⁺ канал [1, 10]. При этом ФМС может вызывать образование свободных радикалов кислорода, увеличение ПОЛ мембран, превращение гемоглобина в метгемоглобин [14]. Действие другого окисляющего соединения, периодата Na, также приводит к вытоку K⁺ [5], очевидно, из-за образования пор в мембранах [13].

Ранее мы сообщали о влиянии антиоксидантов и ингибиторов энергетических процессов на обменные потоки K⁺ и H⁺ в эритроцитах человека, инкубируемых в присутствии Ca²⁺ с ионофором двухвалентных катионов A23187 или β -блокатором пропранололом, а также с переносчиком K⁺ валиномицином [2, 11].

В настоящей работе показано увеличение индуцированного периодатом Na калиевой проводимости эритроцитов под действием Ca²⁺. Изучены эффекты некоторых фенольных соединений, обладающих донорно-акценторными свойствами, ингибиторов энергетических процессов, антиоксидантов и SH-реактивов на вызванный аскорбатом+ФМС и периодатом Ca²⁺-зависимый выход K⁺ и кинетику изменения pH среды.

Материал и методики. Эритроциты выделяли из свежей гепаринизированной крови доноров центрифугированием. Затем клетки дважды промывали в 150 мМ NaCl. Опыты начинали после выдерживания эритроцитов в течение 3—4 ч при +5°. Концентрации K⁺ и H⁺ регистрировали с помощью ионного («Crytur», Чехословакия) или стеклянного (стекло марки NaX 2001) K⁺-селективных и pH («Radiometer», Дания) электродов. Электроды были соединены в одной ячейке и подключены через милливольтметры к самописцам.

ПОЛ определяли спектрофотометрически при 532 нм по реакции образования комплекса МДА с ТБК [17]. Эритроциты, в которых измеряли ПОЛ, брали из-под электродов сразу после завершения опыта. Далее опыт проводили по методике, описанной в работе [17]. Процент гемолитической активности также определяли спектрофотометрически по выходу гемоглобина в супернатант после центрифугирования суспензии эритроцитов, подверженной воздействию тех или иных соединений.

Использовали олигомицин, ДЦКД, антимицин, инол (4-метил-2,6-дигидробутилфенол, атэбрин, менадиол (2-метил-1,4-нафтохинон), SITS, N-этилмаленинд, ФМС, α -нафтол, ДХФИФ, 2-ТБК («Serva»), α -токоферол, периодат Na («Sigma»), ПХМБ, хлорид хлорофен («Chenparol»), диэтиленгликоль («Koch—Light»). Остальные реактивы советского производства классификации «ос ч.» или «х. ч.».

Результаты и обсуждение. На рис. 1 показаны типичная запись выхода K⁺ и кинетика изменения pH среды в суспензии эритроцитов под действием электродонорной системы аскорбат+ФМС. Скорость выхода K⁺ составляет около 2 ммоль/мин·л эритроцитов. Отметим, что в среде без Ca²⁺ выходящий поток K⁺ весьма незначителен. ДЦКД ингибирует выток K⁺ приблизительно на 70% (рис. 1А, табл.). Изменение pH двухфазное: после внесения ФМС происходит сильное защелачивание среды, сменяющееся через 1 мин закислением. Если заме-

нить очередность внесения добавок, то двухфазность изменения pH появляется после аскорбата. Олигомицин, антимицин, атебрин подавляют процесс утраты K⁺ клетками на 40—90% (табл.).

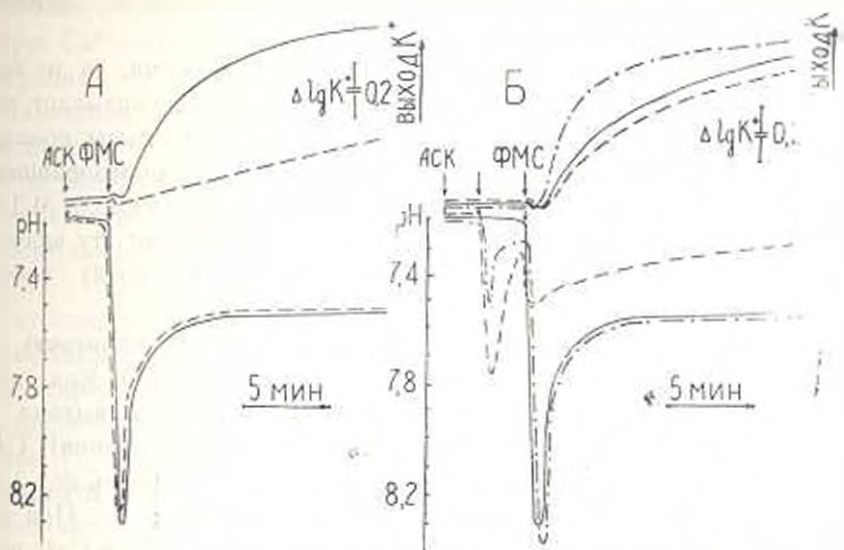


Рис. 1. Выход K⁺ и кинетика изменения pH, индуцированная электрондопорной системой аскорбат+ФМС. 0,1 мл клеток внесено в 3 мл среды, содержащей 150 мМ NaCl, 1 мМ CaCl₂ и 0,1 мМ KCl. Добавлены: А—10 мМ аскорбата и 0,1 мМ ФМС; — — аскорбат, ФМС и 66 мкМ ДЦКД. Б—10 мМ аскорбата и 0,1 мМ ФМС; — — аскорбат, 0,1 мМ менадиона и ФМС; — — аскорбат, 0,4 мМ ДХФИФ и ФМС; стрелка без обозначения между аскорбатом и ФМС—добавление менадиона или ДХФИФ. t=26±1°C.

Влияние исследуемых соединений на выход K⁺

Исследуемые соединения	Аскорбат	ФМС	Периодат Na
Олигомицин (13 мкМ)	+42±8	-34,5±10	* 1.1
ДЦКД (66 мкМ)	67.5±6.5	8.5±1.5	
Антимицин (18 мкМ)	+52±4	-45±10.5	* 24±7
Атебрин (0.25 мМ)	+90±10	-16±6	
Менадион (0.1 мМ)	+20±3	-16.5±2.5	
α-нафтол (0.1 мМ)	+38.5±9.5	-7±10	* 52±2
ДХФИФ (0.1 мМ)	-21.5±5.5	-65.5±5	* +40±4
ДХФИФ (0.4 мМ)	-68.5±3.5	-20±5	
Ионол (0.1 мМ)	+47±13	+12.5±2	* 40±4
α-токоферол (0.1 мМ)	-5±5	-10±4.5	+14±10
N-этилмаленид (0.3 мМ)	+54±4	+53.5±13	
ПХМБ (33 мкМ)	+56±12		
Дитиотреитол (0.35 мМ)	-10±6	-59±6.5	
SITS (80 мкМ)		+41.5±10	

Показан процент ингибирования (+) или активации (-) по отношению к контролю. Условия те же, что и в подписях под рис. 1 и 2. *В среде отсутствует Ca²⁺. Даны результаты 3—5 измерений.

Весьма интересно действие фенольных соединений, обладающих донорно-акцепторными свойствами (рис. 1Б, табл.). И менадион, ингибирующий выход K⁺, и ДХФИФ, увеличивающий K⁺ проводимость, добав-

ленные после аскорбата, сами вызывают двухфазное изменение pH, при этом менадион угнетает опосредованный ФМС всплеск pH, а ДХФИФ, наоборот, несколько увеличивает его. Добавим, что и менадион, и ДХФИФ, добавленные до аскорбата, сами по себе всплесков pH не вызывают. Другое фенольное соединение, α -нафтол, действует аналогично менадиону (табл.).

Антиоксидант ионол ингибирует потерю K^+ клетками, в то время как другой антиоксидант α -токоферол практически не оказывает влияния на калиевую проводимость (табл.). Между тем опыты показали, что если при добавлении аскорбата+ФМС количество образовавшегося МДА, конечного продукта ПОЛ, равняется $52,88 \pm 3,85$ мкмоль МДА/л-эритроцитов ($n=5$), то и α -токоферол и ионол уменьшают эту величину почти одинаково, до $42,62 \pm 3,84$ ($n=4$) и $41,65 \pm 4,8$ ($n=4$) соответственно.

Несколько по иному действуют эти соединения на калиевую проводимость, индуцированную периодатом (рис. 2, табл.). Как видно из рисунка, Ca^{2+} существенно увеличивает скорость выхода K^+ (1,12 ммоль/мин-л эр и 0,592 ммоль/мин-л эр соответственно). Отметим, что если концентрацию периодата в среде увеличить до 3 мМ, то Ca^{2+} практически не оказывает влияния на утечку K^+ . При этом второй горб по pH (рис. 2, среда без Ca^{2+}) более выражен и Ca^{2+} почти не сглаживает его.

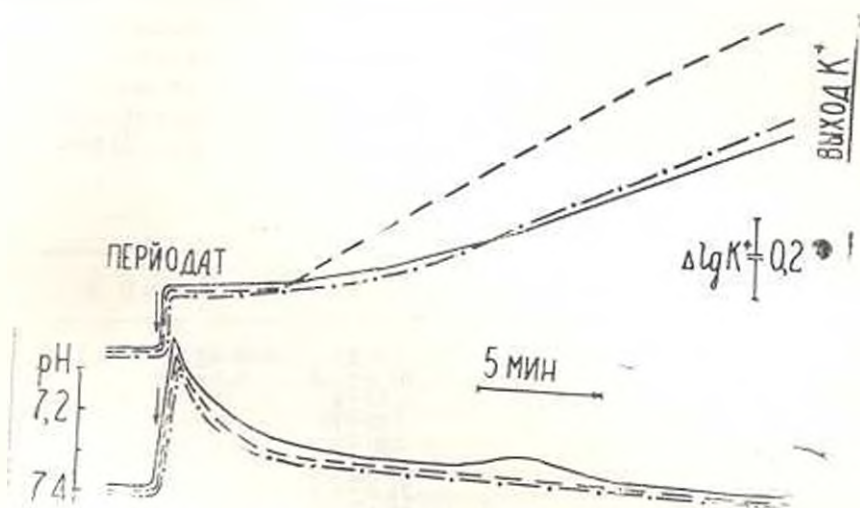


Рис. 2. Выход K^+ и кинетика изменения pH под действием периодата Na. 0,1 мл клеток внесено в 3 мл среды, содержащей 150 мМ холинхлорида и 0,1 мМ KCl. Добавлены: — 1 мМ периодата; — 1 мМ Ca^{2+} и периодат; — Ca^{2+} , 13,3 мкМ олигомицина и периодат $t=26 \pm 1^\circ C$.

ПОЛ в результате действия периодата использованным нами методом не выявлялось из-за обесцвечивания периодатом реагентов ТБК [13]. Однако в работе [13] отмечается повышение уровня диеновых конъюгатов, начальных продуктов ПОЛ. В течение эксперимента (20—25 мин) гемолиз эритроцитов в результате действия периодата практически не происходит.

Представляется возможным, что подобные различия в эффектах исследуемых соединений на катионную проводимость обусловлены неодинаковыми механизмами регуляции выхода K^+ .

Помимо того, что электрондонорная система аскорбат + ФМС индуцирует Ca^{2+} -зависимый K^+ канал, не исключено усиление входа Ca^{2+} в эритроциты вследствие ингибирования Ca^{2+} -АТФазы эритроцитов, «откачивающей» Ca^{2+} из цитоплазмы активированным кислородом, образующимся под действием ФМС [12]. Известно, что в мембранах эритроцитов обнаружены НАДН-дегидрогеназная и НАДН:цитохром с-редуктазная активности и цитохром c [6]. Антимицин ингибирует перенос электронов в митохондриях на участке от цитохрома c к цитохрому a [3]. Олигомицин и ДЦКД, классические ингибиторы H^+ -АТФазы митохондрий, могут связываться с НАДН-дегидрогеназой [3, 16]. Недавно было обнаружено, что ДЦКД может ингибировать НАДН:убихинон-оксиредуктазу из митохондрий сердца [18]. Атебрин же является специфическим ингибитором НАДН-дегидрогеназы плазматических мембран [7].

Эффекты фенольных соединений, менадиона, α -нафтола, ДХФИФ, а также «пространственно затрудненного» фенола конола нуждаются в более подробном рассмотрении. Было обнаружено, что менадион на 50% подавляет НАДН-дегидрогеназную активность эритроцитов [9]. Однако затем выяснилось, что это справедливо только для обработанных детергентом тритоном X-100 клеток [8]. В среде же без тритона менадион вызывает увеличение активности НАДН-дегидрогеназы. Отметим, что для индуцирования Ca^{2+} -зависимого K^+ канала необходимо присутствие ФМС. Очевидно, что только ФМС может эффективно взаимодействовать как переносчик электронов с мембранной оксиредуктазной системой [4]. Аскорбат же необходим как донор большого количества электронов. При восстановлении мембранных компонентов, экцентирующих два электрона с кажущимся редокс-потенциалом около -47 мВ, происходит сдвиг от низкого к высокому средству ионов Ca^{2+} [4]. Стандартные окислительно-восстановительные потенциалы менадиона, аскорбата, ФМС и ДХФИФ равны соответственно +8, +58, +80 и +217 мВ [3]. Можно предполагать, что имея разные потенциалы относительно аскорбата и мембранных компонентов, менадион и ДХФИФ будут или окисляться (менадион) или восстанавливаться (ДХФИФ), меняя тем самым окислительно-восстановительное состояние всей системы в целом. Это может приводить к изменению сродства мембран к Ca^{2+} и в конечном итоге уменьшать или увеличивать выток K^+ .

Можно предположить, что ингибирующее влияние α -нафтола также происходит из-за взаимодействия с редокс-цепочкой эритроцитов. В пользу этого говорит тот факт, что заместителем в нафталиновом кольце молекулы является группа OH, обладающая электрондонорными свойствами. Действие антиоксиданта конола, но не α -токоферола, тоже может быть обусловлено взаимодействием с окислительно-восстановительными компонентами мембран; таким образом, угнетение вытока K^+ не связано с ПОЛ.

Из таблицы видно, что блокировка SH-групп N-этилмаленимидом и ПХМБ ингибирует выход K^+ , т. е. эти группы участвуют в регуляции Ca^{2+} -зависимой K^+ проводимости, индуцированной электрондонорной системой. В то же время сам факт окисления этих групп не существен, поскольку дитиотреитол, восстанавливающий тиоловые группы, почти не оказывает влияния.

В работе [13] сообщалось, что периодат может образовывать поры в мембранах. Увеличение K^+ проводимости ионами Ca^{2+} говорит о том, что или активируется Ca^{2+} -зависимый K^+ канал, или Ca^{2+} действует на поры. Тот факт, что олигомицин, который блокирует Ca^{2+} -зависимый K^+ -канал, каким бы путем он не образовывался [2, 15], не оказывает влияния в бескальциевой среде (табл.), служит подтверждением индуцирования канала. Можно предположить, что Ca^{2+} входит в эритроциты вследствие ингибирования Ca^{2+} -АТФазы эритроцитов окислительными продуктами действия периодата или непосредственно через поры. Антимицин же, который уменьшает как Ca^{2+} -зависимый, так и Ca^{2+} -независимый выход K^+ , скорее всего, обладает какими-то побочными действиями на проводимость. Отметим, что антимицин ингибирует в эритроцитах не зависящий от Ca^{2+} выход K^+ , индуцируемый гетеротетрамом K^+ валиномицином [2, 15].

Из таблицы видно, что ингибирование ионолом и α -токоферолом калиевой проводимости существеннее без Ca^{2+} , чем в его присутствии. Это говорит о том, что антиоксиданты не влияют на Ca^{2+} -зависимую компоненту вытока K^+ . Ингибирование же может происходить вследствие подавления процессов окисления мембранных тиоловых групп, участвующих в образовании пор [13]. Липиды же не существенны для функционирования пор [13]. Поскольку фенольные соединения могут связываться с SH-группами, то представляется возможным, что ингибирование K^+ проводимости α -нафтолом и ДХФИФ есть результат их действия на тиоловые группы. Не исключено также предотвращение окисления этих групп указанными веществами.

Периодат ингибирует образование мембранных белковых агрегатов, причем важная роль в этом принадлежит SH-группам [13]. Обработка дитиотреитолом ведет к полному восстановлению прежней полинесптидной картины, а N-этилмаленимид, ковалентно связывающийся с тиоловыми группами, предотвращает образование белковых агрегатов [13]. В наших опытах оба эти соединения ингибировали выток K^+ (табл.).

Ингибитор транспорта анионов SITS уменьшает выход K^+ , очевидно, по двум причинам: 1) SITS может предотвращать проникновение периодата в эритроциты через анионную транспортную систему полисы 3 мембраны, поскольку периодат является анионом сильной неорганической кислоты [13]; 2) вследствие подавления выхода Cl^- [13], который может служить сопутствующим анионом для K^+ .

Таким образом, можно прийти к выводу о существовании различных механизмов выхода K^+ из клеток, индуцированного окислительными процессами. В отличие от периодата, образующего поры, Ca^{2+} -зави-

симый К⁺ канал, активируемый электрондонорной системой, функционально связан с мембранными редокс-компонентами и регулируется степенью востановленности электронтранспортной цепочки эритроцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гюльханбян А. В. Биол. журн. Армении, 40, 205—209, 1987.
2. Гюльханбян А. В. Биол. журн. Армении, 42, 25—31, 1989.
3. Мендлер Д. Биохимия. Пер. с англ., 2. М., 1980.
4. Alvarez J., Garcia-Sanchez J., Herreros B. Biochim. Biophys. Acta, 771, 23—27, 1981.
5. Brossmer R., Bohn B. FEBS Lett., 42, 116—118, 1974.
6. Bruder G., Bretscher A., France W. W., Jarash E. D. Biochim. Biophys. Acta, 600, 739—755, 1980.
7. Crane F. B., Löw H. FEBS Lett., 69, 153—156, 1976.
8. Fahlau R., Grygorczyk R., Fuhrmann G. F., Schwarz W. Biochim. Biophys. Acta, 978, 37—42, 1989.
9. Fuhrmann G. F., Schwarz W., Kersten R., Sdun H. Biochim. Biophys. Acta, 820, 223—234, 1985.
10. Garcia-Sanchez J., Sanchez A., Herreros B. Biochim. Biophys. Acta, 556, 118—130, 1979.
11. Gyulxhandanyan A. V. Studia biophys. 133, 113—122, 1989.
12. Heibel R. P., Shatev O., Foker W., Rank B. H. Biochim. Biophys. Acta, 892, 8—16, 1986.
13. Heller K. B., Poser B., Haest C. W. M., Deuticke B. Biochim. Biophys. Acta, 777, 107—116, 1984.
14. Maridonneau L., Braquet P., Garay R. P. J. Biol. Chem., 258, 3107—3113, 1983.
15. Sanchez A., Garcia-Sanchez J., Herreros B. FEBS Lett., 10, 65—68, 1980.
16. Solloz M. Trends in Biochim. Sci., 9, 303—312, 1984.
17. Stocks J., Dormandy T. L. Br. J. Haematol., 20, 95—111, 1971.
18. Vuokila P. T., Hassinen I. E. Biochem. J., 219, 339—344, 1988.

Поступило 16.IV 1990 г.

Биол. журн. Армении. № 6 (43), 1990

УДК 577.1

ВЛИЯНИЕ НЕЙРОГОРМОНА «С» НА ЗАХВАТ ³H-НОРАДРЕНАЛИНА СРЕЗАМИ СЕРДЦА КРЫСЫ ПРИ БЛОКАДЕ РЕЦЕПТОРОВ

Р. О. КАРАПЕТЯН, Т. В. ПОПОВА, М. Ш. МУРАДЯН, А. А. ГАЛОЯН
Институт биохимии АН АрмССР, Ереван

НС усиливает захват ³H-норадrenalина различными частями срезов сердца. Под влиянием НС при предварительной блокаде рецепторов только нейрональный ингибитор кокаин активирует захват амина во всех частях сердца, т. е. наблюдается миомышечный захват. Активация захвата ³H-нор-

Сокращения: НС—нейрогормон «С», НА—норадrenalин, ЭГТА—этиленгликоль-тетрауксусная кислота, ПП—пропранолол, ФА—фентоламин, Кок—кокаин, ДМИ—десметилпиперазин, ИзПНА—изопропилнорадrenalин, НТ—налтрексон, Н—налоксон, Атр—атропин, Ам—амизл.

адреналина под влиянием НС + Кок. по-видимому, связана с участием в регуляции функционального и метаболического обмена медиатора в нейроне.

Ներշնչումն «С»-ի արտի տարրեր նախաձեռնում ուժեղացնում է β 1-նորադրե-
նալինի կլանումը: ՆԱ-ի ուժեղացնող ազդեցությունը առկա է հոգիանով նախաձեռ-
նելուց կլանման բլոկադայի դեպքում: Որտի բոլոր նախաձեռնում ուժեղա-
նում է աժիկի կլանումը՝ նկատվում է միոմկանային կլանում:

Ըստ երևույթի, աժիկի կլանման ուժեղացումը ՆԱ-ի և բլոկատորների ազ-
դեցության ներքո կարելի է դիտել ներշնչում մեղրատորի ֆունկցիոնալ և մետա-
բոլիկ փոխակերպման կարգավորումով:

Neurohormone "C" (NC) increases the uptake of H^3 -noradrenaline (NA) by different parts of heart slices, under NC influence at preliminary blockade of receptors only neuronal inhibitor, kokain activates amine up-
take in all parts of the heart, that means we notice a myomuscular uptake. The largest activation of H^3 -NA uptake under NC + Kok influence, proba-
bly, takes place because of its participation in the regulation of auton-
omous metabolism of mediators in the neuron.

Нейрогормон «С» — норадреналин — блокада рецепторов

Нейрогормон «С» оказывает значительное метаболическое влияние на различные органы, в особенности на сердце, участвуя в регуляции активности фосфорилазы, гексокиназы и ферментов цикла Кребса [1]. По данным экспериментальных и клинических исследований, НС может также служить эффективным средством при лечении ряда спазматических болезней сердца [2, 3]. Сердце является органом-мишенью для НС, а последний в свою очередь является ингибитором фосфодиэстеразной активности [4].

Первые окончания обладают способностью почти немедленно захватывать продукты их секреции. Поэтому транспорт может быть двухсторонним феноменом в нервных окончаниях. В этих процессах — как в мобилизации, так и транспорте в обоих направлениях — важную роль играют электролиты [7]. Показано, что захват норадреналина (циркулирующего) происходит в большей степени в тканях с богатой симпатической иннервацией, таких, как сердце [8]. Нейроны, которые выделяют норадреналин, обладают специфической транспортной системой, способной транспортировать НА из внешней среды внутрь нейрона. Подобные системы имеются в нейронах, содержащих серотонин и дофамин. В холинергических нейронах имеется система захвата для предшественника — холина [9].

Нами показано, что НС (0,02–0,1 мЕ/мл) проникает через плазматическую мембрану клетки, высвобождая Ca^{2+} из внутриклеточных резервуаров, в результате чего повышается внутриклеточный уровень Ca^{2+} , приводящий к инактивации Ca^{2+} -канала. В присутствии ЭГТА ингибиторный эффект НС на Ca^{2+} -ток резко снижается [5]. Не исключена возможность влияния НС на клеточную мембрану. Это влияние приводит к повышению чувствительности медиаторов нервной системы — норадреналину и ацетилхолину [6].

В настоящей работе представлены результаты изучения влияния НС и веществ, специфически блокирующих α - и β -адренорецепторы, хо-

адренорецепторы и рецепторы морфина, на скорость захвата ^3H -норадреналина изолированными срезами сердца.

Материал и методика. Опыты проводили на белых крысах породы вистар массой 180–200 г. Крыс оглушали электрическим током и декапировали. Срезы правого и левого частей предсердия и желудочков сердца инкубировали в растворе Тироде, содержащем (в мМ) NaCl —153,9, KCl —4,5, CaCl_2 —2,5, MgCl_2 —1,0, NaHCO_3 —11,9, NaH_2PO_4 —1,0, глюкозу—5,5, аскорбиновую кислоту—2,8. Инкубацию проводили в течение 30 мин в камере объемом 10 мл при 37° , насыщенном кислородом. Затем в свежем растворе Тироде проводили инкубацию с ингибиторами рецепторов в течение 20 мин, после чего срезы по 30 мин инкубировали в свежем растворе Тироде в присутствии НС и ^3H -норадреналина в концентрации 0,02 мкКи/мл ($3 \cdot 10^{-9}$). По окончании инкубации срезы пятикратно промывали раствором Тироде, затем их помещали в сцинтилляционные кюветы, заливали 1 мл этилового спирта и оставляли на 16–18 часов. После этого добавляли в кюветы 10 мл сцинтилляционной жидкости, содержащей 4 г ППО (2,5-дифенилоксазол) и 100 мг ПОПОП (1,4-ди-5-фенил-2-оксазолит бензол) на 1 л толуола [10]. Радиоактивность измеряли на жидкостном сцинтилляционном счетчике СЛ-30 «Интертек» (Франция) с внешним стандартом, что позволило выразить захват ^3H -норадреналина в распадах в мин на 1 г ткани. В опытах был использован ^3H -норадреналин фирмы «Амершам» (Англия) с удельной активностью 8,2 Ки/ммоль.

Результаты и обсуждение. Предсердия, как и большинство органов, иннервируются длинными постганглионарными адренергическими нейронами [11] и имеют достаточно плотную симпатическую иннервацию при небольшом объеме мышечной ткани [12].

Для определения звена, на которое действует НС, был поставлен ряд опытов со срезами правых и левых предсердий и желудочками сердца. Как видно из рисунков, НС в дозе 0,2 ФДЭ Е вызывает усиление захвата амина срезами по сравнению с контролем в правом и левом предсердии на 106 и 25% соответственно, в правом и левом желудочках сердца—на 87 и 91% соответственно.

Блокада β -адренорецепторов пропранололом в концентрации $5 \cdot 10^{-7}$ М приводит к активации захвата амина в правом и левом предсердии на 121 и 31% соответственно. В желудочках сердца подобного эффекта не наблюдается. НС в сочетании с пропранололом снимает захват амина во всех отделах сердца, кроме правого желудочка, где захват амина составляет 36%.

Блокатор α -адренорецепторов фентоламин ($5 \cdot 10^{-7}$ М) приводит к активации захвата норадреналина во всех частях сердца, больше этот эффект выражен в правом предсердии (138%, $P > 0,001$). В сочетании с НС наблюдаемый положительный эффект также сохраняется только в срезах правого желудочка сердца.

Интерес представляют данные, полученные под влиянием ингибиторов нейронального захвата кокаина ($5 \cdot 10^{-5}$ М) и ДМИ ($5 \cdot 10^{-7}$ М) и при их сочетании с НС.

Кокаин и ДМИ—специфические ингибиторы нейронального захвата—приводят к отрицательному захвату амина срезами сердца, исключение составляет влияние ДМИ на захват амина правым предсердием, где положительный эффект составляет 51% с вероятностью $P < 0,001$. Под влиянием НС при предварительной блокаде нейронального захвата кокаином во всех частях сердца активируется захват амина: в пра-

вом и левом предсердиях на 218 и 101%, правом и левом желудочках сердца — на 142 и 235% соответственно по сравнению с кокаиновым эффектом (рис. 1—4).

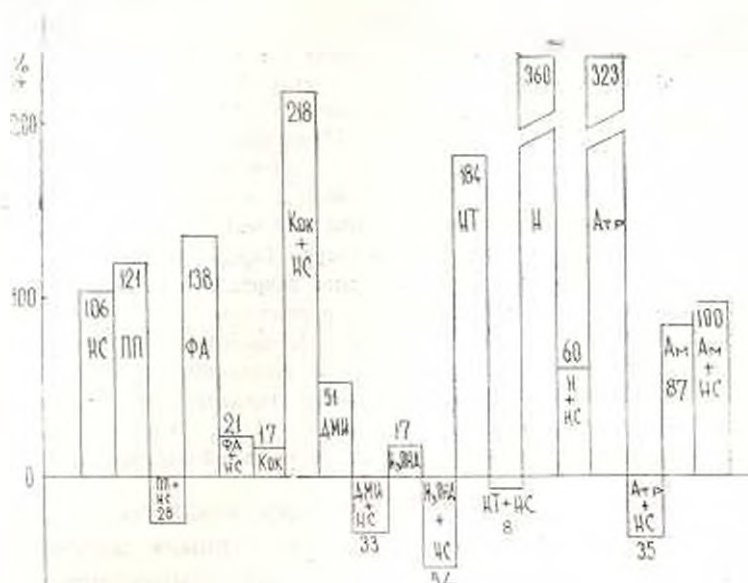


Рис. 1. Захват норадреналина-НЗ срезами правого предсердия под влиянием НС и его сочетаний с ингибиторами адрено-, морфино- и холинорецепторов. По оси ординат — отклонение от контрольных данных в %. Вероятность ингибиторов и НС приведена в сравнении с контролем, а сочетание ингибиторов с НС с результатами соответствующих ингибиторов. Средние данные 6—12 опытов.

Полученные результаты позволяют считать, что НС, снимая эффект кокаина, вместе с тем увеличивает чувствительность адренергических структур, накапливая норадреналин.

Второй блокатор нейронального захвата ДМН в сочетании с НС сохраняет свой отрицательный захват во всех частях сердца, кроме левого предсердия, где положительный захват составляет 215%. Положительный захват в правом предсердии исчезает.

Следующая серия опытов проводилась с НЗННА — ингибитором экстранейронального захвата ($5 \cdot 10^{-7}$ М), который сам не поглощается нейронами и вызывает отрицательный захват, эта же тенденция сохраняется при сочетании с НС.

Характер действия блокаторов рецепторов морфина налтрексон ($0,3 \cdot 10^{-8}$ М) и налоксон ($0,39 \cdot 10^{-8}$ М) на отделы сердца неодинаков. Если в левом желудочке сердца их стимулирующее действие с НС суммируется, то в правом этот эффект снижается. Налтрексон стимулирует захват амина в правом предсердии, а левом же оказывает отрицательное воздействие. Но в сочетании с НС этот стимулирующий эффект в правом предсердии отрицательный, а в левом стимулирование составляет (—) 39 до 155%.

Представляют особый интерес данные, полученные с литиками хо-
линорецепторов — амизилом ($0,29 \cdot 10^{-8}$ М) и атропином ($0,15 \cdot 10^{-8}$ М),
которые вызывают во всех частях сердца положительный захват. Ис-

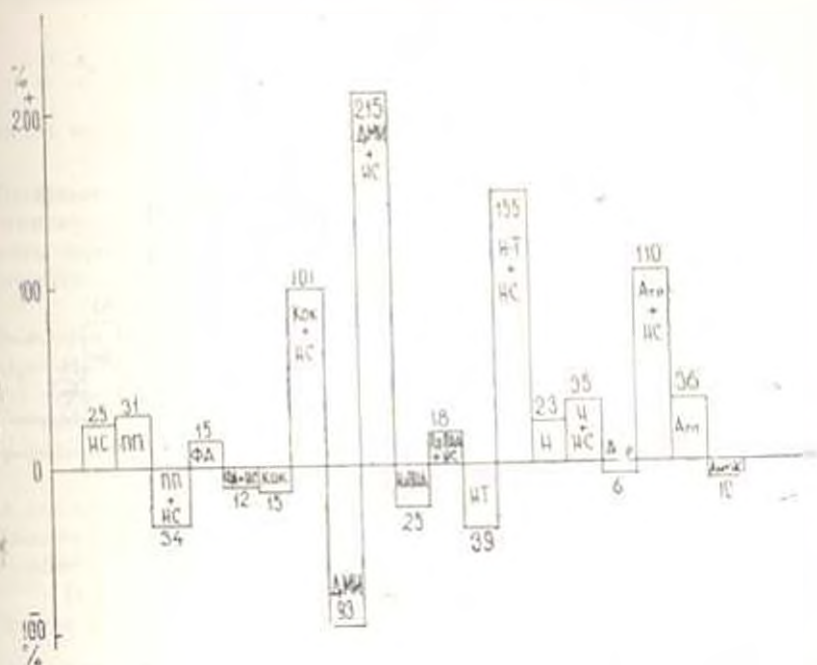


Рис. 2. Захват норadreналина H^3 срезами левого предсердия под влиянием НС. Обозначения на рис 2—4 те же, что на рис 1.

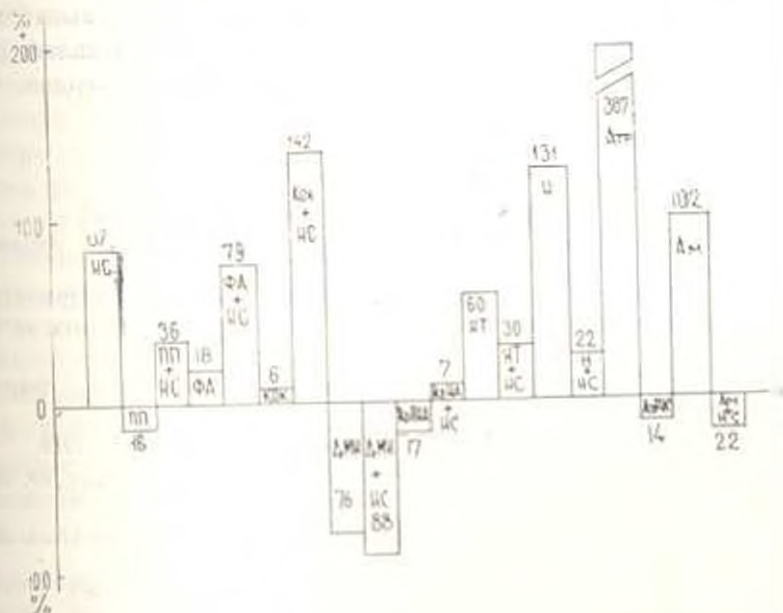


Рис. 3. Захват норadreналина H^3 срезами правого желудочка сердца под влиянием НС

ключение составляет лишь левое предсердие, где влияние атропина от-
рицательное. В сочетании с НС указанные вещества вызывают отрица-

тельный захват. Исключение составляют эффект с амизилом в правом предсердии, где он суммируется и доходит до 100% ($P < 0,02$) и в левом предсердии с атропином, где он равен 110% ($P < 0,01$).

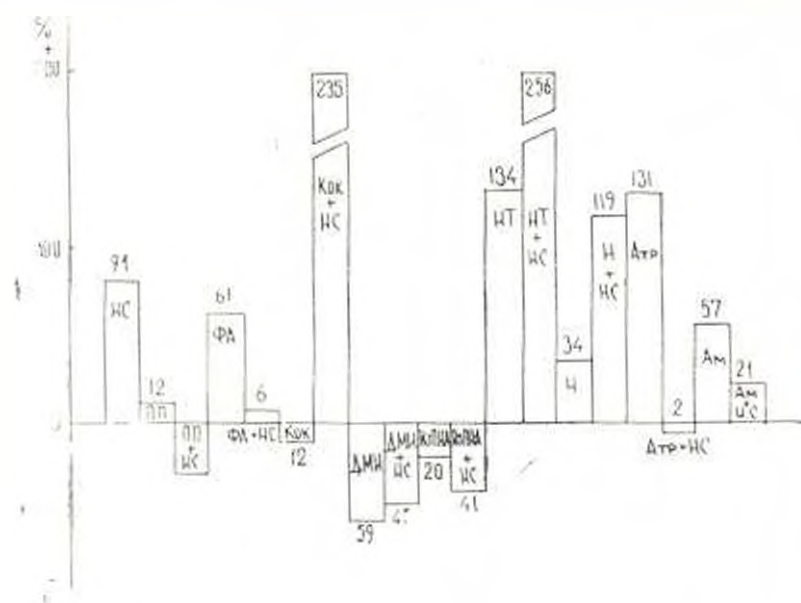


Рис. 1. Захват норадрепалина-Н3 срезами левого желудочка сердца под влиянием НС.

Полученные в настоящей работе результаты позволяют считать, что действие нейрого르몬а осуществляется через нейрональный захват адренорецепторов. Лишь в сочетании с кокаином НС проявляет характерный для него эффект, и органом-мишенью является сердце.

ЛИТЕРАТУРА

1. Галоян А. А., Алексанян С. С. ДАН АрмССР, 58, 3, 183—187, 1974.
2. Меликян А. А., Галоян А. А., Шерфукалова Л. Ф., Манасян Л. А., Абабян К. ДАН АрмССР, 57, 1, 58—64, 1973.
3. Давидович Э. А., Галоян А. А., Григорян А. А. ДАН АрмССР, 57, 2, 124—128, 1973.
4. Галоян А. А., Гурвич Б. Я., Погосян М. А. Вопросы биохимии мозга, 11, 89—Ереван, 1976.
5. Алексян А. Р., Сванишян Р. М., Карапетян Р. О., Галоян А. А. Нейрохимия, 6, 2, 227—230, 1987.
6. Пилинчева Т. Н., Карапетян Р. О. ДАН АрмССР, 69, 2, 119—124, 1979.
7. Borydanski D. F. Advances in experimental medicine and biology, 69, 291—1975.
8. Snyder S. H. et al. New concepts in neurotransmitter regulation (A. I. Mann ed) 195—222, Plenum New York.
9. Berti F. and Shore P. A. Biochem. Pharmacol., 16, 2091—2094, 1967.
10. Conte T. I., Axelrod I. Neurochem., 18, 2061—2070, 1971.
11. Levitt M., Spector, S. J. Trends, J. Pharm. exp. thes., 14, 1965.
12. Tharmort J. C. I. Cell. Biol., 29, 156—164, 1966.

Поступило 6.VI 19

189

рактеризующими функциональную активность лейкоцитов периферической крови, являющимися показателями неспецифического иммунитета и имеющими патогенетическую обусловленность при ПБ у детей.

Материал и методика. Клинический материал представлен данными обследования 88 детей, больных ПБ (29 девочек, 66 мальчиков) в возрасте от 3 до 15 лет. Отбирали некоторые анамнестические сведения, результаты клинических, иммунологических, биохимических и других лабораторных исследований в период приступа и вне его. Всего 81 признак, из них 73 имели четкую количественную характеристику. Неспецифический иммунитет, выражающийся в показателях активности щелочной и кислой фосфатаз, миелопероксидазы нейтрофилов, кислой фосфатазы и сукцинатдегидрогеназы лимфоцитов, определяли цитохимическим методом в мазках периферической крови по Нарциссову [5].

Для выявления внутренней структуры взаимозависимостей используемых параметров применена модель факторного анализа, в частности метод главных компонент для факторизации и последующее варимакс вращение для обеспечения интерпретации полученных факторов [4, 6].

Программная реализация модели проведена в среде пакета прикладных программ Калифорнийского университета ВМДР-77 [7].

Результаты и обсуждение. Применение факторного анализа позволило четче обрисовать уже известные патологические аспекты заболевания, связанные с ферментативным профилем лейкоцитов и являющиеся доказательством процесса их дегрануляции в момент приступа.

Анализ произведен по отдельным формам заболевания: абдоминальной, поракальной, смешанной. Наиболее примечательными являются следующие корреляции цитохимических показателей. При ПБа (табл. 1) имеется положительная корреляция (Fa-1) между показателями ЦФН, МПН, СДГЛ и КФН, а также КФЛ во внеприступном периоде (в памяти и перенесенном обострении). В корреляции участвуют показатели, характеризующие иммунокомпетентную систему: лимфоциты, моноциты, а также палочкоядерные и сегментоядерные нейтрофилы (участие различных звеньев иммунной системы в реализации приступа). Примечательно, что длительное питание материнским молоком в последующем сопровождается снижением неспецифической резистентности в момент приступа ПБ, особенно в случаях с отягощенным по данному заболеванию семейным анамнезом (Fa-3).

Развитие амилоидоза при ПБа (Fa-3), независимо от периода заболевания, сопровождается угнетением бактерицидной функции нейтрофилов (снижение активности МПН), истощением энергетических ресурсов (понижение активности СДГЛ), повышением поглотительной способности нейтрофилов (значительное увеличение внеприступных значений ЦФН). Последнее, возможно, является результатом увеличения количества паракриново-предшественников амилоидного—SAA белка. Указанные изменения в основном сохраняются и во внеприступном периоде, т. е. речь идет не о временных сдвигах, реализующих приступ, а о более постоянных патологических механизмах заболевания, связанных с поражением клеточного звена иммунной системы.

Высокий уровень иммунологических показателей во время ремиссии (Fa-7) сочетается с низкими значениями КФН, КФЛ, а также с моноцитопенией. Эта тенденция более выражена при отягощенности на-

Таблица 1. Матрицы нагрузок некоторых варимакс-факторов при абдоминальной форме периодической болезни у детей

Признаки	Варимакс-факторы			
	F ₁ —1	F ₁ —3	F ₁ —7	F ₁ —11
1. Давность заболевания	0.0	0.6	0.0	0.0
2. Возраст отца	0.0	0.0	0.0	-0.3
3. Разница в возрасте родителей	0.0	0.0	0.0	-0.7
4. Отягощенность ПБ по линии матери	0.0	-0.7	0.0	0.0
5. ————— по отцу	0.0	0.0	0.3	0.3
6. Сроки кормления грудью	-0.4	0.0	0.0	0.0
7. Продолжительность приступа	0.0	0.0	0.0	0.6
8. Количество эозинофилов—1	0.6	0.0	0.0	0.0
9. Количество палочкоядерных нейтрофилов—1	0.5	0.0	0.0	0.0
10. Количество сегментоядерных нейтрофилов—1	0.6	0.0	0.0	0.0
11. Количество лимфоцитов—1	0.6	0.3	0.0	0.0
12. Количество моноцитов—1	0.5	0.3	-0.3	0.0
13. Уровень СОЭ—1	0.0	0.4	0.0	-0.4
14. Уровень СОЭ—2	0.0	0.6	0.0	-0.4
15. Уровень общего белка крови	0.0	0.0	0.0	0.3
16. Активность ЩФН—1	0.9	0.0	0.0	0.0
17. Активность ЩФН—2	0.0	0.6	0.0	0.0
18. Активность КФН—1	0.7	0.0	0.0	0.4
19. Активность КФН—2	0.0	0.0	-0.4	0.0
20. Активность КФЛ—2	0.8	0.0	-0.6	0.0
21. Активность ЛПН—1	0.9	0.0	0.0	0.0
22. Активность МПН—2	0.0	0.6	0.0	0.0
23. Активность СДГЛ—1	0.8	0.0	0.0	0.0
24. Активность СДГЛ—2	0.0	-0.5	0.0	0.0
25. Количество Т-лимфоцитов	0.0	0.0	0.8	0.0
26. Уровень иммуноглобулинов А, М, G	0.0	0.0	0.0	0.0
27. Индекс Мурванидзе	0.0	-0.7	0.0	0.0
28. Наличие мочевого синдрома	0.0	0.9	0.0	0.0
29. Сопутствующие холангиохолециститы	0.0	0.0	0.3	0.0
VP	6.1	5.4	4.6	3.07

Примечание: индекс при F обозначает клиническую форму ПБ, при анализе которой получен данный варимакс-фактор, цифра указывает порядковый номер варимакс-фактора. Лабораторные показатели периода приступа обозначены цифрой 1, внеприступного—цифрой 2.

следования ПБ по отцу, а также в случае наличия у больного хронического холангиохолецистита в качестве сопутствующего заболевания. Большая разница в возрасте родителей и зрелый возраст отца способствует высокому уровню СОЭ и значительному увеличению активности КФН во время приступа; в таких случаях отмечается снижение уровня общего белка крови (F₁-11).

При ПБт (табл. 2) как приступные, так и внеприступные значения петохимических показателей (КФН, ЩФН, КФЛ, СДГЛ, ШФН) скоррелированы между собой, а также с уровнями гемоглобина, эозинофилов и СОЭ (F₁-5). Длительное вскармливание материнским молоком в

анамнезе и осложнение ПБ заболеваниями желудочно-кишечного тракта способствуют высокому уровню этих ферментов, что чаще наблюдается у девочек при ранней манифестации заболевания. Высокая активность КФН (Fт-6) в течение заболевания коррелирует с выраженной амплитудой изменения активности аланинаминотрансферазы и аспар-

Таблица 2. Матрицы нагрузок некоторых варимакс-факторов при торакальной форме периодической болезни у детей

Признаки	Варимакс факторы		
	F _т —3	F _т —5	F _т —6
1. Возраст больного	0.0	-0.5	0.0
2. Пол больного	0.0	-0.5	0.0
3. Возраст манифестации ПБ	0.0	-0.3	0.0
4. Сроки кормления грудью	-0.4	0.2	0.0
5. Частота приступов	-0.7	0.0	0.0
6. Продолжительность приступов	-0.5	0.0	0.0
7. Наличие мочевого синдрома	0.0	0.0	0.0
8. Наличие суставного синдрома	0.0	0.0	-0.5
9. Сопутствующие дискинезии	-0.9	0.3	0.0
10. Сопутствующие желуд.-кишечные заболевания	0.0	0.4	0.4
11. Сопутствующие другие заболевания	0.6	0.0	0.0
12. Уровень гемоглобина—1	0.0	0.4	0.6
13. Количество палочкоядерных нейтрофилов—1	0.0	0.8	0.0
14. Количество сегментоядерных нейтрофилов—2	0.0	0.3	-0.9
15. Количество лимфоцитов—2	0.0	-0.3	0.9
16. Количество моноцитов—1	0.0	0.0	-0.6
17. Количество эозинофилов—1	0.0	0.8	0.0
18. Уровень СОЭ—2	0.4	0.7	0.0
19. Активность ЩФН—1	0.0	0.6	0.0
20. Активность ЩФН—2	0.0	0.7	0.0
21. Активность КФН—1	0.0	0.6	0.0
22. Активность КФН—2	0.3	0.0	0.8
23. Активность КФЛ—1	0.0	0.0	0.8
24. Активность КФЛ—2	0.4	0.7	0.0
25. Активность МПН—1	0.9	0.0	0.0
26. Активность СДГЛ—1	0.5	0.0	0.0
27. Активность СДГЛ—2	-0.1	0.8	0.0
28. Активность АЛТ—1	0.9	0.0	-0.4
29. Активность АЛТ—2	0.0	0.0	-0.6
30. Активность АСТ—2	0.0	0.0	0.6
31. Активность амилазы—2	-0.5	0.0	0.6
32. Уровень β -липопротеидов	0.3	0.0	-0.5
VP	8.7	7.5	7.4

татаминотрансферазы и β -липопротеидов в зависимости от периода заболевания, а также с высоким уровнем амилазы в крови. Осложнения ПБт желудочно-кишечными заболеваниями или артропатией заметно влияют на активность названных выше ферментов. Их высокая активность и низкий уровень СДГЛ и МПН сочетаются с моноцитопенией во время приступа.

Уровень МПН во время приступа ПБт положительно коррелирует с активностью аминотрансфераз (АСТ, АЛТ), снижение активности этих ферментов имеет место при особо тяжелом и длительном течении заболевания, с частыми, продолжительными приступами, с нарушением функций поджелудочной железы и почек. Эти явления усугубляются при имевшем место в анамнезе длительном вскармливании материнским молоком, а также при наличии сопутствующей патологии (воспалительные заболевания дыхательной системы и ЛОР-органов).

Таблица 3. Матрицы нагрузок некоторых варимакс-факторов при смешанной форме периодической болезни у детей

Признаки	Варимакс-факторы		
	F _{см} — 1	F _{см} — 6	F _{см} — 9
1. Возраст манифестации ПБ	0.0	0.6	0.0
2. Возраст отца	0.4	-0.5	0.0
3. Возраст матери	0.0	0.4	0.0
4. Отягощенность ПБ по матери	0.0	-0.9	0.0
5. Отягощенность ПБ по линии матери	0.0	0.0	0.8
6. Отягощенность по отцу	0.5	0.5	0.0
7. Отягощенность по свекрам	0.0	0.0	0.4
8. Частота приступов	0.0	0.4	0.4
9. Активность ЩФН—1	0.96	0.0	0.0
10. Активность МТН—1	0.96	0.0	0.0
11. Активность МПН—2	0.0	0.0	0.8
12. Активность СДГЛ—1	0.95	0.0	0.0
13. Активность СДГЛ—2	0.0	0.9	0.0
14. Активность КФН—1	0.8	0.0	0.0
15. Активность КФН—2	0.0	0.8	0.0
16. Активность КФЛ—1	0.6	0.0	0.0
17. Активность КФЛ—2	0.3	0.5	0.0
18. Уровень гемоглобина—1	0.96	0.0	0.0
19. Количество эритроцитов—1	0.9	0.0	0.0
20. Количество лейкоцитов—1	0.95	0.0	0.0
21. Количество лимфоцитов—1	0.4	0.0	0.0
22. Количество моноцитов—1	0.4	0.0	0.0
23. Активность СРП—1	0.6	-0.3	0.0
24. Активность СОЭ—1	0.7	0.0	0.0
25. Активность β-липопротеидов—1	0.4	0.0	0.0
26. Активность β-липопротеидов—2	0.5	0.4	0.0
27. Активность сиаловых кислот—2	0.0	0.0	0.4
28. Активность диастазы—2	0.0	0.3	0.7
29. Активность АЛТ—1	0.0	0.0	-0.4
30. Активность АСТ—1	0.0	0.0	-0.3
УР	11.89	4.3	3.3

Для ПБсм (табл. 3) также характерна корреляция цитохимических показателей (ЩФН, КФН, КФЛ, СДГЛ, МПН) в момент приступа с уровнем гемоглобина, количеством эритроцитов, лейкоцитов, лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов и β-липопротеидов (F_{см}-1). Высокие значения СДГЛ и КФН в период ремиссии чаще наблюдаются при се-

мейной отягощенности ПБ, особенно в случае поздней манифестации заболевания (Гсм-6). Отягощенность ПБ по матери или отцу не препятствует нормализации активности МПН во время ремиссии (Гсм-1), что сочетается, однако, с частыми приступами, высоким уровнем диастазы мочи, низкими значениями АСТ, АЛТ. Отягощенность по отцу сопровождается, как правило, более низкими значениями МПН.

Подытоживая приведенные данные, следует отметить типичную для всех клинических форм связь цитохимических показателей между собой, что свидетельствует о едином патогенетическом механизме. Их объединяет также корреляция с другими показателями иммунитета (иммуноглобулинами, числом лимфоцитов, нейтрофилов, моноцитов). Однако больший интерес представляют различия в патогенетических взаимосвязях при различных формах заболевания.

Фактор длительного вскармливания материнским молоком в анамнезе коррелирует с цитохимическими и другими патогенетически обусловленными факторами лишь при изолированных формах заболевания. При рассмотрении этого фактора как способствующего манифестации ПБ его отсутствие в корреляции можно объяснить особенностями механизма наследования и пенетрантности: для проявления форм с относительно малой экспрессивностью (ПБв, ПБг) необходимо дополнительное воздействие ряда провоцирующих факторов (например, длительное вскармливание материнским молоком), в то время как смешанная форма в силу своей большей генетической отягощенности обнаруживает меньшую зависимость от влияния факторов внешней среды. В аспекте генетических особенностей заболевания представляет интерес и тот факт, что при ПБсм, в отличие от изолированных форм, не выявляется существенной взаимосвязи цитохимических показателей с развитием мочевого синдрома. Это обстоятельство требует дальнейшего изучения и интерпретации. Весьма интересны также некоторые особенности коррелятивной связи цитохимических показателей с генеалогическими данными (возраст родителей в момент рождения ребенка, разница в их возрасте, отягощенность по отцовской или материнской линии), а также с факторами, характеризующими пенетрантность ПБ (возраст манифестации).

Таким образом, изучение цитохимических показателей при ПБ в детском возрасте само по себе имеет определенную практическую значимость, однако применение методов многомерного статистического анализа во многом обогащает полученные результаты, открывая качественно новые возможности для их интерпретации с целью уточнения патогенеза заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Астацатрян В. А., Торосян Е. Х. Периодическая болезнь у детей. Ереван, 1989.
2. Гурович В. А., Карпов А. П. Многомерный статистический анализ в медицине. Свердловск, 1983.
3. Жилинская М. В., Большакова Г. С., Кипустян А. М., Чичерин Ч. П. Вопросы охр. мат. 17, 8, 66—70, 1972.
4. Ибсери К. Факторный анализ. М., 1980.

Б. Нарцисова Р. П. Автореф. докт. дисс., М., 1970

Б. Харман Л. Г. Факторный анализ. М., 1980.

7. Dixon W. J., Brown M. B. BMDP-77, Biomedical Computer Programs P-series, University of California, Press Brekly, Los-Angeles, University of California, 1977.

Поступило 14.XII 1989 г.

Бюлог. журн. Армении, № 6 (43) 1990

УДК 575.174:599.9

АНТРОПОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЫХОДЦЕВ С ТЕРРИТОРИИ ИСТОРИЧЕСКОЙ АРМЕНИИ МУШ (ЖИТЕЛИ ТАЛИНСКОГО РАЙОНА)

Р. М. АРУТЮНЯН, Г. С. ШИРИНЯН, К. Ю. МАРТИРОСЯН, Н. Р. КОЧАР

Ереванский государственный университет,

Институт археологии и этнографии АН АрмССР, Ереван

Показано, что временная протяженность поколения составляет приблизительно 25 лет, социально обусловленные границы репродуктивного периода — в среднем 25,0—38,7 лет, репродуктивный период—14 лет. Среднее число детей в семьях пробандов—6,1. Оценка чувствительности к фенилтиомочевине выявила низкую гиперчувствительность. Анализ дерматоглифических признаков показал большую генетическую общность с тотальной армянской популяцией.

Ցույց է տրվել, որ սերնդի ժամանակավոր տևողությունը հավասար է մոտավորապես 25 տարեկանի, սոցիալական պայմանավորված սահմանները միջինում կազմել են 25,0—38,7 տարեկան տևողությունից շրջանը՝ 14 տարեկան, երեխաների միջին փվերը բնականորեն 6,1: Ֆենիլթիոմիդի պայմանում գդալունության դեմատականեր եղել է ցածր: Դերմատոգլիֆիկական հատկանիշների համախառնության անալիզը ցույց է տվել, որ զրանք դառնում են հայկական պոպուլյացիայի դերմատոգլիֆիկական հատկանիշների փոփոխականության սահմաններում:

Some anthropological characteristic groups of natives from the region of Historical Armenia—Mus' (territory in modern Turkey) older than 65 years, has been studied who came to Eastern Armenia in 1915 and now live in Talin region of the Arm. SSR, showed that, temporarily length of generation is equal nearly to 25 years, social brings about the border of reproductive period, makes average 25,0—38,7 years, reproductive period—14 years. Average number of children in families of probands—6,1. Value for sensitivity and phenylthiomochevine showed low hypersensitivity.

The analysis of dermatological signs showed big genetical community with total Armenian population.

Генетика армянского народа—репродуктивный период—дерматоглифика.

Представленный в настоящем сообщении материал собран в июне 1989 г. экспедицией проблемной лаборатории цитогенетики Ереванского государственного университета в Талинском районе АрмССР. Исследовано 83 человека, выходцев из города Муша. Методика получения и обработки материала описана ранее [1].

Г. Муш находится в южной части Мушской равнины, у северного подножья Армянского тавра.

В X—XIII веках армянское население Муша составляло 20—25 тыс. человек. В 1890—1914 гг. численность его вследствие репрессий турецких властей снизилась до 9 тыс. человек.

В 1915 г. армянское население Муша подверглось массовому уничтожению, а уделевшая часть его мигрировала, в частности, в Восточную Армению.

На основании результатов анкетирования установлено, что средний возраст вступления в брак для мужчин составляет 26 лет, для женщин 22,5 лет. Социально обусловленные границы репродуктивного периода находятся в интервале 27—41 лет для мужчин и 23—36 лет для женщин. Репродуктивно-активный период в среднем 14 лет.

В исследуемой выборке протяженность поколения составляет 25 лет. Число умерших детей в семьях пробандов, не достигших репродуктивного возраста, по данным опроса многодетных семей, составляет 13,96%. Средний интервал между последовательными рождениями детей, доживших до репродуктивного периода, находится в пределах 2,6 (1—2)—3,18 (7—8) лет, что несколько ниже по сравнению с данными из Баязета [2].

Анализ анкетных данных показал, что величины средних размеров семей в 4 поколениях мушской группы изменяются в той же последовательности, что и в выборке из Баязета [2]. Максимум характерен для I и III поколений.

Анализ порогов чувствительности к РТС выявил низкую гиперчувствительность. Характерны максимумы для трех пороговых значений—4, 8, 10 (рис. 1).

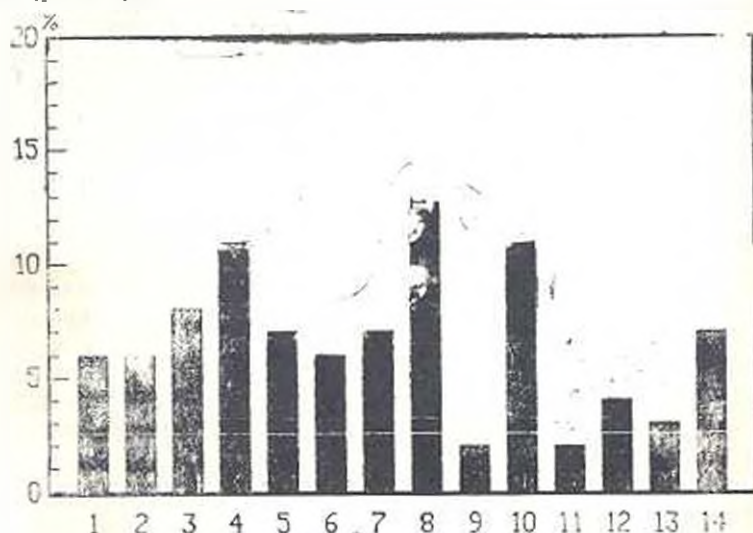


Рис. 1. Распределение порогов чувствительности к РТС у потомков выходцев из Муша.

Антропоскопические признаки имели следующие частоты складывания рук—I (52,45%), II (47,55%); переплетение пальцев—I (44,41%), II (55,59%); ведущая рука—I (4,57%), II (95,43%).

Доля курящих среди мужчин составляет 58,63%, а регулярно употребляющих спиртное—75,87%.

Вариации дерматоглифических признаков в изученной нами выборке представлены в таблицах 1—7.

Таблица 1. Частота окончаний главных ладонных линий у мужчин-выходцев из Муш, %. (n=35)

Поле	A				B				C				D			
	ладонь		ладонь		ладонь		ладонь		ладонь		ладонь		ладонь		ладонь	
	левая	правая	обе	левая	правая	обе	левая	правая	обе	левая	правая	обе	левая	правая	обе	левая
1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	15.62	4.66	10.14	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	68.75	48.35	58.55	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	12.50	12.83	27.42	19.24	9.60	14.42	3.13	—	1.57	—	—	—	—	—	—	—
6	3.13	4.66	3.80	48.41	19.35	33.98	9.38	6.66	8.02	—	—	—	—	—	—	—
7	—	—	—	12.91	10.36	11.63	—	3.45	1.73	—	—	—	—	—	—	—
8	—	—	—	19.24	41.13	20.19	37.50	26.60	32.05	16.13	6.89	11.51	—	—	—	—
9	—	—	—	—	6.65	3.13	6.25	—	3.13	—	3.45	1.73	—	—	—	—
10	—	—	—	—	12.90	6.45	15.63	19.97	17.80	48.39	24.13	36.25	—	—	—	—
11	—	—	—	—	—	—	—	6.66	3.33	12.94	10.36	11.63	—	—	—	—
12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	22.58	51.22	37.15	—	—	—	—
13	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
X	—	—	—	—	—	—	—	18.75	30.00	24.36	—	3.45	1.73	—	—	—
0	—	—	—	—	—	—	—	9.36	6.66	8.01	—	—	—	—	—	—

Таблица 16. Частота окончаний главных ладонных линий у женщин-выходцев из Муш, %. (n=48)

Поле	A				B				C				D			
	ладонь		ладонь		ладонь		ладонь		ладонь		ладонь		ладонь		ладонь	
	левая	правая	обе	левая	правая	обе	левая	правая	обе	левая	правая	обе	левая	правая	обе	левая
1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	2.77	2.77	2.77	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	19.46	8.10	13.78	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	50.00	45.74	47.87	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	22.22	37.84	30.03	19.44	8.82	14.13	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	5.55	5.55	5.55	33.33	32.35	32.84	4.81	10.81	—	—	—	—	—	—	—	—
7	—	—	—	11.43	11.76	11.59	8.88	5.88	12.81	—	—	—	—	—	—	—
8	—	—	—	33.33	2.12	37.72	8.88	21.92	7.38	11.44	14.71	13.07	—	—	—	—
9	—	—	—	—	—	—	5.88	—	15.45	8.88	5.88	7.38	—	—	—	—
10	—	—	—	2.47	4.95	3.72	17.65	45.17	2.94	28.26	20.60	24.43	—	—	—	—
11	—	—	—	—	—	—	—	—	31.41	11.43	11.76	11.59	—	—	—	—
12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	34.29	47.05	40.67	—	—	—	—
13	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
X	—	—	—	—	—	—	—	26.16	15.21	—	2.85	—	1.43	—	—	—
0	—	—	—	—	—	—	—	17.64	—	21.19	2.85	—	1.43	—	—	—

Распределение главных ладонных линий в целом имеет следующую закономерность: линия Д чаще всего оканчивается в полях 11 и 9, а линия А—в полях 5, 4 и 3. Для линии С характерно более частое окончание в полях 9 и 7, а для линии В—в полях 7 и 5 (табл. 1 а, б). Индекс главных ладонных линий (инд. Камминса) как сумма окончаний линий D и A равен 9,18 (в среднем для мужчин и женщин).

Встречаемость истинных ладонных узоров в данной выборке носит следующий характер: частота узора на Ну у мужчин равна 19,35%, у женщин—23,61%.

Таблица 2. Распределение истинных ладонных узоров у выходцев из Муша, %

Подушечка	Мужчины, 35	Женщины, 49	♂ + ♀
Iy	19.35	13.61	21.48
Th/I	1.93	8.33	4.17
II межпальцевая	3.23	4.16	3.70
III межпальцевая	35.48	31.94	33.71
IV межпальцевая	17.74	33.33	25.54

Таблица 3. Распределение осевых трирадиусов на руках мужчин и женщин, выходцев из Муша, %

Осевые трирадиусы	Мужчины, 35	Женщины, 48	♂ + ♀
i	54.83	57.59	56.21
i'	12.91	10.60	11.76
i''	11.29	3.03	7.16
ii'	6.45	3.03	4.74
ii''	11.29	16.66	13.98
i'i''	3.13	6.06	4.60
ii'i''	—	3.03	1.52

Таблица 4. Частота дополнительных межпальцевых трирадиусов у выходцев из Муша, %

	IV	III	II
Мужчины	3.22	1.61	3.22
Женщины	9.72	—	1.38
♂ + ♀	6.47	0.81	2.30

На Th/I встречаемость узоров значительно ниже, 1,93%—у мужчин, 8,33%—у женщин.

На второй межпальцевой подушечке отмечается низкий процент узоров—3,23% у мужчин и 4,16% у женщин.

Встречаемость узоров на III и на IV интердигитальных подушечках не выходит за пределы встречаемости таковых в тотальной армянской группе (табл. 2).

Таблица 5. Распределение пальцевых узоров на правых и левых руках у мужчин—выходцев из Муша, %. (n=35)

	I		II		III		IV		V	
Узор	левая	правая	левая	правая	левая	правая	левая	правая	левая	правая
A	—	—	5.88	2.94	5.88	2.94	2.94	—	—	—
R	—	—	14.71	14.71	—	—	—	2.94	—	—
U	44.11	26.47	35.30	35.24	70.58	76.4	55.68	44.11	76.40	67.64
W	55.99	73.52	41.11	41.11	23.51	21.02	41.18	52.95	23.60	32.36

Встречаемость осевых трирадиусов, представленных в табл. 3, в целом не отличается от вариаций этих признаков в тотальной группе. В подавляющем большинстве случаев (56,21%) встречается один осевой трирадиус, расположенный у занятия (I).

Интересно отметить, что в данной выборке частота встречаемости сочетания I'' несколько выше (13,98) по сравнению с таковой I' (11,76), причем у мужчин эта разница больше, чем у женщин, что противоречит данным тотальной армянской популяции [4].

Дополнительные межпальцевые трирадиусы чаще встречаются на IV межпальцевой подушечке—6,47%. И лишь небольшой процент их на III—2,30% и II—0,89%—пальцевых подушечках (табл. 4).

Распределение основных типов пальцевых узоров и их индексов представлено в таблицах 5, 6, 7.

Таблица 6. Распределение пальцевых узоров на правых и левых руках у женщин—выходцев из Муша, %. (n=48)

Узор	I		II		III		IV		V	
	левая	правая	левая	правая	левая	правая	левая	правая	левая	правая
A	2.27	—	9.09	4.5	9.09	2.27	2.27	—	—	—
R	—	—	20.45	11.36	2.27	—	2.27	2.27	—	—
U	59.09	56.82	29.56	29.56	70.45	81.82	56.82	45.46	84.09	79.55
W	38.64	43.18	40.90	51.54	8.29	15.91	38.64	52.27	45.94	25.45

Таблица 7. Типы пальцевых узоров и их индексы у выходцев из Муша, %

Узоры и индексы	Численность и пол		
	мужской n=35	женский n=48	$\sigma + \phi$
A	2.06	2.91	2.48
R	3.21	3.86	3.54
U	53.51	52.32	56.42
R+U	56.72	63.18	59.96
W	41.22	33.91	37.56
D1-10	13.92	13.10	13.51
$\frac{A}{W} \times 100$	4.99	8.58	6.79
$\frac{W}{R+U} \times 100$	72.69	53.67	63.18
$\frac{A}{R+U} \times 100$	3.63	4.64	4.14

У мужчин по сравнению с женщинами чаще встречаются завитки, в то время как у женщин по сравнению с мужчинами выше частота дуг и петель. Для мужчин пальцевая формула завитков—I>IV>II>V>III, для женщин—II>IV>I>V>III. Пальцевая формула ульнарных петель—III>V>IV>II>I и V>III>I>IV>II соответственно для мужчин и женщин (табл. 5, 6). В данной группе средняя величина

DI_{10} (дельтовый индекс) равна 13,5%, у мужчин она достигает 13,92%, у женщин—13,10%. Средние значения частот пальцевых узоров (табл. 7) не выходят за пределы размаха вариаций в тотальной армянской популяции [4]. Некоторые из них (R, U, W) практически идентичны с аналогичным показателем выборки из Сасуна [1], что может быть обусловлено территориальной близостью этих популяций в историческом регионе.

Обобщенный полигон (рис. 2) по 8 дерматоглифическим признакам у выходцев из Муша обнаруживает визуальное сходство во многом с «сасунским» полигоном [1] и приближается к «араратскому» полигону [4].

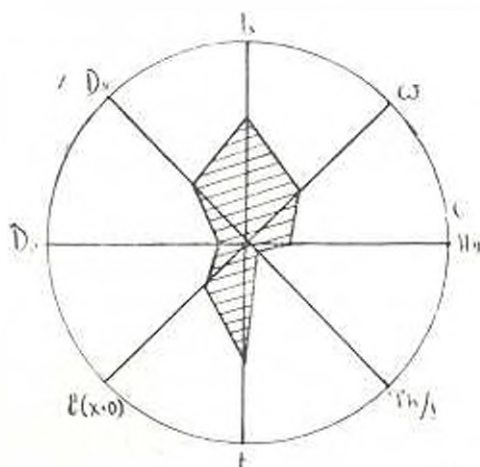


Рис. 2. Обобщенный полигон по 8 дерматоглифическим признакам у потомков выходцев из Муша. Сокращения: L—петли, W—завитки, Hu—узоры на гипотенаре, Th/I—узоры на тенаре и I межпальцевой подушечке, t—осевой трирадиус, C (X+O)—редукция и отсутствие линии C, D₇ и D₁₁—окончания линии D в полях 7 и 11.

Таким образом, показано, что у выходцев из исторического Муша и их потомков, охарактеризованных по комплексу антропогенетических признаков, степень генетического родства с тотальной армянской популяцией достаточно высокая, что является подтверждением генетической однородности армянской популяции в целом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян Р. М., Кочар Н. Р., Чавушян С. А., Казарян А. А., Абрамян Л. Г., Киракосян А. Г. Биолог. журн. Армении, 41, 9, 1988.
2. Арутюнян Р. М., Ширинян Г. С., Мартirosян К. Ю., Кочар Н. Р., Казарян А. А. Биолог. журн. Армении, 42, 9—10, 1989.
3. Кочар Н. Р. Вopr. антропологии, 52, 108—120, 1976.
4. Кочар Н. Р. Автореф. канд. дисс., М., 1981.
5. Кочар Н. Р., Арутюнян Р. М., Чавушян С. А., Абрамян Л. Г., Казарян А. А., Мартirosян К. Ю. Биолог. журн. Армении, 41, 9, 1988.

Поступило 6. VI 1989 г.

ТЕМПЫ СОМАТИЧЕСКОГО И ПОЛОВОГО РАЗВИТИЯ ГОРОДСКИХ И СЕЛЬСКИХ ШКОЛЬНИКОВ 7—17 ЛЕТ

Л. Р. АВЕТИСЯН

Ереванский государственный медицинский институт,
кафедра гигиены санитарно-гигиенического факультета

Установлено, что сельские дети (как мальчики, так и девочки) в начальных стадиях школьного возраста отстают от городских по росту и объему грудной клетки, однако уже к 15—16 годам девочки и к 16—17 годам мальчики выравниваются.

Աշխատանքի նպատակն է համեմատել Երևան քաղաքի և Ապարանի շրջանի գյուղերի 7—17 տարեկան դպրոցականների անմատչելի զարգացման տեմպերը, Կառավրվել են քաղաքում՝ 2400, գյուղում՝ 1200 երեխաների-անտրոպոմետրիկ լիարժեքները:

Չնայած երևան, որ գյուղի երեխաները (ինչպես աղջիկները, այնպես էլ տղաները) դպրոցական հասակի սկզբնական շրջաններում հետ են մնում քաղաքի երեխաներից երկու տոտայ անտրոպոմետրիկ ցուցանիշներով (հասակ, կրծքի շրջագիծ), բայց արդեն 15—16 տարեկան աղջիկների և 16—17 տարեկան տղաների մոտ այդ ցուցանիշները հավասարվում են:

The aim of this work is to compare Yerevan with Araratian region's villages from 7—17 years old pupils somatic development rate, anthropometric measurements were done on 2400 children in the town, and 1200 in the village. In spite of, that the village children (as girls, and boys) during school age beginning period lack behind the town children with two total anthropometric datas (height, bosom's diameter), but already for 15—16 years old girls and 16—17 years old boys these datas are equal.

Дети 7—17 лет—темпы роста и развития—экономические факторы.

Известно, что на темпы роста и развития, помимо генетических, влияют также экологические факторы, среди которых выделяется фактор высокогорья, влияющий из-за пониженного содержания кислорода на строение плаценты и внутриутробное развитие плода [9]. Установлено замедление процессов роста и полового созревания у детей, живущих на высокогорье [3, 6, 10, 11].

В большинстве исследований последних лет отмечается превосходство городских детей над сельскими по длине и массе тела, развитию жирового компонента и другим антропометрическим показателям. Эта тенденция характерна как для экономически развитых [1, 3, 5, 8—10], так и развивающихся стран [13, 14].

В настоящей работе, являющейся составной частью проспективного исследования влияния экзо- и эндогенных факторов на ростовые процессы у детей, представлены результаты сопоставления темпов соматического развития школьников, проживающих в разных экологических условиях (город-село). Связанные с этим задачи направлены на выяснение динамики увеличения тотальных размеров тела детей—7—17 лет и установление значимости различий по рассматриваемым признакам между школьниками города и высокогорных сел в пределах каждого возраста.

Материал и методика. Исследованы антропометрические данные детей 7—17 лет обоего пола, учащихся средних школ Бревана и сел Апаранского района. В каждой возрастно-половой группе обследовано в городе по 100, в сельской местности—по 50 детей. В общей сложности в рамках поперечного обследования измерено 3300 детей. Антропометрическая программа включала измерение двух тотальных размеров тела—длины тела и обхвата грудной клетки. По времени наступления первой менструации (менархе) у девочек определены темпы полового созревания.

Результаты и обсуждение. После вычисления основных статистических параметров распределения (среднего арифметического— $\bar{x}$ и стандартного отклонения— σ) исследуемых признаков для каждой возрастно-половой когорты построены графики, отражающие сравнительную динамику ростовых процессов у детей города и села. На рис. 1 и 2 представлены возрастные изменения длины тела соответственно у мальчиков и девочек. Статистически значимые различия в динамике этого признака у мальчиков обнаружены в возрастных группах 12, 13 лет, у девочек 11, 12, 13 лет.

Значимые различия в обхвате грудной клетки у мальчиков установлены в возрастных когортах 12, у девочек 13 лет (рис. 3 и 4 соответственно).

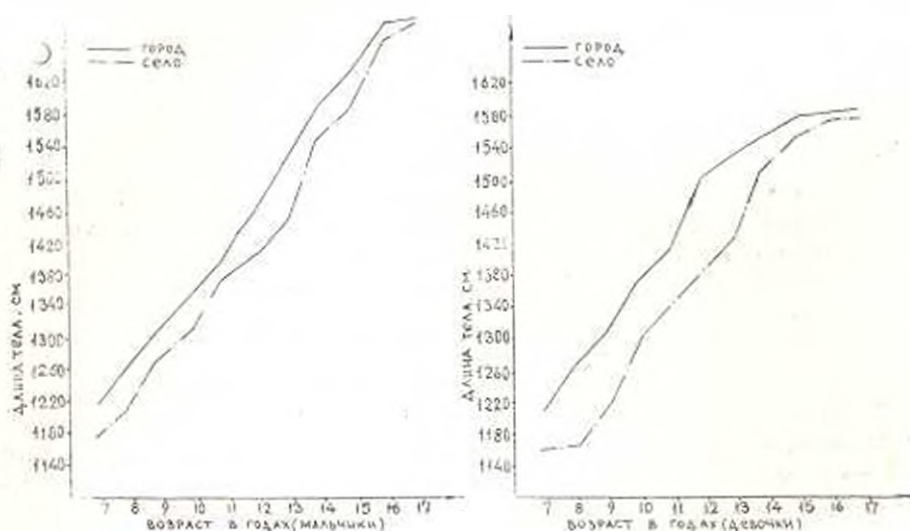


Рис. 1 и 2 Возрастные изменения длины тела соответственно у мальчиков и девочек.

Результаты исследований дали возможность провести сопоставление показателей соматического развития и выявить неспараллельные сдвиги физического развития городских и сельских детей.

На основании сравнения одномерных характеристик выделены возрастные группы, характеризующиеся максимальным различием в темпах развития между детьми города и села: 12 лет у девочек и 13 лет у мальчиков.

По длине тела сельские школьники выравниваются с городскими к 17 годам, а девочки—к 16 годам. По обхвату грудной клетки это выравнивание у мальчиков происходит к 16, а у девочек к 17 годам.

Несмотря на то, что сельские дети (как мальчики, так и девочки) в начальных стадиях школьного возраста отстают от городских по росту и обхвату грудной клетки, однако уже к 15 годам девочки и к 17 годам мальчики выравниваются, т. е. окончательные размеры к завершению пубертатных преобразований в росте и развитии детей оказываются одинаковыми. Расхождение в темпах соматического развития обнаружены при исследовании детей 11—17 лет г. Горького и

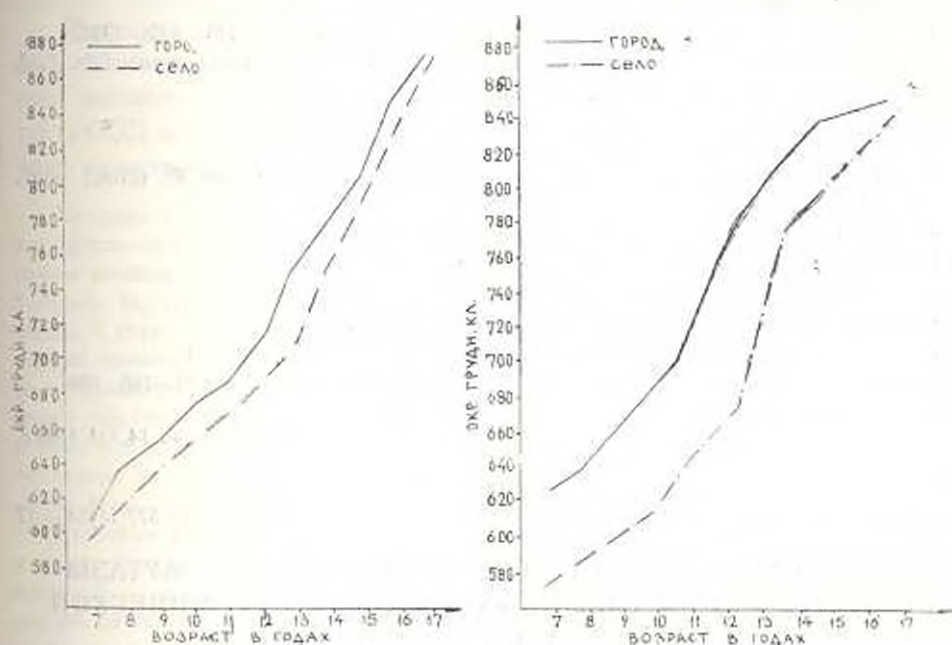


Рис. 3 и 4. Возрастные изменения обхвата грудной клетки соответственно у мальчиков и девочек.

сельских районов Горьковской области [2]. Установлено, что в 11-летнем возрасте городские дети обгоняют сельских по длине и массе тела, а в 13 лет впереди оказываются сельские дети, а к 15 годам различия исчезают. В армянской популяции школьники сельской местности в начальных стадиях отстают от городских и только к 15—16 годам у девочек и к 16—17 годам у мальчиков происходит выравнивание тотальных размеров за счет наверстывающего роста у сельских детей.

Помимо различий в росте тела, городские и сельские школьники характеризуются также разными сроками полового созревания. Обследование абхазских школьников, проведенное в нескольких селах и г. Сухуми [2], выявило существенное отставание стадий развития вторичных половых признаков у сельских детей и подростков по сравнению с городскими. Это касается в равной мере как мальчиков, так и девочек. В нашей выборке средний возраст полового созревания у девочек оказался следующим: в городе 13,2 года, в сельской местности—13,9 года, разница статистически достоверна ($P < 0,05$).

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод о существенном влиянии экологических факторов (город—село, долина—высокогорье) на темпы соматического и полового развития детей 7—17 лет, принадлежащих к однородной (армянской) популяции.

1. Дорожнова К. П. Роль социальных и биологических факторов в развитии ребенка. 159. М., 1983.
2. Ковригович Я. А. Морфофизиные особенности юношеского возраста. Ташкент, 32—36. 1983.
3. Миклашевский Н. Н., Соловьева В. С., Година Е. З. Ростовые процессы у детей и подростков. 183. М., 1988.
4. Bhatta S., Kapoor A., Singh J. Morphol. and Antropol., 3, 323—332, 1983.
5. Gyenis G., Tull G., Abraham S. Human Growth and Development Eds. E. J. Broms et al. — NY. London, 103—108. 1984.
6. Jackson M., Mayhew T., Haas J. J. Anal., 173—187, 1987.
7. Jenkins G. L., Amer J. Phys. Antropol., 2, 185. 1985.
8. Kurniewicz-Witeziak R., Szilagyi, Pagawstra Y., Remiszowa W. idrow. pobl., 3, 127—135, 1983.
9. Ledwina A. Acta Univ. wrastit, Pz. zool., 49—81, 1987.
10. Lindgren G. W. Cool Antropol., 1, 23—45, 1986.
11. Malik S. L., Hauspie R. C. Hum. Biol. 4, 541—548, 1986.
12. Pawson Y. G. Anur. J. Phys. Antropol., 2, 241, 1987.
13. Prahash S., Pathmanathan G. Ann. Hum. Biol. 5, 463—466, 1984.
14. Spurgeon J. H., Merdith H., Onuoha G., Giese W. Gravh. 2, 176—186, 1981.
15. Singh S. P., Malhotra P. Jbiol. 1, 77—80, 1988.

Поступило 14.XII 1989 г.

Биолог. журн. Армении, № 6 (43).1990

УДК 613.2+577:11/546—77

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ СУПЕРОКСИДИДИСМУТАЗЫ И СОДЕРЖАНИЯ ТИОЛОВЫХ ГРУПП ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ МОЛИБДЕНОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Л. С. ДОЛНИЯН, А. О. ЛВАКЯН, М. А. МАДОЯН

НИИ общей гигиены и профзаболеваний, Ереван

Показано, что у животных, подвергнутых хронической молибденовой интоксикации, снижается активность СОД и содержание тиоловых групп. Низкобелковый рацион (1% по калорийности) приводит к усугублению этих сдвигов. Высокобелковый рацион способствует определенной нормализации указанных показателей.

Մոլիբդենային քրոնիկ թունավորման ժամանակ կենդանիների մոտ դիտվել է ՍՕԴ-ի ակտիվության և թիոլային խմբերի քանակի իջեցում, որն ավելի խորն է արտահայտվում ցածր սպիտակուցային սաքինների օգտագործման ժամանակ: Բարձր սպիտակուցային սաքինների օգտագործման դեպքում վերը նշված ցուցանիշները կանոնավորվում են:

It has been shown that after unilateral nephrectomy deamination of glutamate, aspartate, ornithine and deamidation of glutamine in the remaining kidney cortex increase until its weight becomes to doubled approximately over 60 days. After which intensity of the above mentioned processes come to normal level.

Молибденовая интоксикация—супероксиддисмутаза—тиоловые группы—рацион.

Установлено, что в интоксикации свободнорадикального перекисления липидов в организме важную роль играет супероксидный анион, ферментативная дисмутация которого приводит к образованию син-

Сокращения: СОД—супероксиддисмутаза, ПОЛ—перекисное окисление липидов.

глетного кислорода. Последний, реагируя с ненасыщенными жирными кислотами, образует гидроперекиси [6, 7].

Роль супероксиддисмутазы, по литературным данным [4, 9], заключается в обезвреживании супероксидного аниона путем его дисмутации в перекись водорода и триплетный кислород и, следовательно, в регуляции процесса ПОЛ. Важную роль в регуляции ПОЛ играют также тиоловые группы.

Учитывая результаты наших исследований [3], свидетельствующих о значительном повышении интенсивности ПОЛ при хронической молибденовой интоксикации, мы задались целью изучить активность СОД и содержание тиоловых групп в тканях крыс, а также влияние качественно различных рационов на эти показатели.

Материал и методика. Эксперименты ставили на крысах массой 140—180 г. Первая группа—интактные крысы—служила контролем. Животным второй группы перорально вводили водный раствор парамолибдата аммония в дозе 5 мг/кг в течение 5 месяцев. По истечении 3,5 месяцев от начала опыта из затравленных животных выделяли 2 группы, которые, продолжая подвергаться затравке, переводили на изокалорийные пищевые рационы, расбалансированные по белку, и содержали на них до конца эксперимента. Третья группа получала низкобелковый рацион, где белковый компонент обеспечивал 7% общей калорийности, а четвертая—высокобелковый рацион, в котором содержание белка было повышено до 25% за счет добавления казеина. Вторая группа животных содержалась на обычном рационе виварума, в котором количество белка составляло 14%.

Животных забивали путем декапитации и для исследования отбирали печень, мозг и кровь. Активность СОД в печени и мозге определяли по методу [8]. Результаты выражали в ед/г. За единицу активности СОД принимали то количество фермента, которое на 50% ингибирует скорость восстановления нитротетразолиевого силега. Содержание сульфгидрильных групп в печени, мозге и сыворотке крови определяли по [11], по цветной реакции с 5,5-дитиобис-2-нитробензойной кислотой. Результаты выражали в печени и мозге в ммоль/г, а в сыворотке крови—ммоль/100 мл. Достоверность результатов рассчитывали по Стьюденту.

Результаты и обсуждение. Как видно из представленных в табл. 1 данных, у животных, подвергавшихся затравке в течение 30, 60, 90 и

Таблица 1. Изменение активности СОД в печени и мозге крыс при молибденовой интоксикации, ед/г

Дни затравки	Статисти- ческие показатели	Печень		Мозг	
		контроль	опыт	контроль	опыт
30	$M \pm m$ $\frac{n}{p}$	$1150 \pm 26,1$ 7	$1052 \pm 42,3$ 7 <0,05	$114,0 \pm 6,33$ 8	$120,1 \pm 2,9$ 8 >0,05
60	$M \pm m$ $\frac{n}{p}$	$1274 \pm 31,0$ 8	$1137 \pm 38,0$ 7 <0,02	$124,0 \pm 3,9$ 8	$109,0 \pm 3,8$ 8 <0,02
90	$M \pm m$ $\frac{n}{p}$	$814,5 \pm 40,2$ 8	$520,0 \pm 24,4$ 8 <0,091	$70,4 \pm 6,1$ 8	$59,0 \pm 4,5$ 8 <0,05
150	$M \pm m$ $\frac{n}{p}$	$1003 \pm 20,0$ 10	$798,7 \pm 31,2$ 10 <0,002	$117,0 \pm 3,1$ 7	$88,8 \pm 4,0$ 9 <0,002

150 дней, СОД-активность в печени снижается по сравнению с контролем на 9, 11, 28 и 20% соответственно. Что же касается изменения активности СОД в мозге, то, как показали полученные результаты, при 30-дневной затравке она незначительно повышается, а затем при 60-, 90- и 150-дневной затравке по сравнению с контролем достоверно снижается соответственно на 12, 16 и 24%.

Таблица 2. Влияние качественно различных рационов на содержание сульфгид-

Группы		Сыворотка		
		общие	небелк.	белково-связ.
		мкмоль/100 мл		
Контроль	$M \pm m$ n	28.1 $\pm$ 1.3 9	4.5 $\pm$ 0.27 8	23.6
Затравка	$M \pm m$ n P	20.3 $\pm$ 1.4 10 <0.001	3.7 $\pm$ 0.14 7 <0.01	16.6
Затравка + низкобелковый рацион	$M \pm m$ n P	16.2 $\pm$ 1.34 9 <0.02	3.0 $\pm$ 0.28 9 <0.05	13.2
Затравка + высокобелковый рацион	$M \pm m$ n P	24.1 $\pm$ 1.15 8 <0.05	4.2 $\pm$ 0.28 8 <0.05	21.8

Снижение СОД-активности на фоне усиления ПОЛ при различных патологических состояниях отмечают многочисленные исследователи [1, 2, 5, 10]. В связи с этим можно допустить, что наблюдаемое при хронической молибденовой интоксикации снижение в печени и мозге активности СОД, одного из важнейших звеньев системы защиты клетки от избыточной липопероксидации, является одной из возможных причин усиления процесса ПОЛ и накопления в пищеуказанных тканях липидных перекисей.

Определенные изменения происходили в уровне сульфгидрильных групп (табл. 2). Содержание общих сульфгидрильных групп у животных, подвергавшихся затравке, по сравнению с контролем снижалось в печени на 30, в сыворотке крови на 28, в мозге на 14%. Снижение общих SH-групп происходит как за счет белковосвязанных, так и свободных SH-групп.

Результаты проведенных исследований, представленные в табл. 3, показали, что разбалансированные по белку рационы оказывают неодинаковое влияние на активность СОД в изученных тканях. У животных, получавших низкобелковый рацион, СОД-активность в печени и мозге по сравнению с обычным рационом снижалась на 9.4 и 10.1% соответственно, а с контролем на 28 и 32% соответственно, что можно расценивать как неблагоприятное воздействие низкобелкового рациона. Применение высокобелкового рациона привело к определенному повышению СОД-активности в печени, что превысило уровень ее при обыч-

ном рационе на 10%. Что же касается СОД-активности в мозге, то здесь заметных изменений не отмечалось.

Аналогичные изменения на фоне применения низко- и высоко-белкового рационов наблюдались в содержании сульфгидрильных групп. Так, у животных, подвергавшихся затравке и получавших низко-белковый рацион, по сравнению с животными, получавшими обычный

рильных групп в тканях крыс при хронической молибденовой интоксикации

Печень			Мозг		
общие	небелк.	белково-связ.	общие	небелк.	белково-связ.
мкмоль г			мкмоль г		
24.4 $\pm$ 2.13 9	5.95 $\pm$ 0.21 9	18.45	16.0 $\pm$ 0.11 8	2.83 $\pm$ 0.11 9	13.7
17.2 $\pm$ 1.24 10	5.1 $\pm$ 0.19 9	12.1	13.8 $\pm$ 0.51 8	2.17 $\pm$ 0.12 8	11.6
<0.01	<0.02		<0.01	<0.01	
13.1 $\pm$ 0.9 8	3.92 $\pm$ 0.2 8	9.2	17.5 $\pm$ 0.29 8	1.62 $\pm$ 0.12 8	9.8
<0.02	<0.031		<0.002	<0.01	
20.4 $\pm$ 0.75 3	5.85 $\pm$ 0.18 8	14.8	11.8 $\pm$ 0.2 8	2.4 $\pm$ 0.1 8	12.4
<0.05	<0.05		<0.05	>0.05	

рацион виарнума, оно значительно снижалось. В печени, мозге и сыворотке крови это снижение составляло 16, 11, 15% соответственно. Полученные результаты одновременно показали, что снижение содержания SH-групп происходило как за счет белковосвязанных, так и небелковых SH-групп.

Таблица 3. Изменение активности СОД на фоне применения качественно различных рационов при хронической молибденовой интоксикации, ед/г

Органы	Контроль	Затравка	Затравка + низко-белковый рацион	Затравка + высоко-белковый рацион
Печень	M $\pm$ m п Р 1000 $\pm$ 20.0 10	798.0 $\pm$ 31.2 10 <0.001	723.5 $\pm$ 50.9 9 >0.05	902.0 $\pm$ 33.1 9 >0.05
Мозг	M $\pm$ m п Р 117.0 $\pm$ 3.1 7	89.0 $\pm$ 4.0 9 <0.02	89.0 $\pm$ 4.0 8 >0.05	90.0 $\pm$ 3.7 8 >0.05

Что касается высокобелкового рациона, то он способствовал заметному повышению содержания всех форм SH-групп в изученных органах и тканях. При этом повышение содержания общих, небелковых, белковосвязанных форм составляло в печени 14,9 и 14%, а мозге—8,13 и 6%, в сыворотке крови—14,11 и 22% соответственно.

Таким образом, при хронической молибденовой интоксикации в печени и мозге снижается СОД-активность и содержание сульфид-рильных групп, играющих важную роль в регуляции процесса липопероксидации. Применение низкобелкового рациона приводит к еще большему снижению этих показателей. Высокобелковый рацион способствует определенной нормализации их.

ЛИТЕРАТУРА

1. Асипжанов М. Н. Ж. эксперим. и клинич. мед. АН АрмССР. 3, 14, 1979.
2. Алексян К. А. Канд. дисс., 152, Ереван, 1980.
3. Долинян Т. С., Авакян А. О., Мадоян М. А. Тез. докл. Всесоюз. научн. конф. «Актуальные проблемы гигиены питания», 154, Тбилиси, 1981.
4. Мерляк М. Н., Соболев А. С. Итоги науки и техники, серия «Биофизика», 5, 118, М., 1975.
5. Симонян М. А. Канд. дисс., Ереван, 1974.
6. Khan A. U. J. Physical chemistry, 20, 2219, 1976.
7. Mayda E. A., Pard A. J. Amer. chem. Soc., 12, 4020, 1974.
8. Nishikimi M., Nishizawa W. A., Yagi K. Biochem. Biophys. Res. Commun., 2, 849, 1972.
9. Peterson T. C., Aust S. D. Biochem. Biophys. Res. Commun., 3, 1011, 1973.
10. Roberts R. H., Fielden E. M., Rottlio G., Calabrese Z., Banister V. L., Banister W. H. Radiat. Res., 3, 411, 1974.
11. Sedlak J., Lindsay R. H. Analyt. Biochem., 25, 192, 1968.

Поступило 21 X 1987 г.

Биолог. журн. Армения, № 6 (13), 1990

УДК 577.15.591.8

ОБРАЗОВАНИЕ ОКСИДАЗЫ D-АМИНОКИСЛОТ ПЛЕСНЕВЫМ ГРИБОМ *ASPERGILLUS NIGER* В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИСТОЧНИКОВ АЗОТА

С. Н. ОГАНЕСЯН, А. Г. БАБАЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии

Показано, что при культивировании *Asp. niger* R-3 на среде, содержащей источник азота в виде L-аминокислот, максимальный синтез оксидазы D-аминокислот имеет место при использовании L-метионина. По интенсивности дезаминирования аминокислоты располагаются в следующей убывающей последовательности: D-метионин > D-валин > D-аланин. При выращивании гриба на L-аланине, D-аланин дезаминируется интенсивнее D-метионина и D-валина. Для биосинтеза оксидазы D-аминокислот оптимальной является 1/4 нормы источника азота в питательной среде.

Արհեստական ազոտնախորժած է D-ամինաթթվային օրգանիզմայի բիոսինթեզը *Asp. niger* R-3 բոլորտեսակների բջիջներում՝ կախված սննդամիջավայրում ազոտի տարրեր ազդուրներից:

L-մեթիոնին պարունակող սննդամիջավայրի մեջ աճեցրած բջիջներում D-ամինաթթուների դեհամինացումն րեթանում է D-մեթիոնին > D-վալին > D-ալանին նվազող հաջորդականությամբ, իսկ L-ալանինի դեպքում՝ D-ալանին > D-մեթիոնին > D-վալին հաջորդականությամբ. D-ամինաթթվային օրգանիզմայի օպտիմալ բիոսինթեզն իրականանում է սննդամիջավայրում ազոտի ազդուրների (L-ամինաթթուների) մեկ քառորդ կոնցենտրացիայի առկայությամբ՝ համեմատած նրանց սկզբնական կոնցենտրացիայի հետ:

At the cultivation *Asp. niger* R-3 in the medium containing different source azota as L-amino acid, the optimal synthesis of D-amino acid oxidases takes place similar as at the L-Met.

Intensive synthesis of D-amino acid oxidases disposes in next order: D-Met > D-Val > D-Ala. At growth of *Asp. niger* R-3 in the medium containing L-Ala D-Ala desaminates intensively than D-Met and D-Val.

For biosynthesis of oxidases D-amino acid optimal concentration of sources azota in the growth medium is 1/4 of normal concentration.

Гриб плесневый Aspergillus niger—D-аминокислотная оксидаза

Прикладное значение изучение регуляции оксидазы D-аминокислот (КФ 1. 4. 3. 3) приобретает в связи с возможностью использования фермента для выделения природных аминокислот из рацемических смесей в целях получения из D-аминокислот различных кетокислот, использующихся при почечной недостаточности, определении чистоты препаратов природных аминокислот и т. д. [10, 12—14].

Из наших ранних исследований известно, что *Asp. niger* R-3 обладает оксидазой D-аминокислот при выращивании на природных отходах сахарного производства—мелассе [1, 4—6].

В настоящей работе представлены результаты исследования образования фермента грибом *Asp. niger* R-3 при его выращивании на питательных средах, содержащих соли аммония или различные L-аминокислоты в качестве источников азота.

Материал и методики. Объектом исследований служил плесневый гриб *Asp. niger* K-5, полученный из Сингапского завода по производству лимонной кислоты в 1988 г. Для поверхностного культивирования производственного штамма использовали модифицированную синтетическую среду Роллена [2] следующего состава (г): глюкоза—20, KH_2PO_4 —0,5, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ —0,5, ZnSO_4 —0,05, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ —0,005 на 1 л водопроводной воды. В качестве источников азота использовали как неорганические соли NH_4Cl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ —3,5, так и L-аланин—4,1, L-валин—5,4, L-метионин—6,9 г, pH среды доводили до 7,0. Посев производили на среде объемом 100 мл при температуре 32°.

Полученную биомассу (5 г) *Asp. niger* R-3 гомогенизировали в 25 мл 0,05 М К/Na-фосфатном буфере, pH 8,3 (0—4°) в течение 10 мин в стеклянном гомогенизаторе типа Поттер-Эльведжейма. Полученный гомогенат центрифугировали при 11000 об/мин в течение 30 мин.

Для определения оксидазной активности пробу инкубировали при 37° в течение 60 мин в 0,05 М К/Na-фосфатном буфере (pH 8,3) в присутствии 10 мкМ D-Ала, D-Вал или D-Мет при постоянном встряхивании. Реакцию останавливали 20%-ным ТХУ, после чего в экстракте определяли выделившийся аммиак микродиффузионным методом Зелингсона в модификации Силаковой [7]. Активность фермента выражали в мкМ аммиака, выделившегося при часовой инкубации, на 1 г мицелия.

Результаты и обсуждение. Ранее было показано, что в динамике роста у *Asp. niger* R-3, растущего на отходах производства сахара—мелассе, активность оксидазы D-аминокислот появляется на второй день инкубации и достигает максимального уровня на четвертый день, после чего она снижается до минимальных величин к седьмому дню [1, 4—6]. Для увеличения и регуляции выхода оксидазы D-аминокис-

лот в данной серии экспериментов исследовали образование фермента при использовании различных источников азота в среде роста на четырехсуточной культуре штамма *Asp. niger* R-3.

Результаты исследований, представленные в табл. 1, указывают на то, что неорганические источники азота (NH_4Cl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) в оптимальной концентрации наименее пригодны для получения фермента, несмотря на высокий показатель синтезированной биомассы. При использовании источников L-аминокислот максимальное образование оксидазы D-аминокислот вызывает L-Мет, а в присутствии L-Вал активность фермента ниже.

Таблица 1. Образование оксидаз D-аминокислот при росте *Asp. niger* R-3 на различных источниках азота

Источник азота	Синтезированная биомасса	Активность оксидаз D-аминокислот		
		D-Ала	D-Вал	D-Мет
NH_4Cl	4.02 ± 0.1	2.3 ± 0.4	4.9 ± 0.6	9.2 ± 1.1
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	3.0 ± 0.5	1.8 ± 0.2	2.5 ± 0.4	3.6 ± 0.6
L-Ала	3.0 ± 1.0	10 ± 1.5	5.0 ± 0.7	7.5 ± 0.8
L-Вал	1.8 ± 0.8	1.0 ± 0.8	9.0 ± 0.9	12 ± 1.0
L-Мет	3.0 ± 0.7	6.0 ± 1.0	12 ± 0.7	18 ± 1.5

Что касается дезаминирования D-Ала, то он уступает указанным D-аминокислотам. При всех использованных источниках азота питательной среды (кроме L-аланина) по интенсивности дезаминирования аминокислоты располагаются в следующей убывающей последовательности: D-Мет > D-Вал > D-Ала. Однако при этом соотношении активностей (табл. 2) дезаминирование различных аминокислот не-

Таблица 2. Соотношение активностей дезаминирования D-аминокислот при росте гриба *Asp. niger* R-3 на различных источниках

Источник азота	Соотношение активностей дезаминирования		
	D-Ала	D-Вал	D-Мет
NH_4Cl	1.0	2.0	4.0
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	1.0	1.4	2.0
L-Ала	2.0	1.0	1.5
L-Вал	1.0	1.5	2.0
L-Мет	1.0	2.0	3.0

Примечание: приведены средние величины 8 экспериментов. Однако, на основании этого можем заключить, что, очевидно, в изучаемом грибе содержатся различные изоэнзимы оксидазы D-аминокислот, индуцируемые в различной степени в зависимости от характера азотного питания. При выращивании гриба на L-Ала интенсив-

ность дезаминирования аминокислот меняется резко: D-Ала дезаминируется интенсивнее, чем D-Мет и D-Вал.

Литературные данные, касающиеся использования различных источников азота при росте дрожжевых грибов, не однозначны [3, 8, 9], это подтверждается полученными нами данными.

В следующей серии экспериментов изучали влияние различных концентраций источников азота (табл. 3) в среде роста на образо-

Таблица 3. Влияние источников азота в зависимости от концентрации на активность оксидазы D-аминокислот при культивировании *Asp. niger* R-7

Источники азота	Синтез биомассы, мг/г	Активность оксидазы D-аминокислот		
		D-Ала	D-Вал	D-Мет
1. NH_4Cl	3.3±1	3.1±1.2	6.1±1.2	11.2±0.7
(NH_4Cl) _{1/2}	2.1±0.3	2.0±0.7	2.8±0.3	4.0±0.9
L-Ала	2.4±0.9	12.0±0.8	5.4±1.2	8.9±1.7
L-Вал	2.5±0.8	6.9±0.9	1.4±1.0	14.0±0.3
L-Мет	2.0±0.5	7.1±0.7	14.2±1.0	22±1.5
2. NH_4Cl	3.0±0.7	3.5±0.8	7.2±1.0	15±0.7
(NH_4Cl) _{1/2}	1.1±1.3	5.0±0.5	7.1±0.3	11±0.9
L-Ала	2.0±1.0	21±1.0	10.5±0.7	17.7±0.4
L-Вал	1.8±1.1	11±0.2	19±0.9	22±1.0
L-Мет	1.5±1.0	11±1.0	28±1.5	42±0.4
3. NH_4Cl	1.8±0.8	3.0±0.7	5.9±0.9	11±1
(NH_4Cl) _{1/2}	1.0±0.2	3.0±1.1	5.8±0.7	7.8±0.8
L-Ала	1.5±0.4	17.0±0.4	4.5±0.6	12.8±1.4
L-Вал	1.1±1.2	13±0.2	19.1±0.9	25±0.6
L-Мет	1.0±0.8	10±0.5	21.1±0.6	30.5±0.5
4. NH_4Cl	1.0±0.3	3.1±0.4	6.4±1.1	11.1±1.4
(NH_4Cl) _{1/2}	0.7±1.1	4.9±0.8	5.1±0.4	7.6±1.7
L-Ала	0.7±1.0	9±2.1	4.0±0.5	7.0±0.2
L-Вал	1.1±0.7	15±1.0	20±1.7	23±0.4
L-Мет	0.9±0.1	6.9±0.7	11.8±1	29.2±0.4

Примечание: концентрации азота рассчитаны по сульфату аммония (3.5 г/л). 1—1/2, 2—1/4, 3—1/8, 4—1/16 от исходной концентрации. Приведены средние величины 8 экспериментов.

вание оксидазы D-аминокислот и синтез биомассы (остальные параметры эксперимента не изменялись). Как видно из приведенных в таблице данных, если оптимальными концентрациями азота для выхода биомассы являются полные нормы источников азота, приведенные в методической части, то для биосинтеза оксидазы D-аминокислот оптимальной является 1/4 часть нормы источника азота в питательной среде. Отклонения в ту или иную сторону влияют на выход оксидазы D-аминокислот.

Следует особо подчеркнуть, что при уменьшении концентрации источника азота в питательной среде фактически в четыре раза выход биомассы уменьшается максимум в два разл, тогда как биосинтез оксидазы D-аминокислот увеличивается (если судить по активности мкМ NII на 1г мицелля) в отдельных случаях в три и более раз.

Приведенные данные позволяют сделать предположение о важной роли оксидазы D-аминокислот в азотном обмене как дрожжевых [8], так и плесневых грибов.

1. Давтян М. А., Оганесян С. П. Биолог. журн. Армении, 36, 11, 1019—1024, 1983.
2. Журавский Г. И., Новоселова Л. В. и др. Производство пищевых кислот. 1—234, М., 1953.
3. Нерсисян А. А., Оганесян С. П., Давтян М. А. Биолог. журн. Армении, 26, 6, 105—106, 1973.
4. Оганесян С. П., Давтян М. А. Биолог. журн. Армении, 37, 5, 367—371, 1984.
5. Оганесян С. П., Бабалян А. Г. Биолог. журн. Армении, 39, 5, 373—377, 1986.
6. Оганесян С. П., Бабалян А. Г. Биолог. журн. Армении, 41, 5, 402—405, 1988.
7. Силахова А. И., Труш Т. П. Вопросы мед. химии, 8, 538—545, 1962.
8. Тер-Карапетян М. А., Инджикян С. М. Докл. АН АрмССР, 13, 2, 117—123, 1966.
9. Тер-Карапетян М. А., Геворкян Дж. А. Биолог. журн. Армении, 22, 4, 3—13, 1969.
10. Bradelius P., Nilsson K., Moshbach K. Biotechnol., 3, 343—376, 1981.
11. Kishore G., Vaidyanathan G. S., Indian J. Biochem. J. Biophys., 13, 216—222, 1973.
12. Sawajfer E., Moshbach K. Biotechnical Lett., 7, 1—7, 1985.
13. Wikstrom P., Sawajfer E., Bradelius P., Nilsson K., Moshbach K. Biotechnical Lett., 4, 153—158, 1982.
14. Kaiser M. Int. Supple 8, 180—184, 1978.

Поступило 9.11.1990 г.

Биолог. журн. Армении, № 6.(43).1990

УДК 611.4

ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ РЕТИКУЛЯРНОЙ СТРОМЫ ЛИМФАТИЧЕСКОГО УЗЛА

Л. Г. ИСААКЯН, А. В. АЗНАУРЯН

Ереванский государственный медицинский институт, кафедра нормальной анатомии

Описаны локальные особенности конструкции ретикулярных волокон в различных отделах лимфатического узла. Выявлены гистопатологические взаимоотношения ретикулярных волокон с синусами узлов, внутриорганными кровеносными сосудами, имеющими важное значение в функциональной деятельности лимфатических узлов.

Դիտարկված են տեղիկայնաբար թվերի կոնստրուկցիայի լոկալ առանձնահատկությունները, ափշային հանգույցի տարրեր ցածրակերտում: Հարկադրված են տեղիկայնաբար թվերի հիստոպոպոգրաֆիկ փոխհարաբերությունները ափշային հանգույցի ծոցերի և ներօրգանային արյունատար անոթների հետ, որը կարևոր նշանակություն ունի ափշային հանգույցների ֆունկցիոնալ գործունեության համար:

The construction of reticular stroma local particularities at lymphatic knot's various parts are described. Reticular stroma histopodographic interrelations of lymphatic knots sinuses with blood-vessels, which has an important significance for the lymphatic knots functional activity.

Лимфатический узел—ретикулярные волокна—строма.

Ретикулярные волокна, составляя важную часть стромы лимфатических узлов, каркас для их лимфоидной паренхимы, играют большую роль в функциональной деятельности этих органов.

В лимфатическом узле ретикулярные волокна связаны со стенками синусов, по которым течет лимфа внутри лимфатического узла, с внут-

приоритетными кровеносными сосудами, через которые осуществляется циркуляция лимфоцитов и обменные процессы [4, 6, 7—10].

Изучение структуры ретикулярных волокон в различных отделах соматических и висцеральных лимфатических узлов имеет как теоретическое, так и прикладное значение в связи с положением этих узлов в организме и особенностями их функции. Сопоставление данных по морфогенезу ретикулярной стромы в возрастном аспекте дает возможность более представить механизмы резорбционной, барьерной, иммунологической функций лимфатических узлов в процессе старения организма.

В работе представлены результаты изучения микроскопической анатомии ретикулярной стромы соматических и висцеральных лимфатических узлов, локальных особенностей конструкции ретикулярных волокон в различных отделах узлов на примере паховых и брыжеечных лимфатических узлов.

Материал и методика. Исследования проводили методами импрегнации азотно-серебряным по Штерн, Курьянову и Гомори, использовали также общегистологические методы окраски (гематоксилин-эозином и по Ван-Гизону).

Результаты и обсуждение. Ретикулярная строма в лимфатическом узле составляет каркас для его лимфоидной паренхимы. Строение ее в каждом отделе узла специфично и зависит от его функциональных особенностей. Образую остоу для лимфоидной паренхимы, ретикулярные волокна входят также в состав капсуло-трабекулярного аппарата, и в большом количестве они имеются и внутри околохиларного утолщения.

В капсуле лимфатических узлов ретикулярные волокна занимают внутреннюю зону ее. В толще капсулы они располагаются в продольном направлении, образуя пучки различной толщины. Из подкапсулярной зоны эти волокна направляются в сторону коркового вещества, при этом они проходят через краевой синус, внутри которого располагаются поперечно синусу как отдельными волокнами, так и пучками (рис. 1).

В корковом веществе лимфатических узлов ретикулярные волокна выступают как непосредственно из краевого синуса, так и из корковых трабекул. В составе корковых трабекул они проходят густо расположенными пучками, которые распадаются на множество более тонких пучков, проходящих в паренхиму коркового вещества узла.

В корковом веществе наиболее толстые пучки располагаются в корковом плато. Отсюда они проходят в различных направлениях; часть их окружает лимфоидные узелки, причем одни волокна окаймляют один узелок, другие одновременно окружают 2 или 3 лимфоидных узелка; часть же волокон переходит в мозговое вещество. При этом ретикулярные волокна, проходящие в разных направлениях, перекрещиваются друг с другом и образуют петли разнообразной формы и размеров (рис. 2).

В корковом плато ретикулярные волокна окружают корковые лимфоидные узелки несколькими рядами. Окаймляющие корковые лимфоидные узелки ретикулярные волокна проходят в различных направлениях, при этом образуются как циркулярные пучки, так и радиарные, вдающиеся внутрь узелков. Последние тоньше циркулярно идущих во-

локон (рис. 3). Наиболее тонкие ретикулярные волокна располагаются внутри лимфоидных узелков. В светлых центрах лимфоидных узелков ретикулярные волокна не обнаруживаются, в отдельных случаях видны единичные тонкие волокна. В лимфоидных узелках без герминативных центров тонкие ретикулярные волокна образуют инжигие сети с овальными петлями приблизительно равной величины.

В корковом плато петли ретикулярных волокон полигональной формы и ориентированы в различных направлениях. Они лежат большей частью вдоль корковых промежуточных синусов.

В области, соответствующей паракортикальной зоне, густо располагаются довольно толстые, перекрещивающиеся между собой пучки ретикулярных волокон. Здесь наряду с толстыми пучками встречаются и тонкие, но в значительно меньшем количестве. В зависимости от возраста преобладают те или иные пучки. Обращает на себя внимание то, что в паракортикальной зоне брыжеечных лимфатических узлов ретикулярные волокна толще и гуще расположены, чем в паховых, в пределах одной и той же возрастной группы.

Изучение расположения ретикулярных волокон в мозговом веществе показало, что пучки волокон здесь располагаются по ходу промежуточных синусов, окаймляют мягкотные тяжи. Они здесь толще, чем в корковом веществе. Более тонкие волокна расположены внутри мягкотных тяжей, где они образуют мелкопетлистые сети с равномерными петлями.

По отношению к мозговым промежуточным синусам ретикулярные волокна лежат вдоль этих синусов. Отдельные волокна вступают в синусы, образуя в них довольно крупные петли. Внутри мягкотных тяжей ретикулярные волокна образуют густые сети с равномерными овальными или округлыми петлями (рис. 4).

В зрелом возрасте происходит слияние тонких волокон и пучки, поэтому количество волокон уменьшается, но толщина пучков увеличивается. В пожилом возрасте наблюдаются изменения в структуре ретикулярных волокон, утрата извилистости, их коллагенизация.

Последнее характерно для паховых лимфатических узлов.

Сравнительный анализ ретикулярной стромы паховых и брыжеечных лимфатических узлов показал, что несмотря на одинаковую схему строения, различия в структуре все же имеются. Последние обусловлены особенностями строения соматических и висцеральных лимфатических узлов и сводятся к следующему.

1. Общее количество ретикулярных волокон в брыжеечных лимфатических узлах больше, чем в паховых (в пределах одной возрастной группы);

2. В паховых узлах объемная плотность ретикулярных волокон больше в корковом веществе, в брыжеечных — в мозговом.

3. Ранняя инволюция паховых лимфатических узлов по сравнению с брыжеечными приводит к более ранним изменениям ретикулярной стромы, выражающимся в утолщении пучков ретикулярных волокон, утрате извилистости, частичной коллагенизации.



Рис. 1. Ретикулярные волокна в стенке кровеносного сосуда.



2 Ретикулярные волокна и глубокие узелки



Рис. 3. Петли волокон и корковое плато. Рис. 4. Петли ретикулярных волокон мозгового вещества



Рис. 5. Связь ретикулярных волокон с кровеносным сосудом.

Наибольший интерес представляет отношение ретикулярных волокон к внутриорганным кровеносным сосудам лимфатического узла.

Исследования показали, что внутриорганные кровеносные сосуды располагаются по ходу ретикулярных волокон.

Во всех отделах лимфатического узла сосудам сопутствуют густые пучки ретикулярных волокон.

В большом количестве терминальные кровеносные сосуды располагаются по периферии лимфоидных узелков, в области паракортикальной зоны. Здесь же находятся густые, окаймляющие лимфоидные узелки сети ретикулярных волокон. Ретикулярные волокна, отделяясь от сетей, образующихся в паренхиме, подходят к стенке кровеносного сосуда, оплетая сосуд (рис. 5). Вокруг сосуда образуется своеобразная муфта, составленная ретикулярными волокнами. В одних случаях они располагаются по длиннику сосуда, в других поперечно к нему. Во всех случаях образующийся инвазальный футляр составляет единое целое со стромой узла.

Ретикулярные волокна, с одной стороны, связаны со стенкой сосуда, с другой — проходят в синусы узла. Подобные взаимоотношения внутриорганных кровеносных сосудов лимфатического узла с ретикулярными волокнами были отмечены Одицовой [4]. По ее мнению, сосуды, оплетенные ретикулярными волокнами, связывают стенки сосудов с синусами, и при наполнении узла лимфой, ретикулярные волокна, растягивая стенки посткапиллярных венул, способствуют резорбции лимфы в кровеносное русло.

О резорбции лимфы внутри лимфатического узла, перераспределении между кровью и лимфой внутри лимфатического узла в зависимости от условий гемодинамики свидетельствуют литературные данные [1—3].

На основании результатов исследования локальных особенностей конструкции ретикулярных волокон мы считаем, что в обмене между кровью и лимфой внутри лимфатического узла большая роль принадлежит ретикулярным волокнам. Последние, располагаясь между сосудами и синусами, составляют тот субстрат, который отделяет кровь от лимфы в лимфатическом узле.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бородин Ю. И., Трясучев П. М., Пупышев Л. В., Тамчик Г. Б. Архив АГЭ, 12, 36—41, 1970.
2. Бородин Ю. И., Пупышев Л. В., Трясучев П. М. Экспериментальное исследование лимфатического русла. Новосибирск, 1975.
3. Бикомугатова З. Т., Колесников С. И. В сб.: Лимфатические и кровеносные пути млекопитающих в эксперименте. 134—138, Новосибирск, 1974.
4. Одицова Л. А. Архив АГЭ, 60, 3, 73—80, 1971.
5. Сапин М. Р. Архив АГЭ, 72, 4, 58—65, 1977.
6. Сапин М. Р., Юрина Н. А., Этингер Л. Е. Лимфатический узел. М., 1978.
7. Пупышев Л. В. Тез. докл. I научн. конф. морфологов Средней Азии и Казахстана, Ташкент, 1960.
8. Holz A. J. Lympho., 7, 2, 37—71, 1983.
9. Amüller J., Rauterberg E. et al. Anat., Anz., 129, 125—130, 1973.
10. Valyon V., Bacardieva S. Anat., Anz., 131, 523—526, 1979.

Поступило 10.1.1990 г.

ВЛИЯНИЕ ПАРАТИРЕОИДНОГО ГОРМОНА НА ТРАНСПОРТ Ca^{2+} В ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ ЭЛЕМЕНТАХ СОСУДА

Д. Н. ХУДАВЕРДЯН, А. С. ТЕР-МАРКОСЯН, К. С. КИШОЯН, Г. А. ГЕВОРГЯН*

Ереванский медицинский институт, кафедра физиологии;

*Институт биохимии АН АрмССР

Паратгормон—кальций—гладкие мышцы.

В настоящее время несомненный интерес представляет изучение механизмов действия специфического регулятора обмена кальция—ПТГ на ткани, функция которых кальцийзависима. В этом аспекте особый интерес представляют возбудимые ткани. Ранее нами [2—4] было показано, что ПТГ в физиологических дозах стимулирует вход кальция в синапсомы коры головного мозга и нейроны окологлоточного ганглия виноградной улитки, в основе чего лежит активация потенциалзависимого кальциевого канала [1]. В данном сообщении приводятся результаты исследования действия ПТГ на транспорт Ca^{2+} в гладкомышечные элементы сосудов.

Материал и методика. Опыты проводили на белых беспородных крысах-самцах, массой 150—200 г. Под эфирным наркозом изолировали бедренные артерии, разделяли на сегменты. Последние после препаровки и взвешивания инкубировали в среде, содержащей (в М): KCl —0,1; трис-малеат—0,02; MgCl_2 —0,005; АТФ—0,002, глюкозу—2, ПТГ— 10^{-10} (или 10^{-8} М) (Sigma, США) и $^{45}\text{CaCl}_2$ —1 мкКи (Изотоп, СССР). Контрольные пробы не содержали ПТГ. Инкубацию сегментов, основываясь на ранее полученных данных [3, 4], проводили в течение 15 сек и 30 мин. После соответствующей инкубации и промывки (в инкубационной среде в трехкратном объеме, не содержащей $^{45}\text{Ca}^{2+}$ и ПТГ) пробы помещали в сцинтилляционные флаконы, добавляя 0,5 М раствора протозола (NEN, США) для солюбилизации. После полной солюбилизации добавляли сцинтиллятор Брей [5] и проводили измерения на счетчике *Radioelectronique Compel SL—251* (Франция). Количество поглощенного $^{45}\text{Ca}^{2+}$ гладкими мышцами сосуда выражали в пг/мг массы сегмента. Статистическую обработку результатов проводили по Стьюденту.

Результаты и обсуждение. Результаты исследования приведены в таблице, из которой следует, что ПТГ усиливает вход $^{45}\text{Ca}^{2+}$ в гладкомышечные элементы сосуда. При этом максимальные сдвиги наблюдались при инкубации в течение 15 сек в условиях наличия ПТГ в концентрации 10^{-10} М. Увеличение Ca^{2+} -аккумулирующей способности при-

Сокращения: ПТГ—паратгормон.

Влияние ПТГ на транспорт $^{45}\text{Ca}^{2+}$ (в пг/мг массы) в гладкомышечные элементы бедренной артерии крыс

Время инкубации	$^{45}\text{Ca}^{2+}$, пг/мг массы		
	Контроль	ПТГ, 10^{-10} М	ПТГ, 10^{-8} М
15 сек n=5	7.8 ± 1.0	39.5 ± 4.0 $P < 0.01$	23.0 ± 2.1 $P < 0.01$
30 мин n=5	37.0 ± 1.4	42.0 ± 4.7 $P > 0.5$	45.1 ± 5.8 $P > 0.5$

этом составляло 400%. При повышении концентрации ПТГ до 10^{-8} М сдвиги были менее выражены и составляли 195%. Аналогичный эффект был обнаружен и при действии ПТГ на ганглии виноградной улитки [4]. Этот феномен известен в литературе [6] как ауторегуляторный фактор «down-регуляция» — способность больших доз ПТГ уменьшать количество рецепторов и плазматических мембранх органов-мишеней. Дальнейшая инкубация проб до 30 мин при наличии ПТГ в концентрации 10^{-10} М и 10^{-8} М достоверных сдвигов по сравнению с контролем не выявила. Наблюдалась лишь небольшая тенденция к повышению Ca^{2+} -аккумулирующей способности гладкомышечных элементов.

Наши результаты коррелируют с данными литературы [7, 8], свидетельствующими о действии ПТГ на систему кровообращения. Установлен, в частности, гипотензивный эффект ПТГ у земноводных и млекопитающих с максимумом сдвигов на 60 с. Следует отметить, что временной показатель и направленность в Ca^{2+} -аккумулирующей способности гладких мышц бедренной артерии совпадают с таковыми в нервной ткани — синаптических коры головного мозга крыс [2] и нейронах окологлоточного ганглия виноградной улитки [4].

Анализ данных, полученных при инкубации сегментов сосуда в условиях наличия ПТГ, позволяет предположить, что стимуляция транспорта Ca^{2+} в гладкомышечные элементы артерии есть следствие активации потенциалуправляемых кальциевых каналов. В пользу этого предположения свидетельствуют наши данные [3, 4], полученные на нервных клетках (нейронах, синаптических ганглиях), прямо указывающие на активацию ПТГ потенциалуправляемых кальциевых каналов в мембране.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лукьянец Е. А., Тер-Маркосян А. С., Худавердян Д. Н., Костюк П. Г. Нейрофизиология, 22, 1, 25, 1990.
2. Луценко В. К., Тер-Маркосян А. С., Хлебникова Н. В., Худавердян Д. Н. Бюл. экпер. биол. и медицины, 104, 8, 146, 1987.
3. Худавердян Д. Н., Крыжановский Г. Н., Тер-Маркосян А. С., Луценко В. К. Тез. конф. по физико-хим. биол. и биотехнологии в медицине. 51, Ереван, 1986.
4. Худавердян Д. Н., Тер-Маркосян А. С., Айрапетян С. Н. В кн.: Кальцийрегулирующая система в норме и патологии, 21, Ереван, 1988.
5. Bray G. A. Anal. Biochem, 1, 279, 1960.

6. Forte O. H., Langeluttlng S. G., Poelling R. E., Thomas M. L. *Amer. J. Physiol.* 242, 3, 4*5, 1975.
7. Pang P. K. T., Yong M., Oguro C., Phillips J. G., Yee J. A. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 41, 1, 133, 1980
8. Strickland M. L., Moore P. L., Pang P. K. T., Grass H. M. F. *J. Comp. Physiol.* 147, 1, 101, 1982.

Поступило 29.I 1990 г.

Биолог. журн. Армении, № 6.(43) 1990

УДК 615:612.32

КОНЦЕПЦИИ МЕХАНИЗМОВ ЦИТОПРОТЕКТИВНОГО И АНТИСЕКРЕТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ БЛОКАТОРОВ КАЛЬЦИЯ НА СЛИЗИСТУЮ ОБОЛОЧКУ ЖЕЛУДКА

Г. А. МИНАСЯН

В-клиническая больница, г. Ереван

Желудок—соляная кислота—блокаторы кальция.

Кальций играет важную роль в гастриновой стимуляции желудочной секреции [9]. Продукция соляной кислоты под влиянием Ca^{2+} превышает гастринстимулированную секрецию HCl на 50–75% [6]. Как интрагастральное введение кальция, так и гиперкальциемия вызывают, с одной стороны, прямую стимуляцию обкладочных клеток путем активации карбоангидразы этих клеток и потенцирования эффекта гистамина, с другой—гиперплазию гастринных клеток слизистой оболочки желудка и повышение продукции ими гастрина [9]. Большое значение кальция в секреторном процессе позволило рассматривать гиперкальциемию и изменения в транспорте кальция через мембрану слизистой желудка в качестве одного из патогенетических факторов гастродуodenального язвообразования [1]. Наиболее эффективно трансмембранный перенос Ca^{2+} блокируется антагонистами кальция [8, 10]. Использование нами блокаторов кальция, в частности, нифедипина в эксперименте и в клинике [2, 3] показало их способность угнетать желудочную секрецию, оказывать выраженный цитопротективный и антиульцерозный эффект. В процессе этих исследований, а также при изучении действия блокаторов кальция на уровне функциональных блоков [5] были установлены некоторые важные особенности действия антагонистов кальция, однако не был представлен механизм в целом.

Цель данного сообщения—обобщить и представить некоторые механизмы действия блокаторов кальция и на их основе разработать по возможности более целостную концепцию действия этого класса фармакологических средств на уровне слизистой оболочки желудка и организма в целом.

мым процессом: повышение концентрации Ca^{2+} увеличивает «ацетилхолиновый» выход гастрина [4], а блокаторы кальция угнетают этот процесс (рис. 1, б). Они угнетают и следующий этап—связывание гастрина с мембранными рецепторами гистамина (рис. 1, в). В результате этого подавляется синтез гистидиндекарбоксилазы, которая катализирует быструю наработку гистамина. Антагонисты кальция тормозят также синтез гастрина гастриноцитами и гистамина гистаминами (рис. 1, г, д). Таким образом, антагонисты кальция прерывают цепочку последующих взаимодействий: ацетилхолин—гастриноцит—гастрин—гистаминацит—гистамин (париетальная клетка)—секреция HCl .

Определенное значение имеет способность антагонистов кальция угнетать H^+K^+ -АТФазу мембран париетальных клеток и высвобождение гистамина из тучных клеток [4].

Особую роль играет ингибирование или Ca^{2+} -зависимого фермента фосфолипазы A_2 , высвобождающего из фосфолипидов арахидоновую кислоту (рис. 2). При язвенной болезни высокая активность фосфоли-

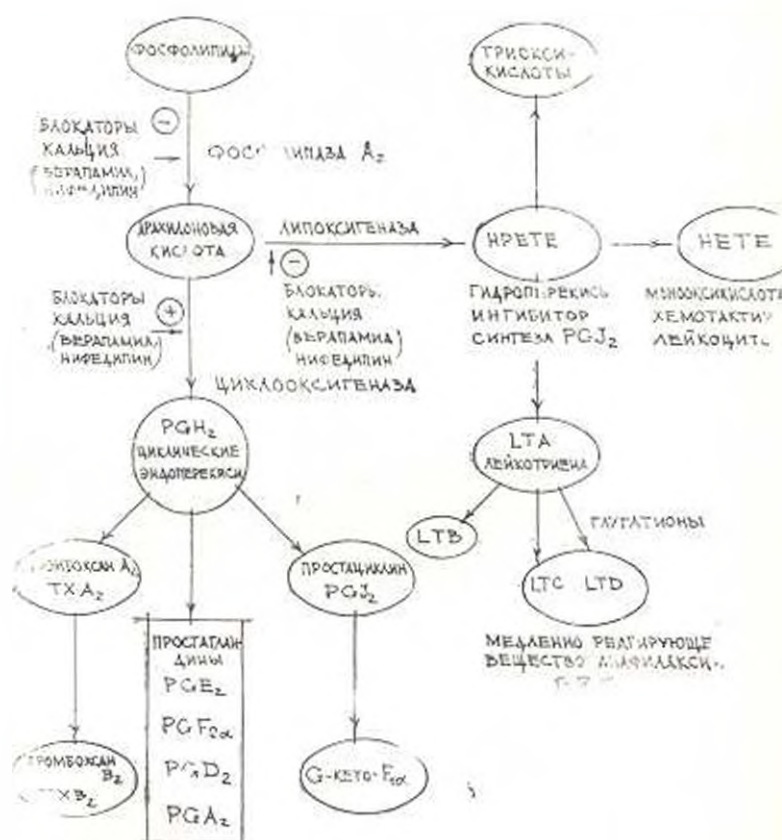


Рис. 2. Влияние блокаторов кальция верапамила и нифедипина на образование и метаболизм арахидоновой кислоты

пазы A_2 приводит к повышенному высвобождению из фосфолипидов арахидоновой кислоты, однако дальнейший метаболизм ее протекает преимущественно по липоксигеназному пути, что приводит к дефициту

простагландинов и избытку лейкотриенов в слизистой оболочке желудка [5]. Антагонисты кальция стимулируют активность циклооксигеназы и угнетают активность липоксигеназы, что сопровождается, с одной стороны, увеличением синтеза и накоплением в слизистой желудка простагландинов, с другой — нормализацией уровня лейкотриенов [5]. Данный эффект имеет важное значение, поскольку, как известно, простагландины угнетают продукцию HCl, стимулируют синтез и секрецию желудочной слизи, повышают суммарную резистентность слизистой оболочки желудка. Что касается противоязвенного действия антагонистов кальция, то, как нами показано [3], оно обусловлено «центральным» (психотропным антидепрессивным и транквилизирующим) и «периферическим» (антисекреторным и спазмолитическим) эффектами этих средств. Конкретные механизмы психотропного действия блокаторов кальция нуждаются в дальнейшем изучении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ивашкин В. Т., Дорофеев Г. И. Клинич. медицина, 4, 94—100, 1976.
2. Ивашкин В. Т., Минасян Г. А. Биол. журн. Армении, 2, 40, 151—153, 1987.
3. Ивашкин В. Т., Минасян Г. А. Терапевт. архив, 1, 78—83, 1988.
4. Ивашкин В. Т., Васильев В. Ю., Северин Е. С. Уровни регуляции функциональной активности органов и тканей. Л., 1987.
5. Минасян Г. А. Автореф. докт. дисс., Л., 1989.
6. Barclay G., Maxwell V., Grossman M. J. Digest. Dis. Sci., 5, 385—391, 1983.
7. Brassine A., Walda S. Gastroenterol. Clin. Biol., 8, 659—663, 1983.
8. Gilles T. D. Angiology, 8, 489—491, 1982.
9. Herty R. F., Naiko D. C. Gastroenterology, 3, 491—496, 1981.
10. Parodi O. Amer. J. Cardiol., 4, 923—934, 1982.

Поступило 22.I 1990 г.

Биол. журн. Армении, № 6, (43) 1990

УДК 615:612.32

КОНЦЕПЦИЯ МЕХАНИЗМОВ АНТИСЕКРЕТОРНОГО И ПРОТИВЯЗВЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ЛИТИЯ НА СЛИЗИСТУЮ ОБОЛОЧКУ ЖЕЛУДКА

Г. А. МИНАСЯН

8-клиническая больница, г. Ереван

Слизистая оболочка желудка—литий—соляная кислота—язва желудка.

В эксперименте на лягушках и крысах, а затем и у больных язвенной болезнью нами установлена способность лития (карбоната и оксиди-

Сокращения: ИФ₃—инозитол—1,4,5—трифосфат, ДАГ—диглицерол, ФИФ₂—фосфатидилинозитол—4,5—дифосфат.

рата) угнетать желудочную секрецию и оказывать выраженное цитопротективное и антиульцерозное действие [1–5]. В процессе этих исследований были раскрыты некоторые важные особенности действия лития, однако не был показан целостный механизм действия этого иона.

Цель данного сообщения—обобщение результатов проведенных ранее исследований [1–6] и разработка на их основе концепции механизмов антисекреторного и противоязвенного действия лития.

Материал и методика. Исследования включали изучение действия лития на секреторную активность изолированной слизистой оболочки желудка лягушки [2]; системы окисления и окислительного фосфорилирования митохондрий слизистой желудка крысы [3]; экспериментальное воспроизведение и моторику желудочно-кишечного тракта у крыс [1]. Проведены также клинические испытания лития в условиях рандомизированного двойного-слепого плацебо-контролируемого испытания у больных язвенной болезнью [4], оценено влияние этого иона на желудочную секрецию соляной кислоты, пепсина, фукосгликопротеидов у больных язвенной болезнью при однократном и курсовом назначении препарата [5], а также действие на структурно-функциональные блоки [6].

Результаты и обсуждение. Согласно полученным данным [1–3], литий на клеточно-тканевом уровне обратимо тормозит активность системы аденилатциклаза—цАМФ, блокирует каналы кальцевого и калиевого токов, повышает степень сопряжения окисления и фосфорилирования (рис. 1). Все эти эффекты сопровождаются угнетением базальной и стимулированной гистамином желудочной секреции.

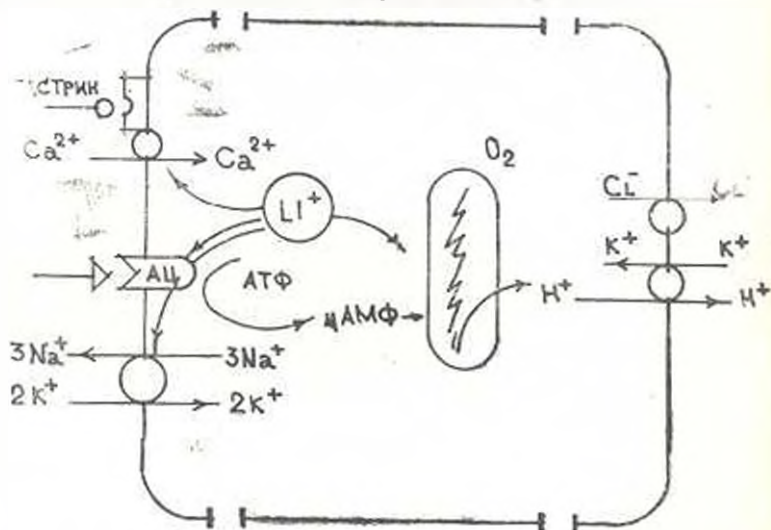


Рис. 1. Схема действия лития на кислотопродуцирующий аппарат окислительных клеток

Другой ключевой механизм действия лития состоит в блокировании превращения инозитол-1-фосфата в свободный инозитол (рис. 2). Этот эффект обусловлен способностью лития ингибировать инозитол-1-фосфатазу [6]. В результате происходит прерывание фосфатидилинозитольного цикла и «истощение» агонист-зависимой мембранной системы, продуцирующей два вторичных мессенджера—ИФ₂ и ДАГ. Гидролиз

ФИФ, и последующее повышение внутриклеточного уровня ИФ₃ и ДАГ выступают в качестве универсального ответа клеток на внешние стимулы. Блокада литием инозитолфосфатного цикла, которая приводит к нарушению образования инозитолфосфатов, необходимых для функцио-

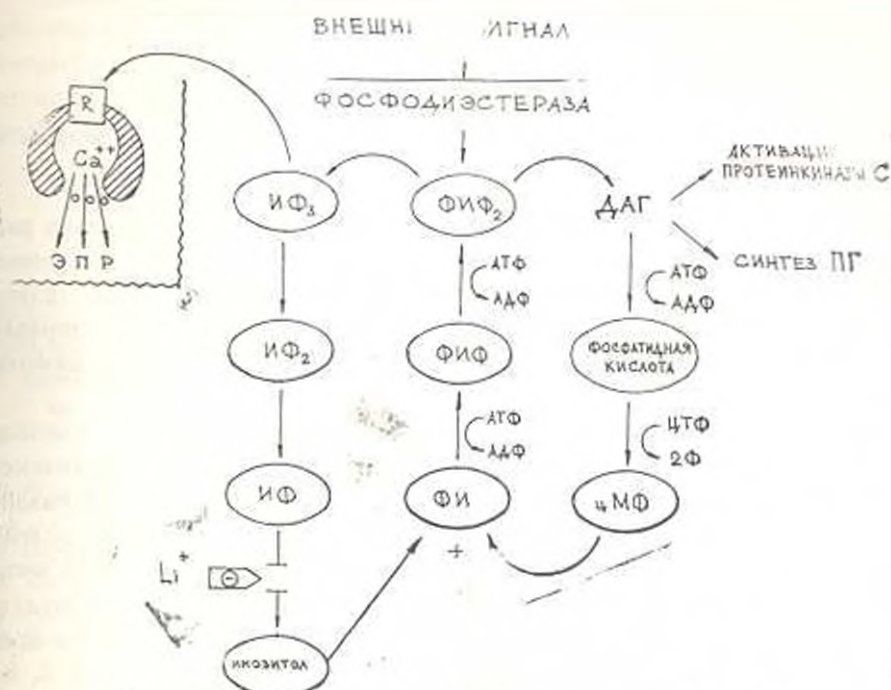


Рис. 2. Схема блокады литием инозитолфосфатного цикла.

пирования Ca^{2+} -мобилизирующих рецепторов, лежит не только в основе антисекреторного действия этого иона, но и в основе широкого спектра физиологических и клинических эффектов его [6], в числе последних психотропное (антидепрессивное и транквилизирующее) действие [5]. Выдвигаемая на основании приведенных данных концепция противоязвенного действия лития на уровне целостного организма человека включает положение о «периферическом» антисекреторном (угнетение продукции соляной кислоты и пепсина при неизменной секреции слизи) и «центрально» психокорригирующем (антидепрессивное и транквилизирующее) воздействии этого иона.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ивашкин В. Т., Минасян Г. А. Ж. эксперим. и клинич. медицины, 3, 309—311, 1987.
2. Ивашкин В. Т., Минасян Г. А., Токарев В. Е. и др. Биол. журн. Армении, 2, 38, 148—152, 1985.
3. Ивашкин В. Т., Минасян Г. А., Токарев В. Е. и др. Биол. журн. Армении, 6, 38, 537—539, 1985.
4. Минасян Г. А., Токарев В. Е., Жибков Ю. Е. В кн.: III Всесоюз. съезд гастроэнтеролог. Тез. докл., 2, 51, М.—Л., 1984.
5. Минасян Г. А. Автореф. канд. дисс., Л., 1984.
6. Минасян Г. А. Автореф. докт. дисс., Л., 1989.

Поступило 22.I 1990 г.

ИММУНОРЕГУЛЯТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПЕРЕКИСЕЙ ЛИПИДОВ

Л. С. ГРИГОРЯН

Ереванский государственный медицинский институт

Кислота перекисидированная, олеиновая—сыворотка крови—комплементарная активность

Несмотря на то, что в литературе довольно убедительно показана роль мультитоксичных продуктов перекисного окисления липидов в тонкой регуляции функциональной активности иммунокомпетентных клеток [1, 6], до настоящего времени нет данных о влиянии перекисидированной олеиновой кислоты на комплементарную активность сыворотки крови.

Важность изучения активности комплемента объясняется незаменимой ролью системы комплемента в организме. Система комплемента—мультимолекулярная система факторов, выполняющая цепь различных биологических функций и играющая одну из ключевых ролей в поддержании иммунного гомеостаза, участие в специфическом и неспецифическом иммунном ответе. Недостаток отдельных звеньев мультимолекулярной системы приводит к патологическим состояниям и предрасположенности организма к поражению микроорганизмами [2, 5, 8—11, 13].

Материал и методы. Экспериментальной моделью служили беллиевы крысы-самцы (139) массой 120—150 г, которым внутривенно и перорально вводили определенные дозы перекисидированной олеиновой кислоты (с перекисным кислородом 200 мкмоль на 1.0 г навески масла).

Комплементарную активность сыворотки, определяемую по 100%-ному гемолизу sensibilizированных эритроцитов барана, наблюдали при разных дозах и продолжительности введения перекисидированной олеиновой кислоты.

Результаты и обсуждение. Как показали результаты исследования, комплементарная активность крови претерпевает фазные изменения. При 4-дневном введении ПОК как перорально (1.5 мл), так и внутривенно (0.1 мл) наблюдается статистически достоверное повышение комплементарной активности сыворотки. Титр гемолитической активности сыворотки проявляется в 0.03 мл крови, что в сравнении с контролем активнее на 40%. А при 14-дневном воздействии ПОК комплементарная активность угнеталась на 80%.

Последующие наблюдения выявили также стимуляцию КА при 7-дневном пероральном введении 0.3 мл ПОК и угнетении при дозе 1.5 мл.

Сокращения: ПОК—перекисидированная олеиновая кислота, КА—комплементарная активность сыворотки крови.

Аналогичные фазные изменения КА обнаруживались также при 0.1 мл внутривенном введении ПОК (при 4-дневном—стимуляция, а при 7—14-дневном—угнетение).

Таким образом, имеет место четкая зависимость от дозы и времени действия ПОК на комплементарную активность крови, что, по всей вероятности, является результатом регуляторного действия биологически активных продуктов ПОЛ на секреторную активность клеточных популяций, синтезирующих компоненты комплемента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Козловская П. В., Мартынова М. А. Учебное пособие по клиническим лабораторным методам исследования. М., 1975.
2. Кульберг Л. Я. Молекулярная иммунология. 287, М., 1985.
3. Петров Р. В. Иммунология. 416, М., 1987.
4. Владимир Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. 252, М., 1972.
5. Канкин К. Н., Караев З. О. Иммунная реактивность организма и антибактериальная терапия. 200, Л., 1984.
6. Ковилев И. Е., Полсвая О. Ю. Биохимические основы иммунитета к низкомолекулярным химическим соединениям. 304, М., 1985.
7. Зарецкая Ю. М. Клиническая иммунология. 208, М., 1983.
8. Friemel H., Brock I. Grundlagen der Immunologie. Пер. с нем. 254, М., 1986.
9. Fundamental Immunology. Editor William E. P., M. D. Пер. с англ., М., 1987.
10. Immunological aspects of infectious diseases. Иммунологические аспекты инфекционных заболеваний. Пер. с англ. Под ред. Дж. Дика. 576, М., 1982.
11. Cooper E. L., Кулэр Э. Сравнительная иммунология. М., 1980. 121.
12. Immunologische Arbeitsmethoden, Herausgegeben von prof. Dr. sc. med. Helmut Friemel. Пер. с нем. А. П. Тарасова. 472, М., 1987.
13. Recent Advances in Clinical Immunology. Последние достижения в клинической иммунологии. Под ред. Р. А. Томсона. Пер. с англ., 495, М., 1983.

Поступило 20.III 1989 г.

Биол. журн. Армении. № 6 (43) 1990

УДК 577.616.233—002.547.915.5

УРОВЕНЬ ФОСФОЛИПИДОВ, АКТИВНОСТЬ ПЕРЕОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И ФОСФОЛИПАЗЫ А ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПЫЛЕВОМ БРОНХИТЕ

П. А. КАЗАРЯН, Д. П. МАДАНЯН

Ереванский институт усовершенствования врачей МЗ СССР

Бронхит хронический пылевой—фосфолипиды—ПОЛ—фосфолипаза А.

Одним из механизмов патогенеза пылевых заболеваний легких является влияние производственной пыли на биологические мембраны, в част-

Сокращения: ПОЛ—перекисное окисление липидов; ФЛ—фосфолипиды; МДА—малоновый диальдегид; ФЭ—фосфатидилэтаноламин; СФМ—сфингомиелин; ФС—фосфатидилсерин; ПГФЛ—полиглицерофосфолипид; ЛФХ—лизофосфатидилхолин; ФХ—фосфатидилхолин.

ности, на лизосомальные. С этим связаны работы последних лет, посвященные роли ПОЛ в патогенезе пневмокониозов [1, 8].

Установлено, что развитие силикоза сопровождается активированием процессов ПОЛ. При неосложненном силикозе эти процессы активируются при сохраненной антиоксидантной защите, тогда как при силикотуберкулезе имеет место одновременное уменьшение ферментативной антиоксидантной защиты организма [4].

Факт участия продуктов ПОЛ в развитии патологического процесса в бронхолегочной системе признается многочисленными исследователями [2, 5], однако остается невыясненным значение нарушения отдельных звеньев метаболизма липидов.

Цель настоящего исследования заключалась в изучении обмена ФЛ—основных структурных и функциональных компонентов биомембран и интенсивности ПОЛ у больных хроническим пылевым бронхитом (от воздействия базальтовой пыли).

Материал и методика. Обследовано 36 больных хроническим пылевым бронхитом, контактирующих с базальтовой пылью (все мужчины), в возрасте 40—55 лет в условиях стационара. Контрольная группа составляла 22 практически здоровых человека.

У всех больных диагноз пылевой бронхит был подтвержден общепринятыми клиническими, лабораторными, биохимическими и рентгенологическими методами исследования.

Кровь для определения концентрации ФЛ, активности ПОЛ и фосфолипазы А брали из локтевой вены (7 мл). Фракционирование индивидуальных ФЛ осуществляли методом тонкослойной хроматографии [14] на закрепленном слое силикагеля ЛС 60 Ю МК ЧССР [9]. Затем определяли липидный фосфор [12]. Активность ПОЛ определяли по выходу МДА [15]. Исследование активности фосфолипазы А проводили по методу Тужилина и Салузньи [13] и модификации Казаряна [10].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием критерия достоверности и различий Фишер—Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Результаты проведенных исследований представлены в таблицах.

Как свидетельствуют полученные данные (табл. 1), хронический пылевой бронхит характеризуется значительным изменением фосфоли-

Таблица 1. Уровень фосфолипидов (в %, от суммы) в плазме крови больных хроническим пылевым бронхитом

Фракции ФЛ	Здоровые, 22	Хронический пылевой бронхит, 28	P
ЛФХ	7.8±1.2	10.0±0.2	<0.05
СФМ	19.3±1.0	17.2±0.5	<0.05
ФХ	48.1±2.6	54.0±1.2	<0.05
ФЭ	10.3±1.8	7.1±0.2	<0.05
ФЦ	6.5±0.9	5.2±0.2	>0.1
ПГФЛ	6.7±1.2	4.7±0.2	<0.05

пидного спектра в плазме крови. У обследованных больных, независимо от тяжести заболевания, отмечалось статистически достоверное

уменьшение содержания ФЭ и СФМ. Выявлена явная выраженная тенденция к снижению уровня ФС и ПГФЛ в плазме крови. Снижение содержания указанных ФЛ сопровождалось одновременным значительным увеличением уровня ЛФХ—токсичных продуктов липолиза, что свидетельствует об активации фосфолипазы А. Хронический пылевой бронхит характеризуется также увеличением ФХ в крови.

Изменение содержания фосфолипидов, на наш взгляд, обусловлено как усилением деградации этих соединений, так и вовлечением их в процессы перекисления липидов. Результаты проведенных в этом направлении исследований (табл. 2) показали, что у больных хроническим пылевым бронхитом независимо от тяжести заболевания процессы ПОЛ активизируются ($422,8 \pm 15,0$ при норме $323,7 \pm 15,1$ нмоль/л).

Эти изменения особенно выражены у больных с тяжелым течением заболевания. Примечательно, что у всех обследованных больных отмечалось также значительное повышение активности фосфолипазы А в сыворотке крови ($2,09 \pm 0,12$ при норме $1,31 \pm 0,03$ усл. ед.). При этом обнаруживалась определенная связь между изменениями уровня ЛФХ и активностью фосфолипазы А (табл. 2).

Таблица 2. Активность фосфолипазы А в плазме и перекисления липидов в эритроцитах крови больных хроническим пылевым бронхитом

Показатели	Здоровые, 22	Хронический пылевой бронхит, 36	p
МДА (нмоль/л)	$323 \pm 15,1$	$422,8 \pm 15,0$	$< 0,001$
Фосфолипаза А	$1,31 \pm 0,03$	$2,09 \pm 0,12$	$< 0,001$

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о значительном нарушении метаболизма ФЛ и интенсификации процессов ПОЛ и начальных этапов деградации ФЛ.

Полученный нами фактический материал позволяет сделать вывод о важном значении определения спектра ФЛ плазмы крови, активности фосфолипазы А и ПОЛ в эритроцитах для выявления патофизиологических изменений бронхолегочного аппарата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Архипова О. Г. Журн. ГТ и ПЗ, 10, 25—30, 1983.
2. Аляутин В. Г., Карагезян К. Г., Сафарян М. Д. Тер. арх., 3, 96—100, 1980.
3. Безрукавичкова Л. М., Глогова К. В. Журн. ГТ и ПЗ, 6, 28—31, 1987.
4. Биленко М. В. Биодитиокислители и регуляции метаболизма в норме и патологии, 195—213, М., 1982.
5. Кислицина Н. С. Канд. дисс., Свердловск, 1986.
6. Казарян Н. А., Элоян Д. В. Хроматографические методы (распределительная и адсорбционная хроматография), 40, М., 1982.
7. Казарян П. А. Докт. дисс., 346, Ереван, 1986.
8. Светашев Б. Н. Канд. дисс., 25, Владивосток, 1973.
9. Тужилин С. А., Салузня А. И. Лабор. дело, 334—335, 1975.
10. Хроматография в тонких слоях, Под ред. Э. Шталаи, 508, М., 1965.
11. Stocks J., Dormandy T. J. Brit. J. Haemat., 29, 95—111, 1971.

Поступило 14.XII 1989 г.

ОЦЕНКА УРОВНЯ МИКРОЯДЕР В СЛИЗИСТОЙ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ У БОЛЬНЫХ АЛЛЕРГИЗАМИ И ЗДОРОВЫХ ЛИЦ, ПРОЖИВАЮЩИХ В СЕЛЬСКОЙ МЕСТНОСТИ

А. Н. АПРИЯН*, Г. Г. ОГАНЕСЯН, Р. М. АРУТЮНЯН**

*Ереванский государственный медицинский институт, лаборатория социально-гигиенических проблем села ЦНИИЛ

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

Слизистая ротовой полости—микроядра—аллергические заболевания.

Микроядерный тест относится к широко распространенным экспресс-методам анализа мутагенного действия окружающей среды. Он не уступает по чувствительности метафазному анализу и является гораздо менее трудоемким [7].

Микроядра возникают из ацентрических фрагментов или отстающих хромосом вследствие нарушения функции ахроматинового веретена. Анализ их проводится в эритроцитах и лимфоцитах периферической крови человека, а также в соскобах слизистой ротовой полости [9—11]. Уровень МЯ отражает степень загрязненности окружающей среды. Так, из 15 изученных дезинфекционных препаратов у 6 с помощью МТ обнаружена мутагенная активность [6]. Показана мутагенность ароматических углеводородов бензола и толуола [5]. В работе Ванчуговой [3] подтверждена эффективность МТ при оценке мутагенности асбестовой пыли. Так как уровень МЯ может быть оценен в отслаивающихся клетках различных тканей, применение МТ актуально также для выявления потенциальной онкогенной опасности [10]. Повышенная частота МЯ обнаружена в клетках слизистой ротовой полости у лиц с повышенным риском рака ротовой полости, а именно у жующих табак [8].

Таким образом, благодаря высокой чувствительности применение МТ целесообразно в различных гигиенических, токсикологических, а также онкоэпидемиологических исследованиях [4].

В настоящем сообщении представлены результаты изучения уровня МЯ у больных, страдающих аллергическими заболеваниями и проживающих в сельской местности, в которой отсутствует целый ряд свойственных городу загрязнителей окружающей среды.

Материал и методика. В исследовании применен метод анализа МЯ в клетках ротовой полости, предложенный Стихом с соавт. [9]. Мазок со слущившимися эпителиальными клетками брали с помощью смоченного в воде шпателя с внутренней стороны правой и левой щек и нижней губы, наносили на предметное стекло и окрашивали реактивом Шиффа с подкраской лихт-грюном вместо примененного Стихом зеленого прочного [1].

Микроядра анализировали под микроскопом с помощью иммерсионного объектива (40×90) в расчете по 2000 клеток на каждого индивидуума.

Сокращения: МЯ—микроядра. МТ—микроядерный тест.

Исследования выборка включала 25 больных, находившихся к моменту взятия мазка на лечение в отделении пульмонологии Республиканской клинической больницы, и 25 здоровых лиц обоего пола в возрасте от 18 до 72 лет. В контрольную группу вошли сотрудники одного из медицинских учреждений Абовянского района.

Результаты и обсуждение. Проведенное исследование показало (табл.), что частота микроядер в контрольной группе составляла в среднем $0,07 \pm 0,01\%$, а в группе больных — $0,14 \pm 0,01\%$. Различия между этими двумя группами достоверны ($t=4,60$; $P<0,001$).

Частота клеток слизистой ротовой полости с микроядрами в различных вариантах

Наименование исследуемой группы	М	Количество МЯ, %	Ж	Количество МЯ, %	М+Ж	Количество МЯ, %	Средний возраст
Больные аллергиями	11	$0,12 \pm 0,02$	14	$0,16 \pm 0,02$	25	$0,14 \pm 0,01$	$40,56 \pm 3,12$
Контрольная группа	1	0,15	24	$0,07 \pm 0,08$	25	$0,07 \pm 0,01$	$33,96 \pm 1,76$

В группе больных не обнаружена разница в уровнях микроядер между мужчинами и женщинами; выборка здоровых лиц включала в основном женщин, поэтому здесь оценка зависимости уровня микроядер от пола невозможна.

Результаты согласуются с данными, полученными ранее при обследовании производственных контингентов по Армении. Например, средний уровень микроядер у работников производства чистого железа составил $0,13 \pm 0,01\%$, а в контрольной выборке жители города Еревана — $0,03 \pm 0,01\%$ [2].

Следовательно, возможно, что больные аллергиями более чувствительны к загрязнителям окружающей среды, или же уровень микроядер отражает у них соответствующие изменения в метаболизме.

Можно считать, что анализ микроядер в клетках слизистой ротовой полости является дополнительным быстрым, недорогим и информативным тестом для цитогенетического исследования больных аллергиями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян Р. М., Саркисян Т. Ф., Журков В. С., Ширинян Г. С., Туманян Э. Р. Биолог. ж. Армении, 41, 1, 70—71, 1987.
2. Арутюнян Р. М., Туманян Э. Р., Ширинян Г. С. Цитология и генетика (в печати).
3. Ванчурова Н. Н. Сб. научн. тр. «Профессиональные болезни пылевой этиологии», 40—45, М., 1984.
4. Фарш В. Н., Ванчурова Н. Н. Экспериментальная экология, 9, 2, 8—11, 1987.
5. Фельдт Е. Автореф. канд. дисс., М., 1984.
6. Юрченко В. В. Автореф. канд. дисс., М., 1983.
7. Schmid W. Mut. Res., 31, 1, 9—15, 1975.
8. Stich H. F. Mech. Tobacco Carcinogen. Prot. Cont., Sept., 1984, Cold Spring Harbor, 99—111, 1986.
9. Stich H. F., Curtis R. and Parida B. B. Int. J. Cancer, 30, 553—559, 1982.
10. Stich H. F. and Rostin M. P. Mut. Res., 150, 43—51, 1985.
11. Stich H. F., Stich W., Rostin M. P. and Vallejera M. O. Int. J. Cancer, 34, 743—750, 1984.

Поступило 8.11.1990 г.

ОСОБЕННОСТИ ГОРМОНАЛЬНОГО СТАТУСА ПРИ ЮНОШЕСКОМ ГИПОТАЛАМИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ

Р. Г. КАРАБАХЦЯН

Армянский НИЦ по охране здоровья матери и ребенка, г. Ереван

Синдром юношеский гипоталамический—гормоны.

Юношеский гипоталамический синдром—сложный патологический симптомокомплекс, возникающий в подростково-юношеском возрасте и вызывающий ряд эндокринных сдвигов в организме девушки, приводящих к различным нарушениям репродуктивной функции в будущем.

Многими авторами обнаружены нарушения секреции половых гормонов при ЮГС. Однако результаты этих исследований довольно противоречивы.

У определенного контингента с гипоталамическим синдромом пубертатного периода возможна гиперсекреция гонадотропных гормонов [5]. Имеются данные о гиперпродукции фоллитропина и дефиците лютропина [4]. Выявлены как высокие, так и низкие концентрации гонадотропинов, а также неоднозначные показатели секреции пролактина [6].

Вопрос о состоянии глюкокортикоидной функции коры надпочечников при ЮГС также остается спорным. Ряд исследователей не находят существенных изменений функции коры надпочечников и гипофизарно-надпочечниковых взаимоотношений у страдающих гипоталамическим синдромом пубертатного периода [2, 7]. Другими авторами, напротив, была выявлена у этих больных глюкокортикоидная гиперфункция коры надпочечников [1, 8, 9]. Данные относительно уровня эстрогенов при ЮГС также неоднозначны: если одни авторы указывают на избыток эстрогенов [4], то другие отмечают эстрогенную недостаточность [3].

В настоящем сообщении представлены результаты изучения особенностей секреции белковых (фоллитропина, лютропина, пролактина) и стероидных (17 β -эстрадиола, прогестерона, тестостерона, кортизола) гормонов при ЮГС в острой стадии.

Материал и методика. Под наблюдением находились 70 пациенток в возрасте от 15 до 20 лет, страдающих ЮГС. Контрольную группу составили 17 практически здоровых девушек того же возраста.

Гормональные исследования проводили радиоиммунологическим методом с помощью стандартных реактивов, поставляемых ВОЗ в рамках программы по репродукции человека.

Пробы крови получали из локтевой вены натощак, в 9.00 утра, на 5—7 день менструального цикла.

Сокращения: ЮГС—юношеский гипоталамический синдром.

Результаты и обсуждение. Гормональный статус пациенток в острой стадии ЮГС представлен в таблице.

Содержание белковых и стероидных гормонов в сыворотке крови при ЮГС (острая стадия)

Гормоны	n	Острая стадия ЮГС (n = 70) M ± m	n	Контрольная группа (n = 17) M ± m	P
Фоллиотропин, МЕ/л	67	4.90 ± 0.37	17	4.00 ± 0.41	n. d.
Лютротропин, МЕ/л	68	12.4 ± 1.09	16	5.97 ± 0.52	< 0.001
Пролактин, МЕ/л	68	595.0 ± 56.0	15	314.6 ± 27.5	< 0.001
Эстрадиол, нмоль/л	68	143.0 ± 14.9	17	274.9 ± 29.4	n. d.
Прогестерон*, нмоль/л	64	9.59 ± 1.70	17	31.9 ± 1.11	< 0.001
Тестостерон, нмоль/л	70	2.05 ± 0.10	16	1.39 ± 0.08	< 0.001
Кортизол, нмоль/л	70	177.4 ± 21.7	16	396.6 ± 25.4	< 0.02

* Содержание прогестерона в сыворотке крови было определено в поздней лютеиновой фазе цикла, а остальных гормонов — в ранней фолликулярной фазе.

Полученные данные выявили тенденцию к повышению уровня фоллиотропина, а также статистически достоверное повышение лютротропина и пролактина по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы. Что касается эстрадиола, то этот гормон проявляет тенденцию к снижению. Хотя среднее значение прогестерона составляло 9.59 ± 1.70 нмоль/л, у 15 пациенток (21%) оно превышало 30 нмоль/л, что свидетельствовало об овуляции, однако у 49 больных (78,8%) этот показатель был достоверно ниже нормы. Уровни тестостерона и кортизола в острой стадии ЮГС оказались достоверно выше.

Таким образом, в острой стадии ЮГС выявлено повышение функциональной активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, что диктует необходимость проведения адекватной патогенетически обоснованной корригирующей терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васюкова Е. А., Соскин Л. С., Клиаткина Э. И. Мед. газета. 7 сентября, № 69/3064, 1971.
2. Вербовая Н. И., Гуляев Н. Н., Лоткова Е. А., Затулина М. В. Пубертатно-юношеский диспитуитаризм (гипот. с-м пубертатного периода, особенности клиники, диагностики). Метод. реком., 21, Куйбышев. 1985.
3. Гинчурман Е. З., Лежнева Э. Л. Акуш. и гин., 9, 22—24, 1983.
4. Каюшва И. В. Сб. тр. 2-го Моск. мед. ин-та, 167, 35, 77—80, 1981.
5. Курманова А. К. Автореф. канд. дисс., М., 1973.
6. Мириманова Р. П. Автореф. докт. дисс., М., 1986.
7. Эгарт Ф. М., Александров К. А. Клин. мед., 51, 8, 117—123, 1973.
8. Krawczuk A. Ginekologia Polska, 36, 10, 1165—1172, 1955.
9. Ozerzier C. Med. Klin., 59, 567—569, 1964.

Поступило 25.III 1990 г.

ФЕРМЕНТЫ ОКИСЛЕНИЯ ПРОЛИНА У ЛИЧИНОК И КУКОЛОК ФАСОЛЕВОЙ ЗЕРНОВКИ

А. Х. АГАДЖАНИН, А. М. ЗАКИ, М. А. ДАВТЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии

Личинки и куколки фасолевой зерновки *Acanthoscelides obtectus* Say обладают выраженной пролиноксидазной (ПО) и пирролин-5-карбоксилат дегидрогеназной (П5КД) активностью. Субстратами для ПО может служить также оксипролин, хотя при этом ферменты проявляют значительно меньшую активность. Не удается обнаружить активность ферментов окисления пролина в случае использования в качестве субстратов DL-пролина. Очевидно, D-форма пролина подавляет ПО активность в отношении природного субстрата.

Ферменты окисления пролина у личинок и куколок в основном локализованы в осадке гомогената.

Окисления пролина более чем в 7 раз стимулируются низкими концентрациями аргинина, более высокие концентрации его полностью подавляют этот процесс. Очевидно, аргинин является модулятором ПО, причем положительным — при низких концентрациях и отрицательным — при высоких. ПХМЕ как тиоловый реагент при концентрации $3,3 \cdot 10^{-4}$ М полностью подавляет процесс образования глутамата, ингибируя активность П5КД.

Исключая из инкубационной среды окисленный ПАД и таким образом препятствуя восстановлению пирролин-5-карбоксилата (П5К) в глутамат, мы установили, что пролин включается в метаболический путь через промежуточное соединение — П5К.

Изучена активность ПО во фракциях, полученных при ступенчатом высаливании гомогената личинок сульфатом аммония, и влияние аргинина и орнитина на активность этих ферментов. Установлено, что в присутствии указанных аминокислот при 30%-ном высаливании исходное содержание пролина среды практически полностью окисляется ПО, при 50%-ном высаливании ПО абсолютно не стимулируется этими аминокислотами. Это дает основание предполагать, что ПО, выделенные при разной степени высаливания сульфатом аммония, по-видимому, являются разными энзимами.

Удалось, хотя и в незначительной степени, солюбилизовать в воде ферменты окисления пролина, переводя их из осадка в надосадок. Важно отметить, что потеря активности ферментов окисления пролина у личинок при высаливании незначительная, в то время как оксидазы пролина из других источников обнаруживаются лишь в интактных клетках.

12 с. библиогр. 6 назв.

Полный текст статьи деп. в БИНТИ

Поступило 30.III 1990 г.

Биолог. журн. Армении, № 6.(43).1990

УДК 591.1.05

НЕКОТОРЫЕ СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ БИОСИНТЕЗА ПРОЛИНА У ФАСОЛЕВОЙ ЗЕРНОВКИ *ACANTHOSCELIDES OBTECTUS* SAY.

А. М. ЗАКИ, А. Х. АГАДЖАНЫН, М. А. ДАВТЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии

Изучены влияние кофакторов пирролин-5-карбоксилат редуктазы (П5КР)—НАДН и НАДФН на процесс биосинтеза пролина в осадках гомогената личинок, куколок и жуков фасолевой зерновки *A. obtectus* Say, полученных при 30—65%-ном насыщении сульфатом аммония. Установлено, что при 30%-ном насыщении у личинок фасолевой зерновки на уровне целого гомогената процесс биосинтеза пролина в присутствии НАДФН протекает интенсивнее, чем при наличии НАДН, у куколок и жуков обнаруживается обратная картина. Интересно, что процесс биосинтеза пролина в присутствии НАДН превалирует (в 3 раза) над НАДФН, в то время как при 50%-ном насыщении этот процесс в обоих случаях протекает с одинаковой интенсивностью. Это дает основание предполагать существование двух П5КР, одна из которых предпочитает исследование кофактора НАДН, другая—НАДФН.

При гельфильтрации ферментов биосинтеза пролина орнитинтрансаминазы (ОТ) и П5КР, выделенных при ступенчатом высаливании гомогената личинок фасолевой зерновки сульфатом аммония, установлено, что ферменты, полученные при 30%-ном и 65%-ном насыщении обладают сходной мол. массой и по этому показателю отличаются от ферментов, полученных при 50%-ном высаливании. Эти ферменты отличаются также в отношении влияния некоторых эффекторов. Так, ферменты, полученные при 50%-ном насыщении, почти полностью ингибируются слабыми концентрациями АТФ. Ингибирование активности ферментов биосинтеза пролина ПХМБ и хлористым кадмием свидетельствует о тисловом характере П5КР личинок фасолевой зерновки.

Ферменты биосинтеза пролина отличаются по их солюбилизации в воде. В частности, солюбилизованные ферменты биосинтеза пролина при 30%-ном насыщении имеют более высокое сродство к НАДН по сравнению с НАДФН, в то время как ферменты, полученные при 50%-

ном и 65%-ном насыщении, проявляют почти одинаковое сродство к обоим кофакторам. Ферменты личинок при 30%-ном насыщении обладают довольно высокой удельной активностью, и то время как у куколок и жуков указанные показатели высоки для ферментов, полученных при 65%-ном насыщении. Осадки гомогенатов, полученные при фракционировании сульфатом аммония, значительно отличаются по соотношению растворимости в воде ОТ и П5КР от суммарных растворимых белков.

Таким образом, в процессе метаморфоза фасольной зерновки значительно меняется растворимость ферментов биосинтеза пролина—ОТ и П5КР. Ферменты биосинтеза пролина на разных стадиях метаморфоза отличаются еще и тем, что их активность у куколок и жуков, и отличие от таковой личинок, при высаливании сульфатом аммония теряется примерно на один порядок.

Применяя довольно простые приемы очистки, удалось получить ОТ и П5КР со степенью очистки 333 и 291 и выходом фермента 57,9 и 57,0% соответственно.

Высокая степень очистки и физическое разделение П5КР достигнута при высаливании в холодных условиях надосадка от солюбилизованного в воде осадка, полученного при 30%-ном высаливании гомогената личинок фасольной зерновки. Путем электрофореза осажденных белков, удалось обнаружить две белковые полосы, одна из которых обладает П5КР активностью.

При электрофорезе фракций 7 и 9, полученных после 30%-ного высаливания сульфатом аммония и гельфильтрации водорастворимой надосадочной фракции на сефадексе G-150, получены 4 и 3 соответственно. Первая полоса—от фракции 7—обладает П5КР, а вторая—от фракции 9—ОТ активностью.

18 с. ил., 4 библиогр. 10 табл.

Полный текст статьи деп. в ВНИИТИ

Поступило 30 III 1990 г.

Биол. журн., Армения, № 6 (43) 1990

УДК 634.8:632.111.5(479.25)

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ МОРОЗОУСТОЙЧИВОСТИ ВИНОГРАДА ПРИ ВЕСЕННИХ МОРОЗАХ И ЗАМОРОЗКАХ

А. С. СИМОНЯН

Армянский НИИ виноградарства, виноделия и плодоводства
Госагропрома АрмССР, Ереван

В статье отражены результаты изучения шести селекционно новых морозоустойчивых сортов: Меграбуур, Неркарат, Анушают, Зовуни, Кармрени, Варданаик. Установлено, что эти сорта характеризуются высокой восстановительной способностью и возможностью обеспечивать нормальный урожай из заменяющих почек даже в случае сильного повреждения глазков.

Несмотря на различие в степени устойчивости к экстремальным условиям, они вполне приемлемы для возделывания на высоком штамбе в условиях совхоза Аштарак Аштаракского района АрмССР.

Особо следует выделить сорта Кармрени, Неркарят, Меграбуыр, которые проявляют высокую морозоустойчивость и восстановительную способность куста в сочетании с оптимальными показателями урожая и виноматериала. Эти сорта могут быть рекомендованы для широкого возделывания в предгорной зоне АрмССР.

7 с., библиогр. 5 назв.

Полный текст статьи деп. в ВИНТИ

Постулило 4.IV 1990 г.