

784-ბ
977
BIOLOGICAL
SERIES



საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მაცნე
ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИНСКОЙ ССР
PROCEEDINGS OF THE ACADEMY OF SCIENCES
OF THE GEORGIAN SSR

ბიოლოგიის
სერია
БИОЛОГИЧЕСКАЯ

1977 N 4

თბილისი
ТБИЛИСИ
TBILISI

ჰმანი
TOM
VOL.

3

**СПИСОК РАЗДЕЛОВ БИОЛОГИИ,
ПО КОТОРЫМ ПРИНИМАЮТСЯ СТАТЬИ**

Теоретическая биология
Физиология человека и животных (норм. и патол.)
Морфология
 Анатомия
 Эмбриология и гистология
 Цитология
 Патологическая морфология
Биохимия
Фармакология
Ботаника (экспер. и теорет.)
Физиология растений
Зоология (экспер. и теорет.)
Энтомология
Паразитология
Гельминтология
Палеобиология
Биогеоценология
Экология
Микробиология
Вирусология
Иммунология
Генетика
Радиобиология
Биофизика
Молекулярная биология
Бионика и биокибернетика

Адрес редакции: Тбилиси, 380060, ул. Кутузова, 19, Изд. «Мецნიერება», 5 этаж



საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მაცნე
 ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИНСКОЙ ССР

ბიოლოგიის სერია
СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

ტომი 3, № 4
 Том

ქურნალი დაარსებულია 1975 წელს
 Журнал основан в 1975 году
 გამოდის წელიწადში 6-ჯერ
 Выходит 6 раз в год

გამომცემლობა „მეცნიერება“ • თბილისი • 1977
 ИЗДАТЕЛЬСТВО „МЕЦНИЕРЕБА“ • ТБИЛИСИ

კ. შარვაშიძის სსრ. სსრ
 საბუნებისმეტყველო მეცნიერებების
 ინსტიტუტი

205 ST

სარედაქციო კოლეგია:

მთავარი რედაქტორი ვ. ოკუჯავა
მთავარი რედაქტორის მოადგილე თ. ონიანი
სწავლული მდივანი გ. ბეკაია

ლ. გაბუნია, ს. ღურშიშიძე, მ. ზაალიშვილი, გ. თუმანიშვილი, ი. თუმაგანოვი,
გ. კანდელაკი, ნ. კეცხოველი, კ. ნადარეიშვილი, პ. ქომეთიანი, ბ. ყურაშვილი,
ნ. ძიძიშვილი, თ. ჭანიშვილი, შ. ჭანიშვილი, ნ. ჯავახიშვილი
პასუხისმგებელი მდივანი ს. ლაბაძე

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор В. М. Окуджава
Зам. главного редактора Т. Н. Ониани
Ученый секретарь Г. Л. Бекая

Л. К. Габуния, Н. А. Джавахишвили, Н. Н. Дзидзишвили, С. В. Дурмиშიძე,
М. М. Заალიшвили, Г. В. Кანდელაკი, Н. Н. Кეცხოველი, П. А. Комეთიანი,
Б. Е. Қурашвили, К. Ш. Надарейшвили, И. И. Тумаджанов, Г. Д. Туманишвили,
Т. Г. Чанишвили, Ш. Ф. Чанишвили
Ответственный секретарь С. Р. Лабалзе

EDITORIAL BOARD:

Editor-in-Chief V. M. Okujava
Associate Editor T. N. Oniani
Editorial Secretary G. L. Bekaya
Sh. F. Chanishvili, T. G. Chanishvili, N. A. Djavakhishvili, S. V. Durmisidze,
N. N. Dzidzishvili, L. K. Gabunia, G. V. Kandelaki, N. N. Ketskhoevi,
P. A. Kometiani, B. E. Kurashvili, K. Sh. Nadareishvili, I. I. Tumanjanov,
G. D. Tumanishvili, M. M. Zaalisvili
Executive Secretary S. R. Labadze

© Известия АН ГССР
Серия биологическая. 1977

Технический редактор Н. А. Онанова
Корректор Г. Н. Дугладзе

Сдано в набор 31.5.1977; Подписано к печати 22.7.1977; Формат
бумаги 70×108^{1/16}; Бумага № 1; Печатных л. 8,40; Уч.-издат. л. 7,73
УЭ 08684 Тираж 1000 Заказ 2385

Цена 70 коп.

გამომცემლობა „მეცნიერება“, თბილისი, 380060, კუტუზოვის ქ., 19
Издательство «Мецниереба», Тбилиси, 380060, ул. Кутузова, 19

საქ. სსრ მეცნ. აკადემიის სტამბა, თბილისი 380060, კუტუზოვის ქ., 19
Типография «Мецниереба», Тбилиси, 380060, ул. Кутузова, 19

СОДЕРЖАНИЕ — შიხაარსი — CONTENTS

Б. М. Корсантия, В. И. Бахуташвили. Теория и практика интерферона ბ. კორსანტია, ვ. ბახუტაშვილი. ინტერფერონის თეორია და პრაქტიკა	293
B. M. Korsantiya, V. I. Bakhutashvili. Theory and practical use of interferon	
А. И. Чичуа. Кондуктометрическое исследование комплексообразования глицозидов с ионами кальция ა. ჩიჩუა. კალციუმის იონებთან განგლიოზიდების კომპლექსწარმოქმნის კონდუქტომეტრული გამოკვლევა	310
A. I. Chichua. Conductometric study of complex-formation of glicozides with calcium ions	
Л. Д. Квариани. Содержание свободных аминокислот в некоторых сортах кукурузы на разных фазах развития ლ. ქვარიანი. თავისუფალ ამინომჟავათა შემცველობა ზოგიერთი ჯიშის სიმინდში განვითარების სხვადასხვა ფაზაში	316
L. D. Kvariani. Content of free amino acids in some sorts of maize in different phases of development	
Ц. Г. Церетели. Влияние отдельной и совместной предпосевной обработки семян рентгеновскими лучами и молибденом на содержание различных форм азота и белка в фасоли ც. წერეთელი. რენტგენის სხივებით და მოლიბდენით თესვებზე ზემოქმედების გავლენა ლობიოში აზოტის სხვადასხვა ფორმის და ცილის შემცველობაზე	320
Ts. G. Tsereteli. Effect of X-rays and molybdenum on the content of different forms of nitrogen and protein in the seeds of haricot bean	
Т. А. Ломинадзе. К изучению онтогенетического развития перегородочной линии кадоцератин თ. ლომინაძე. კადოცერატინების ტიხრის ხაზის ონტოგენეზურა განვითარების შესწავლისათვის	326
T. A. Lomnadze. Study on the ontogenetic development of a line of <i>Cadocerratinae</i>	
В. Н. Голубев. Некоторые методические вопросы сравнительно-географического изучения эколого-биологических особенностей растительности ვ. გოლუბევი. ზოგიერთი მეთოდური საკითხი მცენარეულობის ეკოლოგობიოლოგიური თავისებურებების შედარებით-გეოგრაფიული შესწავლის შესახებ	332
V. N. Golubev. Some methodical problems of comparative-geographic study of ecologo-biological peculiarities of vegetation	
Л. М. Надирадзе, Л. Л. Дзოценидзе, М. В. Бибинейшвили. Взаимодействие сальмонелл с культурами клеток ლ. ნადირაძე, ლ. ძოწენიძე, მ. ბიბინეიშვილი. სალმონელების ურთიერთმოქმედება უჯრედის კულტურასთან	337
L. M. Nadiradze, L. L. Dzotseniadze, M. V. Bibineishvili. Interaction of salmonella with tissue cultures	
И. И. Тимошук, Э. Я. Нациашвили, Э. Ч. Тевдорадзе, О. В. Мгалоблишвили, Т. Н. Джапаридзе, Ц. Я. Гугушвили. Состав и концентрация свободных аминокислот в сыворотке крови и в некоторых тканях при трансплантации ი. ტიმოშჩუკი, ე. ნაციაშვილი, ე. თევდორაძე, ო. მგალობლიშვილი, თ. ჯაფარიძე, ც. გუგუშვილი. თავისუფალი ამინომჟავების შემადგენლობა და კონცენტრაცია სისხლის შრატში და ზოგიერთ ქსოვილში სხვადასხვა სახის ქსოვილის ტრანსპლანტაციის დროს	343
I. I. Timoshchuk, A. J. Natsiashvili, E. Ch. Tevdoradze, O. V. Mgaloblishvili, T. N. Dgaparidze, Ts. J. Gugushvili. Composition and concentration of free amino acids in blood serum and in some tissues during transplantation	

- C. A. Riggava, D. P. Kaulen, E. B. Misyakin, T. A. Golovanova. Изучение динамики высвобождения гуморального фактора активированными лимфоцитами 352
- ს. რიგვავა, დ. კაულენი, ე. მისიაკინი, ტ. გოლოვანოვა. აქტივირებული ლიმფოციტების მიერ ჰუმორული ფაქტორის გამოყოფის დინამიკის შესწავლა
- S. A. Riggava, D. R. Kaulen, E. B. Misyakin, T. A. Golovanova. Study of the release of the lymphocyte activated humoral factor
- M. G. Meladze, I. I. Ivanov. Влияние α -токоферола на окисление фосфолипидов, промотированное синглетным кислородом 358
- მ. მელაძე, ი. ივანოვი. α -ტოკოფეროლის გავლენა სინგლეტური ქანგბადით პრომოტირებულ ფოსფოლიპიდების ქანგვაზე
- M. G. Meladze, I. I. Ivanov. Effect of α -tocopherol on the phospholipid oxidation promoted by 1O_2
- M. S. Khurtsilava, E. V. But, M. M. Zaalishvili. О видовой специфичности некоторых белков кролика и рыбы и ЭГТА чувствительность миозина В рыбы 369
- მ. ხურცილავა, ე. ბუტი, მ. ზაალიშვილი. თევზისა და შინაური კურღლის ზოგიერთი ცილის სახეობრივი სპეციფიკურობა და თევზის მიოზინ B-ს მბზტ მგრძნობიარობა
- M. S. Khurtsilava, E. V. But, M. M. Zaalishvili. Typical specificity of some fish and rabbit proteins and EGTA sensitivity of fish myosin B

Краткие сообщения

შოკლე წერილები

Short Communications

- K. S. Akhvlediani, K. V. Khelashvili. Идентификация P- и N-содержащего вещества с $R_f=0,25$ 367
- ქ. ახვლედიანი, კ. ხელაშვილი. 0,25-ის მქონე აცეტილქოლინის მსგავსი ნივთიერების P- და N-შემცველი ნაშთის იდენტიფიკაცია
- K. S. Akhvlediani, K. V. Khelashvili. Identification of P- and N-containing residue of ACh-like substance with $R_f=0,25$
- T. V. Burjanadze. Влияние гидроксирования пролина на термостабильность коллагена 371
- თ. ბურჯანაძე. პროლინის ჰიდროქსილირების ზეგავლენა კოლაგენის თერმოსტაბილურობაზე
- T. V. Burjanadze. Influence of proline hydroxylation upon the thermal stability of collagen
- T. K. Darchia, M. A. Tsartsidze, B. A. Lomsadze. Изучение влияния одно- и двухвалентных катионов и температуры на ферментативную активность лизосомальных мембран 376
- თ. დარჩია, მ. ცარციძე, ბ. ლომსაძე. ერთი- და ორვალენტური კატიონებისა და ტემპერატურის გავლენის შესწავლა ლიზოსომური მემბრანის ფერმენტულ აქტივობაზე
- T. C. Darchia, M. A. Tsartsidze, B. A. Lomsadze. The effect of temperature and mono- and divalent cations on the enzymatic activity of lysosomal membrane
- Sh. S. Machavariani, V. V. Meunargia, T. S. Soselia, Z. S. Kheladze, T. G. Natsvlishvili. О наследственном транзитном T-клеточном дефиците у взрослого человека 381
- შ. შაჩავარიანი, ვ. მეუნარგია, თ. სოსელია, ზ. ხელაძე, თ. ნაცვლიშვილი. იმუნიტეტის T-სისტემის მემკვიდრული ტრანზიტორული დეფიციტის შესახებ მოზრდილ ადამიანში
- Sh. S. Machavariani, V. V. Meunargia, T. S. Soselia, Z. S. Kheladze, T. G. Natsvlishvili. Concerning hereditary transient deficiency of the T-system in adult men

УДК 095.383—078

ВИРУСОЛОГИЯ

ТЕОРИЯ И ПРАКТИКА ИНТЕРФЕРОНА

Б. М. Корсантия, В. И. Бахуташвили

Тбилисский государственный медицинский институт

Поступила в редакцию 25.2.1977

В обзоре представлены литературные и собственные данные об открытии противовирусного белка интерферона, его физико-химических свойствах, проявлении биологической активности. Дается анализ сведений о механизмах образования и действия интерферона. Показана роль интерферона в неспецифической резистентности организма при вирусных инфекциях человека и животных, оцениваются перспективы практического использования интерферона в клинике.

Открытие интерферона явилось следствием многолетнего изучения межвидовой и внутривидовой интерференции различных вирусов. Еще в начале прошлого века было отмечено, что наличие в организме одного возбудителя (вируса) может препятствовать размножению другого. Так, Дженнер в 1804 году наблюдал, что оспенная вакцина не прививалась у людей, больных герпесом. Спустя много лет Мак-Кинней [194], работая с вирусами растений, установил, что вирус желтой мозаики табака не размножается в растениях, предварительно зараженных вирусом обычной мозаики. С аналогичным явлением встретились исследователи, изучавшие вирусы животных.

Так, в 1935 году Хоскинс [162] сообщил, что обезьяны, инфицированные нейротропным штаммом вируса желтой лихорадки, не заболевают при последующем введении смертельных доз пантропного штамма этого вируса. По аналогии с этим было отмечено, что обезьяны, зараженные вирусом лихорадки «долины Рифт», оказывались защищенными от смертельного воздействия вируса желтой лихорадки [125]. Описанное явление антагонизма вирусов, результатом которого является резистентность к суперинфекции, авторы предложили назвать интерференцией вирусов.

Этот феномен был объяснен в 1957 году Айзексом и Линденманом [169], которые обнаружили, что заражение хорионаллантоисных оболочек развивающихся куриных эмбрионов вирусом гриппа типа А, инактивированного прогреванием, приводит к образованию неизвестного ранее вещества, обладающего интерферирующими свойствами, которое они назвали «интерфероном».

Индукторы интерферона. Вслед за открытием Айзекса и Линденмана появилось много работ, посвященных интенсивному изучению интерференции между инактивированными и активными вирусами гриппа и разработке методов получения интерферона в тканевых культурах, зараженных различными возбудителями [185, 90, 139, 86].

Кроме вируса гриппа, образование интерферона, вызванное инактивированным вирусом, можно было доказать и при помощи других,

подвергнутых ультрафиолетовому облучению миксовирусов в клетках, изолированной аллантоиной мембраны куриных эмбрионов [91] и в тканевых культурах постоянной клеточной линии [153].

Лишь небольшое число остальных вирусов оказалось способным после инактивации вызывать образование интерферона. Это относится, в первую очередь, к вирусу осповакцины [138, 35, 5, 58] и вирусу болезни Ньюкасла [225].

Отрицательные результаты в получении интерферона отмечены многими авторами в отношении различных тканевых культур, находившихся во взаимодействии с инактивированными арбовирусами [152, 156, 245, 20]. Некоторые облученные арбовирусы (вирус западного энцефалита) теряют свою интерфероногенную активность в мышечных клетках [188], но индуцируют интерферон в куриных эмбриональных клетках [124, 26]. Барк [92] отметил, что необлученный вирус болезни Ньюкасла, обуславливающий острую респираторную инфекцию у цыплят, не вызывает продукции интерферона, поскольку инфекция в куриных клетках приводит к подавлению синтеза клеточной РНК и белка. Именно это свойство вируса инактивируется ультрафиолетовым облучением.

Первоначально среди исследователей было распространено мнение, что интерферон индуцируется только при взаимодействии инактивированного вируса с клетками тканевой культуры. Однако дальнейшие исследования показали, что интерферон образуется также и в процессе размножения активного вируса в чувствительных клетках [155, 104, 157, 196, 81].

Количество интерферона, образованного в различных системах, значительно колеблется, однако в тканевых культурах большие количества интерферона образуются тогда, когда заражение примененным видом вируса не вызывает быстрой деструкции клеток [155, 138, 195, 40, 67].

За последнее время появился ряд работ, указывающих на возможность образования интерферона в тканевых культурах под воздействием нуклеиновых кислот, выделенных из вирусов, а также РНК невирусного происхождения [217, 172, 80, 180, 119, 189].

Подобными свойствами обладали еленин, полученный из *Penicillium funiculosum* [180], статолон — из *P. stoloniferum* [174, 68, 253]. Другие двунитевые РНК были выделены из различных грибов [68, 69, 70], реовирусов, фагов и растительных вирусов. Эти кислоты, а также гомополимерные пары поли И: поли Ц, были более активными индукторами интерферона, чем одноститевые РНК вирусного, бактериального или другого происхождения [154, 95, 112, 65, 215, 56, 81]. Опыты показали, что двунитевая РНК содержится в клетках не только в процессе размножения ДНК-содержащего вируса вакцины [107], но и в нормальных клетках. Такие нуклеиновые кислоты были также способны индуцировать интерферон [116, 122]. Высокая интерфероногенная активность была обнаружена у бактериальных эндотоксинов [111, 117, 160]. Эндотоксин *E. coli* в дозе от 25 до 250 мкг уже через 2 часа после введения индуцировал образование противовирусного ингибитора в крови белых мышей [234, 117].

Приготовленные в лабораторных условиях синтетические вещества с известной структурой могут оказаться особенно удобными индукторами интерферона [7, 9, 163, 113]. В последние годы проведены исследования с кополимерами муравьиной кислоты для выявления структурных требований, необходимых для проявления их интерфероногенной активности [213, 200, 201]. После индукции интерферона синтетическими компонентами активность возникала через несколько часов. Ис-

пользование ингибиторов белкового синтеза полностью блокировало образование интерферона, также как это наблюдалось в случае индукции интерферона вирусами [203].

Условия образования интерферона. За последние годы был детально изучен процесс образования интерферона в первичных или перевиваемых тканевых культурах различного видового происхождения. В клетках или в питательной среде незараженных клеточных культур не было обнаружено даже следов интерферона. Интерферон не вырабатывался на введение таких веществ, как железо, крахмал, латекс, а также инактивированных формалином стафилококков [142]. С другой стороны, введение в культуры тканей различных возбудителей из группы миксовирусов, арбовирусов, энтеровирусов, оспы, опухолеродных вирусов, а также бактериальных препаратов и синтетических кополимеров приводит к индукции тех или иных количеств интерферона.

Как правило, вирусы средней и крупной величины вызывали наиболее интенсивное образование интерферона только после предшествующей инактивации [90, 153, 96, 66, 185]. Напротив, мелкие вирусы индуцировали выработку интерферона только в том случае, если клетки инфицировались живым вирусом [155, 244, 152, 156].

Вероятно, причина этих различий связана с молекулярными отличиями в структуре вирусных частиц. У некоторых вирусов воздействие, достаточное для биологической инактивации, не затрагивает тот участок нуклеиновой кислоты, который отвечает за индукцию интерферона, тогда как у других вирусов обе эти функции тесно связаны и потеря одной сопровождается утратой другой функции.


Поскольку в образовании интерферона принимают участие два компонента — вирусная частица и клетка, то большое значение для выработки интерферона имеет состояние метаболизма клетки [231]. Так, продукция интерферона резко снижается при инкубировании тканевой культуры при $+4^{\circ}\text{C}$ [185]. Л. С. Приймаги и Л. Л. Фадеева [37], культивируя куриные фибробласты во взвешенном состоянии (что является оптимальным условием для метаболизма клеток), получали более высокие титры интерферона, чем в однослойной культуре.

Противоречивы данные по накоплению интерферона в зависимости от использованной дозы вируса. Айзекс и Линденманн [169] установили прямую зависимость образования интерферона от количества инактивированного вируса гриппа, стимулировавшего его продукцию. Вильчек же [244] не обнаружил отличий в окончательном выходе интерферона в тканевых культурах куриных фибробластов, зараженных разными дозами вируса клещевого энцефалита. Однако большинство авторов отмечают существование прямой связи между дозой активного вируса-продуцента и количеством образующегося интерферона [137, 219, 249, 167, 16, 40, 45].

Возраст культуры ткани и животного, из которого получены клетки, существенно отражался на продукции интерферона и чувствительности клеток к его действию [5, 58, 25, 57, 167]. Так, титры интерферона, полученного в 24 и 144-часовой культуре клеток куриного эмбриона, были равны соответственно 1:16 и 1:128. В случае изучения активности одного и того же препарата интерферона в культурах указанных сроков инкубации титры были равны 1:24 и 1:64.

Существенное влияние на формирование интерферона оказывало число клеток, взятых для заражения. Снижение или значительное увеличение посевной дозы клеток вызывало пропорциональное уменьшение выхода интерферона [5, 40, 26, 100].

Различные факторы окружающей среды, такие как рН и температура культивирования, оказывают несомненное влияние на количество



образующегося интерферона, причем увеличения его можно достигнуть применяя, в определенных пределах, более кислую среду и более высокую температуру культивирования зараженных тканей [5, 40, 26, 240].

Физические и химические свойства интерферона. Химический анализ очищенного интерферона показал его белковую природу. Молекула этого белка имеет сравнительно низкий молекулярный вес (24000—80000). Изоэлектрическая точка интерферонов, индуцированных РНК- или ДНК-содержащими вирусами, оказалась весьма близкой и располагалась вблизи рН—6,9 и 7,1 [179, 94, 198, 199].

Активность интерферона не поддается нейтрализации противовирусными антителами и не повреждается нейраминидазой. В противоположность антителам интерферон не вступает в прямую связь с вирусами. Интерферон, полученный на тканях различного видового происхождения, не осаждается после 4-часового ультрацентрифугирования при 100000 g, выдерживает длительное воздействие кислой среды (рН 2,0 при 4°C), не диализирует через целлофан, высоко чувствителен к действию трипсина и различных протеолитических ферментов, нечувствителен к действию различных нуклеаз, пептидазы, амилазы [249, 177].

Указанные свойства интерферона (стабильность при рН—2,0, неосаждаемость при ультрацентрифугировании, относительная термоустойчивость) используются при получении препаратов интерферона, в основном, для инактивации вирус-индукторов в пробах культуральной жидкости, сыворотке крови, суспензиях органов.

Наиболее характерным и важным свойством любого интерферона, полученного в культурах тканей, в куриных эмбрионах или в организме различных животных, оказалась его строгая видовая специфичность. Интерферон способен проявить защитное действие лишь в отношении тканей того же видового происхождения [73]. Сопоставление защитного действия высокоочищенных препаратов интерферона различного происхождения (куриного, мышинного, крысиного, кроличьего и человеческого) на гомологичных и гетерологичных культурах ткани показало их высокую активность только для тканей того же вида животных [179, 199, 83, 84, 227]. В то же время интерферон не препятствовал размножению вирусов на клетках гетерологичного вида [260, 149]. Следовательно, единственной возможностью получения интерферона, активного против вирусных инфекций человека, является приготовление его на тканях человеческого происхождения.

Вторым важнейшим свойством интерферона оказался широкий спектр его противовирусного действия: интерферон, индуцированный каким-либо одним интерфероногеном (вирусного или невирусного происхождения), был активен в гомологичных клетках против целого ряда самых различных вирусов.

Формирование интерферона в различных клетках. У интактных животных наиболее активными продуцентами интерферона являются клетки ретикулоэндотелиальной системы, хотя высокие титры интерферона часто обнаруживались в клетках-мишенях, в которых происходила репродукция вируса [246]. Суспензии человеческих лейкоцитов и перитонеальных макрофагов, обработанные вирусами болезни Ньюкасла или Сендай, оказались хорошими продуцентами интерферона [229, 258, 182, 98, 54]. В таких суспензиях за продукцию интерферона, в основном, отвечали лимфоциты [97, 61], поскольку введение антилимфоцитарной сыворотки задерживало формирование интерферона [77]. Облучение мышей летальными дозами рентгеновских лучей на 90% снижало продукцию интерферона после введения мышам вируса болезни

Ньюкасла. Введение таким мышам здоровых костно-мозговых клеток восстанавливало способность животных формировать интерферон [113, 115].

Такие органы, как селезенка, печень, легкие и тимус являются важными источниками циркулирующего интерферона [38]. Первичные клеточные культуры, приготовленные из эмбриональных тканей почек, легких, лимфатических узлов, кожи, а также перевиваемые клетки, широко используются для изучения закономерностей индукции интерферона, проявления его биологической активности, свойств, репродукции вирусов.

Механизм образования и действия интерферона. Способность клеток продуцировать интерферон зависит от клеточных геномов [250, 85, 109]. Исходя из концепции Джекоба и Монода [164] о генетической регуляции синтеза белка в бактериальной клетке, было предположено, что депрессия цистрона интерферона в клеточной ДНК вызывает формирование интерферон-информационной РНК, которая затем передается в рибосомы, закодированные для продукции белков интерферона [210, 192, 34]. Формирование интерферона может быть ингибировано или подавлено актиномицином Д, взятого в дозе, предотвращающей синтез ДНК-зависимой РНК, ингибиторами синтеза РНК и белка, химическими канцерогенами, циклофосфамидом, рентгеновским облучением [114, 216, 246, 110, 252]. Эти работы указывают на то, что клетки имеют репрессор в структуральных генах, в которых закодирован синтез белка интерферона. Барк [92] показал, что в продукцию интерферона включаются дерепрессионные механизмы, которые стимулируются различными индукторами. Обработка клеток тканевых культур митомицином С, подавляющим биосинтез клеточной ДНК, или актиномицином Д, блокирующим синтез клеточной иРНК на матрице ДНК, полностью прекращала продукцию интерферона, но не препятствовала размножению РНК-содержащих вирусов [230, 247]. Введение актиномицина Д после формирования иРНК не влияло на продукцию интерферона. Ингибирующее действие пуромицина и парафлюорофенилаланина проявлялось лишь в период синтеза иРНК [87, 88, 191]. Таким образом, стало очевидным, что синтез интерферона контролируется клеточной ДНК, а не вирусом, который после адсорбции и внедрения в клетку служит стимулятором, пусковым моментом для образования специального защитного белка [183, 236, 237, 159, 78, 248, 148].

Использование специфических антиметаболитов позволило оценить также влияние синтеза ДНК на образование интерферона [238, 131, 214]. Небольшие дозы аминоптерина и 5-под-2-дезоксимуридина подавляют синтез ДНК без какого-либо влияния на образование интерферона в клетках куриных фибробластов. Увеличение дозировок оказывало неблагоприятное действие на синтез РНК и сразу же подавляло образование интерферона. Следовательно, процесс формирования интерферона определяется наличием неповрежденного синтеза клеточной РНК и не нуждается в синтезе клеточной ДНК [92, 93, 121, 221, 52].

Антивирусное действие интерферона определяется по его способности создавать резистентность клеток к вирусной инфекции, в отличие от многих других вирусных ингибиторов, действующих непосредственно на вирион. Отсутствие стандартных методик и материалов, различные биологические свойства клеток, часто создают препятствия к сопоставлению результатов исследований, проведенных в разных лабораториях. Существенное влияние на показатели активности интерферона оказывают условия культивирования клеток, их чувствительность к препарату, а также чувствительность индикаторного вируса к действию интерферона.

Во всех методиках титрования интерферона клеточные культуры обрабатываются различными разведениями интерферона или контрольного материала, а затем заражаются индикаторным вирусом [246, 75, 134, 63, 166, 24, 233]. Учет результатов титрования основан на: а) ингибции цитопатогенного эффекта вируса; б) редукции количества или размеров вирусных бляшек; в) снижении инфекционной или гемагглютинационной активности вируса [165]; г) уменьшении количественной гемадсорбции [126]; д) изменении клеточного обмена, учитываемого по изменению рН среды [128]; е) ингибции синтеза РНК [62, 193, 243]; ж) задержке нейрамнидазной активности вируса [228]; з) снижении аккумуляции РНК вируса [243]; и) уменьшении прижизненной окраски клеток [211]. Активность интерферона оценивается как обратная величина наибольшего разведения пробы, которое по сравнению с контролем на 50% снижает репродукцию или действие вируса.

При вирусных инфекциях интерферон действует внутриклеточно, задерживая синтез вируса. Интерферон не препятствует адсорбции и проникновению вируса в клетку, а также освобождению вирусной нуклеиновой кислоты [79, 168, 140, 64]. Он проявляет антивирусное действие в результате активного включения в обменные процессы обработанных интерфероном клеток [208, 23]. Тейлор [239] обнаружил, что актиномицин Д, который блокирует ДНК-зависимый синтез РНК, полностью прекращает действие интерферона. Аналогичные результаты были получены при использовании других ингибиторов белкового обмена — флюорофенилаланина и пурамицина [133, 188, 134, 251]. Эти данные свидетельствуют о дерепрессии интерфероном клеточного гена, что индуцирует формирование новой иРНК и последующий синтез специфического антивирусного белка [250, 134, 146, 259]. Таким образом, противовирусное действие интерферона проявляется посредством синтеза другого белка [82, 184]. Исследования Ф. И. Ершова и Э. Б. Тазулаховой [17] указывают на обязательность клеточной фазы для проявления ингибиторного эффекта интерферона. Эти данные свидетельствуют о необходимости клеточного генома для синтеза антивирусного белка. Этот полипептид действует на уровне клеточных рибосом путем интерференции с синтезом закодированного вириона, функциональных энзимов и структурных белковых вирусных оболочек, необходимых для репликации вируса [132, 110, 223, 135]. Противовирусный белок образует комплекс с рибосомами, которые продолжают формировать клеточный белок, не синтезируя при этом вирусный белок, так как вирусная иРНК не может связаться с измененными рибосомами [205, 184, 103, 212]. Возможность образования специфического противовирусного белка основывается на косвенных доказательствах, так как тщательно выполненные исследования по дифференциальной метке рибосомальных белков, электрофорезу на полиакриламидном геле не выявили вновь синтезируемый белок. С помощью различных клеточных ингибиторов было показано, что противовирусное действие интерферона проявляется в отсутствии какой-либо потери его активности после контакта с клетками [157, 89, 131, 108]. Количество интерферона, связавшегося с клеткой, так ничтожно, что определить потерю в циркулирующем вокруг клеток интерфероне не удавалось [134]. Для выяснения судьбы интерферона необходимо проводить исследования с радиоактивно мечеными высокоочищенными препаратами интерферона, которые недавно были получены из кроличьих и мышинных клеток.

В последнее время имеется все больше данных о вовлечении клеточных механизмов в проявление антивирусного действия интерферо-

на. Были использованы различные вещества, которые ингибируют действие интерферона на эмбриональных тканях [130, 145], опухолевых клетках [241, 106], а также на инфицированных вирусами клетках [12, 105, 173]. Эти препараты позволяют объяснить природу ответа определенных клеток и тканей, а также их рефрактерность на действие интерферона [218].

Образование интерферона у животных. Барон и Баклер [72] отметили, что внутривенное введение мышам больших количеств вируса болезни Ньюкасла или других вирусов приводило к накоплению в сыворотке значительных концентраций интерферона. Аналогичные результаты были получены на обезьянах, крысах, цыплятах, хомячках [74]. Многие исследователи отмечали появление сравнительно больших количеств интерферона в печени и, особенно, в селезенке [175, 235, 53], а в тканевых культурах, приготовленных из этих органов, можно было выделить интерферон. Это говорит о ведущей роли органов ретикуло-эндотелиальной системы в процессе формирования интерферона, так как блокирование этой системы торотрастом резко уменьшало выход интерферона [175, 158, 39, 151]. Макрофаги, полученные из брюшной полости мышей или кроликов, также как лейкоциты, оказались хорошими продуцентами интерферона *in vitro* [141, 257, 178, 229, 197, 38, 39].

Сравнительно высокие концентрации интерферона были обнаружены в мозгу мышей и хомячков, зараженных интрацеребрально вирусом Синдбис, энцефалита, герпеса [150, 127, 128, 232, 71], в коже кроликов и морских свинок после скарификации вирусом вакцины [132, 206, 1, 6], а также в ответ на введение вируса простого герпеса [129], в легких мышей на 2—5-е сутки после заражения вирусами гриппа, Сендай, парагриппозными и другими вирусами [171, 186, 222, 187, 42, 43].

Оказалось, что процесс образования интерферона находится в зависимости от возраста зараженных животных [209]. Хорионаллантоисные мембраны куриных эмбрионов 11-дневного возраста продуцировали в 20 раз больше интерферона, чем мембрана 6-дневного эмбриона [170]. Сходные результаты были получены при заражении мышей разного возраста вирусом Коксаки [150].

Данные об интенсивности образования интерферона в организме животных при встречающихся естественно или вызванных экспериментально вирусных инфекциях открыли принципиально новый подход к объяснению природы приобретенной неспецифической резистентности.

Введение в организм животных интерферогенных вирусов индуцирует образование гораздо больших количеств интерферона, чем его можно ввести экзогенно в виде готового препарата. При этом удается создать состояние временной неспецифической резистентности широкого спектра по отношению к различным гомологичным и гетерологичным вирусам [226, 59, 14, 11].

Введение мышам в вену массивной дозы вируса болезни Ньюкасла за 24 часа до их внутримозгового заражения смертельной дозой вируса ЕМС приводило к индукции интерферона и защищало 65% животных. Если же индуктор давали через 24 часа после введения вируса, мыши погибали, а защитный эффект проявлялся только в удлинении продолжительности жизни [73, 74].

Индукция у белых мышей образования интерферона этим же вирусом сопровождалась выраженной защитой от смертельной инфекции, вызванной вирусом Ауэски. Если на 12-й день опыта погибли все контрольные животные, то при индукции интерферона за 4 и 12 часов до заражения удалось защитить соответственно 12—47% животных [55].

В клинических условиях удавалось обнаружить появление интерферона в кровяном русле больных острой лейкемией, получавших с лечебной целью различные апатогенные вирусы [255, 190, 101, 60].

Начиная с 1965 года, делаются первые попытки установить какие-либо закономерности между видом вируса и временем формирования интерферона на модели инфекции, вызванной у людей живыми вакцинами против кори, желтой лихорадки, гриппа, полиомиелита и др.

Вакцинация детей живой коревой вакциной сопровождалась образованием интерферона с активностью 16—128 ед/мл в сыворотке между 7-м и 14-м днем после вакцинации [120]. Другие исследователи показали возможность обнаружения интерферона в сыворотке детей, которым привили другой штамм живой коревой вакцины, начиная с 1—3-го дня после прививок [51, 15].

В работах А. А. Смородинцева и сотр. [44] в качестве индукторов интерферона были использованы стандартные живые гриппозные вакцины типов А0, А1, А2 и В, показавших высокую интерферогенную активность. Инактивирование вирусов гриппа типов А2 и В ультрафиолетовым облучением или прогреванием также позволяло использовать их для индукции интерферона [46, 47, 49].

Стимуляция эндогенного интерферона возможна введением арбовирусной вакцины [2, 10, 22, 32, 19], живой полиомиелитной вакцины [36, 38, 44], вируса болезни Ньюкасла [59], полианионных препаратов [201, 202].

В опытах на добровольцах определялось влияние некоторых интерферогенов на приживляемость реактогенных вакцинных штаммов вируса гриппа [46]. Приживляемость индикаторного вируса гриппа была в 3 раза ниже, чем в контроле. Аналогичные результаты были получены А. А. Смородинцевым и сотр. [41], использовавших с интервалом в 7 дней гриппозные дивакцины. Последовательное введение разных индукторов интерферона позволяло авторам поддерживать в крови добровольцев достаточно высокое содержание интерферона.

Имеются сообщения об использовании метода индукции эндогенного интерферона для лечения вирусных заболеваний. Интерфероген ИВС успешно применяется для лечения кожных и глазных болезней [10], при пузырьковом и опоясывающем лишаях [2], при герпетическом кератите [22, 24], аденовирусных поражениях глаз [23, 32], трахоме [3].

Эти исследования открывают возможность предупреждения вспышек гриппа и других респираторных вирусных заболеваний с помощью стимуляции стандартными живыми вакцинами образования эндогенного интерферона. Группе из 238 человек с интервалом в 2—3 дня вводили инактивированную гриппозную вакцину, в результате чего была получена 4-кратная эффективность в отношении гриппозных заболеваний [4]. Сходные мероприятия по профилактике гриппа были проведены с использованием живой полиомиелитной вакцины II типа и живой коревой вакцины [38]. В массовом опыте на контингенте в 16508 детей было отмечено статистически достоверное снижение заболеваемости в 1,2—1,5 раза, а в некоторых случаях индекс эффективности достигал 3,1 [42, 44].

В последнее время все большее внимание привлекают бактериальные вакцины в качестве индукторов интерферона и их использование для профилактики респираторных инфекций [118, 136, 220, 176].

Индукция интерферона у беременных женщин стафилококковым анатоксином и у кормящих матерей живой пероральной гриппозной дивакциной А2+В сопровождалась передачей материнского интерферона

детям, что вызывало существенную защиту последних от гриппозной инфекции [29].

В последнее время для профилактики и лечения гриппа успешно используется готовый экзогенный препарат интерферона, приготовленный в культуре человеческих лейкоцитов [18, 48, 54, 99] или костномозговых клеток [31, 50].

Таким образом, анализ представленных данных, а также исследований других авторов [13, 18, 21, 33], показывают перспективность профилактики респираторных инфекций с помощью экзогенного интерферона и индукции эндогенного интерферона, обладающего широким спектром противовирусной активности. Этот метод должен занять ведущее место в борьбе с респираторными вирусными инфекциями, характеризующимися исключительным многообразием возбудителей, их большой изменчивостью и очевидной невозможностью, в связи с этим, решить проблему их эффективной профилактики с помощью специфических вакцин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аксенов О. А., Головин Б. П., Руденко В. И., Смородинцев А. А. В кн.: Актуальные вопросы противовирусной иммунологии при гриппе. Л., 1967, 31—32.
2. Ашмарин Ю. Я., Вильнер Л. М., Зейтленок Н. А. В кн.: Интерферон и интерфероногены, М., 1967, 75—80.
3. Бабушкин В. С. В кн.: Интерферон и интерфероногены, М., 1967, 102—108.
4. Балезина Т. И., Борисов Ю. В., Ермольева З. В. Вопр. вирусологии, 2, 235—240, 1966.
5. Бектемиров Т. А., Гуменник М. П. Вопр. вирусологии, 6, 689—693, 1965.
6. Бектемиров Т. А., Парушина А. Е. Вопр. вирусологии, 4, 466—470, 1971.
7. Бектемиров Т. А., Бектемирова М. С. Вопр. вирусологии, 2, 131—134, 1973.
8. Бектемиров Т. А., Бургасов М. П., Анджапаридзе О. Г. Вопр. вирусологии, 5, 536—539, 1976.
9. Бостанджян М. Г., Фадеева Л. Л. Успехи совр. биологии, 46, 415—420, 1973.
10. Вильнер Л. М., Зейтленок Н. А., Чумаков М. П. В кн.: Интерферон и интерфероногены, М., 1967, 37—43.
11. Вильнер Л. М., Финогенова Е. В., Тихомирова Н. С., Родин И. М. Вопр. вирусологии, 3, 273—276, 1976.
12. Гендон Ю. З. Акта виролика, 9, 186—191, 1965.
13. Городнев А. Г., Осидак Л. В., Блюштейн Т. П. В кн.: Эпидемиология, иммунология и профилактика респираторных вирусных заболеваний, Л., 1971, 171—176.
14. Гродницкая Н. А., Дрейзин Р. С., Эткин Г. В., Бектемиров Т. А. Вопр. вирусологии, 3, 305—309, 1975.
15. Демидова С. А., Смирнова А. А. В кн.: Ингибиторы вирусной активности, Рига, 1967, 102—106.
16. Ершов Ф. И., Жданов В. М. В кн.: Вирус и клетка, Рига, 1966, 103—108.
17. Ершов Ф. И., Тазулахова Э. Б. Вопр. вирусологии, 2, 273—276, 1976.
18. Ермольева З. В., Блинова М. И., Фурер Н. М. Вопр. вирусологии, 4, 442—446, 1971.
19. Зейтленок Н. А., Вильнер Л. М., Кропачев В. А. В кн.: Актуальные проблемы вирусных заболеваний инфекции, М., 1968, 22—27.

20. Иванова Н. А. В кн.: Вирус и клетка, Рига, 1966, 31—36.
21. Карапац Н. М., Швецова Е. Г., Шапошникова Р. П. В кн.: Эпидемиология, иммунология и профилактика респираторных вирусных заболеваний, Л., 1971, 123—129.
22. Каспаров А. А., Вильнер Л. М., Зейтленок Н. А. В кн.: Интерферон и интерфероногены, М., 1967, 75—79.
23. Каспаров А. А., Куничева Г. С., Куликова Л. А. В кн.: Интерферон и интерфероногены, М., 1967, 85—91.
24. Каспаров А. А., Зейтленок Н. А., Вильнер Л. М. В кн.: Физиология вирусов, интерфероны и интерферонсены, М., 1971, 50—57.
25. Корсантия Б. М., Смородинцев А. А., Гвоздилова Д. А. Цитология, **10**, 1304—1308, 1967.
26. Корсантия Б. М., Смородинцев А. А. Румынский ж. инфрамикробиологии, **5**, 169—173, 1968.
27. Корсантия Б. М., Бахуташвили В. И. Вопр. вирусологии, **4**, 479—484, 1973.
28. Корсантия Б. М., Бахуташвили В. И., Смородинцев В. И. Акта вирусологии, **18**, 217—221, 1974.
29. Корсантия Б. М., Паписов М. С., Бахуташвили В. И., Харабадзе М. В., Эристави З. В. Изв. АН ГССР, сер. биол., **1**, 71—77, 1975.
30. Корсантия Б. М. Автореф. докт. дисс., 1975, 16—18.
31. Львовский Э. А., Киселев П. Н., Тендлер Е. В. Вопр. онкологии, **20**, 84—85, 1974.
32. Майчук Ю. Ф., Вильнер Л. М., Зейтленок Н. А. В кн.: Интерферон и интерфероногены, М., 1967, 77—81.
33. Макарьев Г. С., Габер В. К., Городнев А. Г. В кн.: Иммунология и профилактика гриппа и вирусных ОРЗ, Л., 1971, 128—133.
34. Орлова Т. Г., Георгадзе И. И., Когновицкая А. И., Карманов П. А. Вопр. вирусологии, **4**, 412—416, 1975.
35. Петерсон О. П., Ли Юй. Вопр. вирусологии, **2**, 159—163, 1963.
36. Приймаги Л. С., Гриншбун Л. Е., Олейник И. П. В кн.: Проблемы общей вирусологии, М., 1966, 236—240.
37. Приймаги Л. С., Фадеева Л. Л. В кн.: Вирус и клетка, Рига, 1966, 23—27.
- [38. Руденко В. И., Мошкин С. А., Пигаревский В. Е., Смородинцев А. А. В кн.: Проблемы патогенеза и иммунологии респираторных вирусных инфекций, Л., 1969, 171—174.
39. Руденко В. И., Смородинцев А. А., Мошкин С. А. В кн.: Интерферон, Л., 1970, 122—133.
40. Смородинцев А. А., Гвоздилова Д. А., Корсантия Б. М. В кн.: Новое в диагностике и лечении вирусных заболеваний, Л., 1967, 217—219.
41. Смородинцев А. А., Гвоздилова Д. А., Аксенов О. А., Корсантия Б. М. Материалы XV съезда эпидемиологов, микробиологов и инфекционистов, М., 1970, 93—94.
42. Смородинцев А. А., Аксенов О. А., Гвоздилова Д. А., Руденко В. И. В кн.: Проблемы патогенеза и иммунологии респираторных вирусных инфекций, Л., 1969, 164—168.
43. Смородинцев А. А., Гвоздилова Д. А. В кн.: Интерферон, Л., 1970, 93—101.
44. Смородинцев А. А., Гвоздилова Д. А., Руденко В. И., Макарьев Г. С. В кн.: Интерферон, Л., 1970, 186—204.
45. Соловьев В. Д., Бектемиров Т. А. В сб.: Проблемы общей вирусологии, М., 1966, 224—226.
46. Соловьев В. Д., Бектемиров Т. А., Порубель Л. А. В кн.: Интерферон и интерфероногены, М., 1967, 55—57.

47. Соловьев В. Д., Бектемиров Т. А., Неклюдова Л. И. *Вопр. вирусологии*, **2**, 146—149, 1968.
48. Соловьев В. Д., Бектемиров Т. А. *Ингерферон в теории и практике медицины*, М., 1970, 147—149.
49. Соловьев В. Д., Неклюдова Л. И., Бектемиров Т. А. *Вопр. вирусологии*, **5**, 548—551, 1971.
50. Соловьев В. Д., Орлова Т. Г., Менткевич Л. М. *Вопр. вирусологии*, **2**, 173—176, 1976.
51. Трубина Л. М., Яковенко З. Ф., Иткис С. Н. *Акта вирусологии*, **16**, 446—451, 1972.
52. Тюрин Г. П. *Вопр. вирусологии*, **2**, 216—220, 1976.
53. Федорова Ю. Б., Неклюдова Л. И. *Вопр. вирусологии*, **4**, 416—418, 1975.
54. Фомина А. Н., Шубладзе А. К. *Вопр. вирусологии*, **3**, 302—305, 1975.
55. Фурер Н. М., Преображенская Э. А. *Педиатрия*, **12**, 109—113, 1967.
56. Хайтович А. Г., Львовский Э. А. *Вопр. вирусологии*, **2**, 183—186, 1975.
57. Хенслова Е., Либикова Н. *Акта вирусологии*, **10**, 475—480, 1966.
58. Чумаков М. П., Зейтленок Н. А., Вильнер Л. М. *В сб.: Актуальные проблемы вирусных инфекций*, М., 1965, 380—382.
59. Чумаков М. П., Ворошилова М. К., Бойко В. М. *Материалы XV съезда эпидемиологов, микробиологов и инфекционистов*, М., 1970, 312—313.
60. Ahstrom L., Rohiwitz A., Strander H. *Lancet*, **I**, 166—167, 1974.
61. Alarcon-Segovia D., Ruiz-Gomez J., Fishlein E. *Arthritis Reum.*, **17**, 590—592, 1974.
62. Allen P. Jiron D. *Appl. Microbiol.*, **20**, 317—322, 1970.
63. Armstrong G., Freeburg L. *Proc. Soc. Biol. Med.*, **137**, 13—18, 1971.
64. Asculai S., Kuchler R., Kupferberg A. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **145**, 889—893, 1974.
65. Bachner L., De Clercq E., Thang M. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **63**, 467—483, 1975.
66. Bader J. *Virology*, **16**, 436—443, 1962.
67. Balanian R. *Progr. Med. Virol.*, **19**, 40—83, 1975.
68. Banks G., Buck K., Chain E. *Nature*, **218**, 542—545, 1968.
69. Banks G., Chain E. *Nature*, **223**, 155—158, 1969.
70. Banks W., Buck K., Chain E. *Nature*, **227**, 505—507, 1970.
71. Bardos V., Sefcovicova L. *Acta Virol.*, **10**, 80—87, 1966.
72. Baron S., Buckler C. *Science*, **151**, 1061—1063, 1963.
73. Baron S., DuBuy H., Buckler C., Johnson M. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **117**, 338—341, 1964.
74. Baron S., Buckler C., Friedman R., McCloskey R. J. *Immunol.*, **96**, 17—24, 1966.
75. Baron S. *Fundamental Techniques in Virology*. New York, Acad. Press, 1969, 399—340.
76. Barski G., Joun J. *J. Natl. Cancer. Inst.*, **47**, 575—583, 1971.
77. Barth R., Friedman R., Malmgren R. *Lancet*, **2**, 723—724, 1969.
78. Bean K., Simpson R. *Virology*, **53**, 645—651, 1973.
79. Bialy H., Colby C. J. *Virol.*, **9**, 286—289, 1972.
80. Billiau A., Van den Berghe H., DeSommer P. *J. Gen. Virol.*, **14**, 25—31, 1972.
81. Birg E., Meyer G. *J. Gen. Virol.*, **25**, 201—204, 1975.
82. Bodo W., Scheirer W., Suh M. *Virology*, **50**, 140—147, 1972.
83. Boretsky L., Fuchsberger N., Hajnicka V. *Intervirol.*, **3**, 359—377, 1974.
84. Bourgade M. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **146**, 820—824, 1974.
85. Brandner G., Boehlandt D., Burger J. *Arch. Ges. Virusforsch.*, **34**, 323—331, 1971.

86. Braun W., Levy H. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **141**, 769—773, 1972.
87. Buchan A., Burke D. IEG 6, **52**, 7—8, 1965.
88. Buchan A., Burke D. IEG 6, **20**, 8—9, 1964.
89. Buckler C., Baron S., Levy H. Science, **152**, 80—82, 1966.
90. Burke D., Isaacs A. Brit. J. Exp. Path., **39**, 46—84, 1958 a.
91. Burke D., Isaacs A. Brit. J. Exp. Path., **39**, 452—458, 1958 b.
92. Burke D. Biochem. J., **94**, P2—P3, 1965.
93. Burke D., Morrison J. Virology, **28**, 108—116, 1965.
94. Burke D., Ross J. Nature, **203**, 1297—1299, 1965.
95. Campbell J., Grunberger T. Can. J. Microbiol., **18**, 1614, 1617, 1972.
96. Cantell K. Arch. ges. Virus., **10**, 510—512, 1960.
97. Cantell K., Strander H., Saxen L. J. Immunol., **100**, 1304—1309 1968.
98. Cantell K., Pyhala L. J. Gen. Virol., **20**, 97—104, 1973.
99. Cantell K., Pyhala L., Strander H. J. Gen. Virol., **25**, 453—455, 1974.
100. Carter W. Johns Hopkins Med. J., **130**, 166—173, 1972.
101. Carter W. J. Surg. Oncol., **5**, 113—136, 1973.
102. Chang T., Weinstein L. J. A. M. A., **182**, 1040—1042, 1962.
103. Chang T., Simon E., Fleischmann W. J. Gen. Virol., **20**, 139—149, 1973.
104. Chany C. Virology, **13**, 485—492, 1961.
105. Chany C., Brailovsky C. Acad. Sci., **57**, 87—94, 1967.
106. Chany C., Zemaitre J. Perspectives in Virology. New York, Academic Press, **7**, 1971, 111—126.
107. Colby C., Duesberg P. Nature, **222**, 940—944, 1969.
108. Content J., Lebleu B., Zilberstein A. FEBS Lett., **41**, 125—130, 1974.
109. Crittenden L., Smith P., Welss R. Virology, **57**, 128—138, 1974.
110. De Clercq E., Merigan T. Ann. Rev. Med., **21**, 17—46, 1970.
111. De Clercq E., De Somer P. Infect. Immun., **8**, 669—673, 1973.
112. De Clercq E., De Somer P. J. Gen. Virol., **22**, 271—275, 1974.
113. De Clercq E. Top. Curr. Chem., **52**, 173—208, 1974.
114. De Maeyer E., De Maeyer-Guignard J. Ciba Found. Symp. on Interferon, Boston, 1968, 218.
115. De Maeyer E., De Maeyer J. J. Nat. Cancer. Inst., **32**, 1317—1322, 1964.
116. De Maeyer E., De Maeyer-Guignard J., Montagnies I. Nature, **229**, 109—110, 1971.
117. Degre M., Dahl H. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **137**, 233—236, 1971.
118. Degre M., Midtvedt T. Acta Path. Microbiol. Scand., **81**, 782—786, 1973.
119. Dennis A., Wilson H., Barker A. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **141**, 782—785, 1972.
120. Desmyter J., Rawis W., Melnick J. J. Immun., **99**, 771—777, 1967.
121. Dinzani F., Puglieze A., Baron S. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **145**, 428—433, 1974.
122. Doskocil J., Fuchsberger N., Vetrak J. Acta Virol., **15**, 523—532, 1971.
123. Douglas R., Betts R. Infect. Immun., **9**, 506—510, 1974.
124. Falcoff E., Fournier F., Chany C. Ann. Inst. Pasteur., **111**, 241—248, 1966.
125. Findlay G., Mc Callum F. J. Path. Bact., **44**, 405—424, 1937.
126. Finter N. Virology, **24**, 589—597, 1964.
127. Finter N. Brit. Med. J., **2**, 981—985, 1964.
128. Finter N. Nature, **206**, 597—599, 1965.
129. Force E., Steward R., Haff R. Virology, **25**, 322—325, 1965.
130. Fournier F., Rousset S., Chany C. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **132**, 943—950, 1969.
131. Fournier F., Chany C., Sarragne M. Nature, **235**, 47—48, 1972.

132. Friedman R., Baron S., Buckler C., Steinmuller R. *Med.*, **116**, 347—355, 1962.
133. Friedman R., Sonnabend J. *Nature*, **203**, 366—367, 1964.
134. Friedman R., Sonnabend J. *Arch. Intern. Med.*, **126**, 51—63, 1970.
135. Fuchsberger N., Hajnicka V., Boresky L. *Acta Virol.*, **19**, 59—66, 1975.
136. Galabov A., Galabov S. *Acta Virol.*, **17**, 493—500, 1973.
137. Gifford G. *Nature*, **200**, 91—92, 1963.
138. Glasgow L., Habel K. *J. Exp. Med.*, **115**, 503—512, 1962.
139. Glasgow L. *Fed. Proc.*, **30**, 1846—1851, 1971.
140. Gravell M., Cromeans T. *Virology*, **50**, 916—919, 1972.
141. Gresser I. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **108**, 799—803, 1961.
142. Gresser I. *IEG 6*, **19**, 3—4, 1964.
143. Gresser I., Dull H. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **115**, 192—195, 1964.
144. Gresser I., Coppey I., Falcoff E., Fontaine D. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **124**, 91—98, 1967.
145. Grosberg S., Morahan P. *Science*, **171**, 77—79, 1971.
146. Gupta S., Graziodei W., Weldell H. *Virology*, **57**, 49—63, 1974.
147. Haahr S. *Acta Path. Microbiol. Scand.*, **79**, 606—608, 1971.
148. Havell E., Vilcek I., Falcoff E. *Virology*, **63**, 475—483, 1975.
149. Halfenhaus J., Karges H., Weinmann E. *Infect. Immunol.*, **11**, 1156—1158, 1975.
150. Heineberg H., Gold E., Robbins F. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **115**, 947—955, 1964.
151. Hellmann W., Kohlhage H. *Nature*, **241**, 239—240, 1973.
152. Henderson J., Taylor R. *Virology*, **13**, 477—484, 1961.
153. Henle W., Henle L., Deinhardt F., Bergs V. *J. Exp. Med.*, **110**, 525—541, 1959.
154. Hilleman M. *Arch. Intern. Med.*, **126**, 109—124, 1970.
155. Ho M., Enders J. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **45**, 385—389, 1959.
156. Ho M., Breining M. *J. Immunol.*, **89**, 177—186, 1962.
157. Ho M. *New Engl. J. Med.*, **266**, 1258—1264, 1962.
158. Ho M., Postic B., Ke J. *Ciba Found Symp. on Interf. London*, Churchill Ltd., 1968, 19—35.
159. Ho M., Tan J., Armstrong Y. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **139**, 259—262, 1972.
160. Ho M., Nagata I., Kunii A. *Virology*, **52**, 439—446, 1973.
161. Holstein B., Kohan S., De la Pena N. *Acta Virol.*, **15**, 381—386, 1971.
162. Hoskins M. *Amer. J. Trop. Med.*, **15**, 675—680, 1935.
163. Hruskova J., Jary J., Danes L. *Acta Virol.*, **19**, 47—51, 1975.
164. Jacob F., Monod J. *Symp. Quant. Biol.*, **26**, 193—197, 1961.
165. Jameson P., Grossberg S., Dixon M. *ISM I-779/1*, 8—9, 1972.
166. Jordan G. *J. Gen. Virol.*, **14**, 49—61, 1972.
167. Jordan W., Merigan T. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **145**, 1037—1041, 1974.
168. Jungwirth C., Horak L., Bodo G. *Virology*, **48**, 59—70, 1972.
169. Isaacs A., Lindenmann J. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **147**, 258—267, 1957.
170. Isaacs A., Baron S. *Lancet*, **2**, 946—947, 1960.
171. Isaacs A., Hitchcock G. *Lancet*, **2**, 69—72, 1960.
172. Isaacs A. *Endeavour*, **22**, 96—98, 1963.
173. Kato N., Okada A., Ota F. *Virology*, **26**, 630—637, 1965.
174. Kleinschmidt W., Ellis L., Van Frank R. *Nature*, **220**, 167—168, 1968.
175. Kono Y., Ho M. *Virology*, **25**, 162—166, 1965.
176. Kowalska D., Pszczolska G., Klimek H. *Przegl. Epidemiol.*, **27**, 507—512, 1973.

177. Kreuz L., Levy A. J. *Bacteriol.*, **89**, 462—469, 1965.
178. Lackovic V., Boresky L. *Arch. ges. Virusforsch.*, **17**, 619—628, 1965.
179. Lampson W., Tytell A., Nemes M., Hilleman M. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **118**, 441—448, 1965.
180. Lampson W., Tytell A., Field A. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **58**, 782—789, 1967.
181. Larke R. *Canad. Med. J.*, **96**, 21—29, 1967.
182. Lee S., Shaughnessy M., Rozee K. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **139**, 1438—1440, 1972.
183. Levy H. *Virology*, **22**, 575—579, 1964.
184. Levy H., Riley F. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **70**, 3816—3819, 1973.
185. Lindermann J., Burke D., Isaacs A. *Brit. J. Exp. Path.*, **38**, 551—552, 1957.
186. Link F., Raus J. *Nature*, **192**, 478—479, 1961.
187. Link F., Blaskovic D., Raus J. *Nature*, **197**, 821—822, 1963.
188. Lockart R. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **15**, 513—522, 1964.
189. Lomniczi B. *Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung.*, **22**, 137—144, 1975.
190. Mackenzie A. J. *Clin. Path.*, **25**, 768—771, 1972.
191. Maeyer-Guignard G., Maeyer E., Montagnier L. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **69**, 1203—1207, 1972.
192. Manders E., Tilles G., Huang A. *Virology*, **49**, 573—581, 1972.
193. Marcus P., Engelhardt D., Hunt G. *Science*, **174**, 593—598, 1971.
194. McKinney H. J. *Agric. Res.*, **39**, 557—578, 1929.
195. McLaren C., Pootter C. *Med. Microbiol.*, **6**, 21—32, 1973.
196. Meager A., Burke D. J. *Gen. Virol.*, **18**, 305—317, 1973.
197. Mendelson G., Dick V. *Can. J. Microbiol.*, **19**, 544—546, 1973.
198. Merigan T. *Science*, **145**, 811—813, 1964.
199. Merigan T., Petralli J., Wilbur J. *Clin. Res.*, **13**, 297—305, 1965.
200. Merigan T. *Nature*, **214**, 416—418, 1967.
201. Merigan T., Regelson W. *New Engl. J. Med.*, **277**, 1283—1288, 1967.
202. Merigan T. *Interferon, Ciba Found. Symp. London*, 1968, 50.
203. Merigan T., Finkelstein M. *Virology*, **35**, 363—375, 1968.
204. Merigan T. *Cancer Chemother. Rep.*, **58**, 571—578, 1974.
205. Metz D., Esteben M. *Nature*, **238**, 385—388, 1972.
206. Nagano Y., Kojima Y. *C. R. Soc. Biol.*, **152**, 372—376, 1958.
207. Oker-Blom N., Strandstrom H. *Ann. Med. Exp. Fenn.* **34**, 176—182, 1956.
208. O'Shaughnessy N., Lee S., Rozee K. *Can. J. Microbiol.*, **18**, 145—151, 1972.
209. Pathak P., Tompkins W. *Infect. Immun.*, **9**, 669—673, 1974.
210. Paucker K., Stancek D. J. *Gen. Virol.*, **15**, 129—138, 1972.
211. Pidot A. *Appl. Microbiol.*, **22**, 671—677, 1971.
212. Radsak K., Freise H. *Med. Microbiol. Immunol.*, **159**, 45—51, 1973.
213. Regelson W. *Proc. Intern. Symp. Atheros. Retic. Endot. System., Italy*, 1966, 121—122.
214. Reynolds F., Pitha P. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **59**, 1023—1039, 1974.
215. Rinaldo C., Cole B., Overall J. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **146**, 613—618, 1974.
216. Robinson T., Heart R. *Nature*, **217**, 178—179, 1968.
217. Rotem Z., Cox R., Isaacs A. *Nature*, **197**, 564—566, 1963.
218. Rousset S. J. *Gen. Virol.*, **22**, 9—20, 1974.
219. Ruiz-Gomes J., Isaacs A. *Virology*, **19**, 1—7, 1963.
220. Rutel M., Ferstenfeld L., Rose H. *Am. J. Epidemiol.*, **99**, 347—359, 1974.
221. Samuel C., Joklik W. *Virology*, **58**, 476—491, 1974.

222. Sawicki L. *Nature*, **192**, 1203—1204, 1961.
223. Sawton R., Stevens G. *Virology*, **48**, 207—220, 1972.
224. Schafer T., Lieberman M., Cohen M., Came P. *Science*, **176**, 1326—1327, 1972.
225. Shaeff E., Meager, A., Burke D. *J. Gen. Virol.*, **17**, 163—169, 1972.
226. Schlesinger R., Olisky P., Morgan J. *J. Exp. Med.*, **89**, 507—512, 1944.
227. Schonne E. *IEG* **6**, **51**, 7—8, 1965.
228. Sedmak J., Grossberg S. *Bacteriol. Proc.*, **186**, 130—141, 1971.
229. Smith T., Wagner R. *J. Exp. Med.*, **125**, 578—585, 1967.
230. Stern R., Friedman R. *Biochemistry*, **10**, 3635—3645, 1971.
231. Stewart W., Sheaff E. *Can. J. Microbiol.*, **18**, 725—730, 1972.
232. Stewart W., Sulkin S. *Proc. Exp. Biol. Med.*, **123**, 650—657, 1966.
233. Stewart W., De Clercq E., De Somer P. *J. Virol.*, **10**, 896—901, 1972.
234. Stinebring W., Youngner J. *Nature*, **204**, 712—714, 1964.
235. Subrahmanyam T., Mims C. *Brit. J. Exp. Pathol.*, **47**, 168—174, 1966.
236. Tan Y., Armstrong G., Ho M. *Virology*, **45**, 837—840, 1971.
237. Tan Y., Armstrong G., Ho M. *Virology*, **44**, 503—509, 1971.
238. Tan Y., Geng D., Ho M. *Virology*, **48**, 41—48, 1972.
239. Taylor J. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **14**, 447—451, 1964.
240. Tovell D., Cantell K. *J. Gen. Virol.*, **13**, 485—489, 1971.
241. Truden J., Sigel M., Dietrich L. *Virology*, **33**, 95—103, 1967.
242. Vandeputte M., de Lafonteyne Y., Billiau A., de Somer P. *Arch. ges. Virusforsch.*, **20**, 235—241, 1967.
243. Vassef A., Beand G., Paucker K. *J. Gen. Virol.*, **19**, 81—87, 1973.
244. Vilcek J. *Acta Virol.*, **5**, 278—282, 1961.
245. Vilcek J. *Acta Virol.*, **9**, 107—115, 1963.
246. Vilcek J. *Interferon*, New York, Springer-Verlag, 1969.
247. Vilcek J., Varacalli F. *J. Gen. Virol.*, **13**, 185—188, 1971.
248. Vilcek J., Habell E. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **70**, 3909—3910, 1973.
249. Wagner R. *Virology*, **19**, 215—224, 1963.
250. Wagner R. *Am. J. Med.*, **38**, 726—732, 1965.
251. Wagner R., Huang A. *Virology*, **28**, 1—9, 1966.
252. Wallen W., Dean J., Lucas D. *Cell Immunol.*, **6**, 110—122, 1973.
253. Weislow O., Wheelock E. *J. Immunol.*, **114**, 211—215, 1975.
254. Wheelock E., Sibley W. *Lancet*, **2**, 382—384, 1964.
255. Wheelock E., Dingle J. *New Engl. J. Med.*, **271**, 645—649, 1964.
256. Wheelock E. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **117**, 650—653, 1964.
257. Wheelock E. *Science*, **149**, 310—312, 1965.
258. Wheelock E., Shenker S., Combes B. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **128**, 251—255, 1968.
259. Young C., Pringle C., Follett E. *J. Virol.*, **15**, 428—429, 1975.
260. Youngner J., Thacore H., Kelly M. *J. Virol.*, **10**, 171—178, 1972.

ინტერფერონის თეორია და პრაქტიკა

ბ. კორსანტია, ვ. ბახუტაშვილი

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო ინსტიტუტი

რ ე ზ ი უ მ ე

მიმოხილვაში წარმოდგენილია ლიტერატურული და საკუთარი მონაცემები ვირუსსაწინააღმდეგო ცილის ინტერფერონის აღმოჩენის, მისი ფიზიკურ-ქიმი-

ური თვისებებისა და ბიოლოგიური აქტივობის გამოვლენის შესახებ. მოცემულია ინტერფერონის წარმოშობისა და მოქმედების მექანიზმის ირგვლივ არსებული ცნობების ანალიზი. ნაჩვენებია ინტერფერონის როლი ადამიანისა და ცხოველის ვირუსული ინფექციების დროს ორგანიზმის არასპეციფიკური რეზისტენტობის განვითარებაში, შეფასებულია კლინიკაში ინტერფერონის პრაქტიკული გამოყენების პერსპექტივები.

THEORY AND PRACTICAL USE OF INTERFERON

B. M. KORSANTIYA, V. I. BAKHUTASHVILI

State Medical Institute, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

The data cited in literature concerning the discovery of the antiviral protein — interferon, its physical and chemical properties, manifestation of the biological activity are considered. Some aspects of the interferon induction and action are analysed. The role of interferon in the non-specific antiviral resistance of human beings and animals is shown and perspectives of practical use of interferon in clinic are estimated.

УДК 576.343

БИОХИМИЯ

КОНДУКТОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПЛЕКСО- ОБРАЗОВАНИЯ ГАНГЛИОЗИДОВ С ИОНАМИ КАЛЬЦИЯ

А. И. Чичуа

Институт физиологии им. И. С. Бериташвили АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 9.7.1976

Препараты ганглиозидов получали методом Фольча из головного мозга крупного рогатого скота. Очистка препарата проводилась с использованием метода гель-фильтрации на сефадексе G—200. Методом кондуктометрии установлена стехиометрия процесса комплексообразования в водной фазе между ганглиозидами и ионами кальция, которая составляла $M:L=1:1,6$. Комплексообразование ганглиозидов с ионами Na, K, Mg не наблюдалось. Значительных сдвигов ϵ , в процессе комплексообразования не происходило.

Действие ацетилхолина и серотонина вызывало уменьшение способности ганглиозидов связывать ионы кальция.

Ганглиозиды головного мозга представляют собой группу гликолипидов, имеющих в своем составе N — ацетилнейраминовою кислоту. Эти соединения в нервной ткани локализованы на поверхности плазматических мембран [10].

В последние годы получены факты, свидетельствующие о рецепторной роли ганглиозидов в отношении биогенных аминов [9, 11], а именно серотонина [1, 8, 14]. Большое внимание уделяется также взаимодействию ионов кальция с ганглиозидами. Имеются указания на то, что ганглиозиды в качестве рецептора участвуют в обмене внутриклеточного кальция [12]. Получены данные избирательного связывания ганглиозидами ионов кальция [5, 6].

Так как механизм взаимодействия ганглиозидов с ионами кальция полностью еще остается невыясненным, перед нами была поставлена задача изучить характер их комплексообразования. В этой статье приводятся данные, полученные методом кондуктометрии и измерения сдвигов диэлектрической постоянной в водном растворе при взаимодействии ганглиозидов с ионами кальция, и влияния некоторых аминов на этот процесс.

МЕТОДИКА

Препараты ганглиозидов получали из головного мозга крупного рогатого скота по методу Фольча и соавторов [7] в модификации Сузуки [13]. Очистку препарата проводили методом гель-фильтрации на сефадексе G—200. Удельную электропроводность водных растворов исследуемых проб определяли с помощью четырехплечного моста переменного тока [4], питаемого генератором ГЗ—33 ($v=2B$, $f=1000$ Гц), в ячейке с дисковыми электродами нечерненной платины. Во время измерений поддерживалась температура $25 \pm 0,1^\circ C$. Постоянную ячейки

определяли с помощью эталонных водных растворов КСl. Измерения проводились в водных растворах очищенного ганглиозидного препарата в присутствии солей $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Ca}$, $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Mg}$, CH_3COOK , CH_3COONa . Для сравнения в каждом опыте измерялась электропроводность водных растворов вышеупомянутых солей и строились соответствующие графики. Концентрация солей щелочных и щелочноземельных металлов C_m в пробах изменялась от 0,10 до 1,00 мМ, а концентрация ганглиозидного препарата в ходе измерения оставалась постоянной. Она равнялась $C_L=0,60$ мМ, рассчитанной по содержанию N-ацетилнейраминовой кислоты (N-АНК).

Для определения сдвигов диэлектрической постоянной — ϵ исследуемых растворов использовалась разработанная нами схема [2].

Принцип этого метода заключался в том, что определение величины ϵ производилось сравнением емкостей стандартного раствора гликокола и раствора исследуемого соединения [2].

Измерение величин емкостей для отдельных проб производили в ячейке с объемом в 5 мл при температуре 25°C, частоте тока 1 МГц. При этом концентрация ганглиозидов в каждой пробе оставалась неизменной, а концентрации электролита изменялись от 0,10 до 0,80 мМ.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерение емкостей отдельных проб ганглиозидного препарата и их сдвигов после взаимодействия с ионами кальция даны в таблице. Расчеты этих величин показали, что значительных сдвигов ϵ в растворе не происходит, очевидно, из-за слабой полярности ганглиозида и образующегося комплекса. Тем не менее, в определенном интервале концентраций ацетата кальция (0,10—0,20 мМ) наблюдается смещение величины ϵ , что указывает на возможные изменения конформации ганглиозидов при комплексообразовании с ионами кальция.

Таблица

Емкость C_x отдельных проб ганглиозидного препарата при добавлении возрастающих концентраций ацетата кальция ($C_L=0,6$ мМ)

C_m мМ	C_x	ϵ
0,0	53,0	84,0
0,1	50,6	79,6
0,2	50,8	80,2
0,3	50,5	79,4
0,4	50,3	79,2
0,5	50,3	79,2
0,6	50,2	79,0
0,7	50,2	79,0
0,8	50,2	79,0

На рис. 1 приведены кривые изменения электропроводности возрастающих концентраций растворов ацетата кальция в присутствии (A_1) и отсутствии (A_2) ганглиозидного препарата. При анализе кривых A_1 и A_2 следует исходить из того положения, что электропроводность раствора двух вступающих во взаимодействие электролитов должна быть равна сумме электропроводностей отдельных его составляющих. В нашем случае комплексообразования ганглиозидов с ионами кальция общая электропроводность смеси выше, чем электропроводность растворов отдельно взятых веществ, но она значительно ниже суммы

величин их электропроводностей. Ход кривой A_1 отображает характер взаимодействия ионов кальция с ганглиозидами. Хорошо различается в нем два участка связывания кальция с ганглиозидами. Первый участок дает представления об их взаимодействии при малых концентрациях

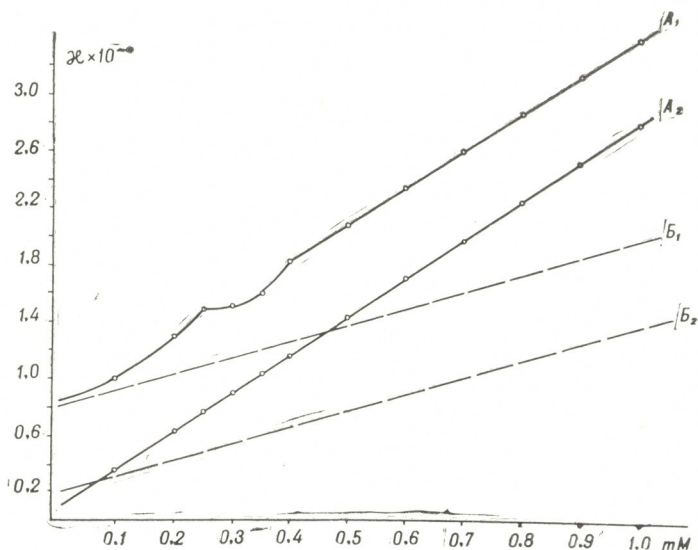


Рис. 1. Кривые изменения электропроводности возрастающих концентраций растворов ацетата кальция в присутствии (A_1) и отсутствии (A_2) ганглиозидного препарата. Кривые (B_1), (B_2)—изменения электропроводности возрастающих концентраций растворов ацетата калия в присутствии и отсутствии ганглиозидного препарата. Ось абсцисс—удельные электропроводности $\cdot 10^{-4} \cdot \text{ом}^{-1}$. Ось ординат—концентрация электролита mM

ионов кальция вплоть до $0,5 mM$. Далее кривая A_1 идет по более крутой экспоненте (участок 2), который соответствует взаимодействию более высоких концентраций ионов кальция (от $0,25$ до $0,4 mM$). Ход кривой A_1 на втором участке имеет уже пологую по сравнению с первым участком форму; этот участок кривой электропроводности в области $0,25$ — $0,35 mM$ указывает на возникновение конформационных сдвигов в мицелярной структуре ганглиозидов, в результате которых происходит взаимодействие катион-связывающих реактивных групп ганглиозида с ионами кальция. Это в свою очередь вызывает понижение общей электропроводности раствора. Сравнение молярных соотношений взаимодействующих соединений—ганглиозидов и ионов кальция дает стехиометрию процесса комплексообразования. Эта величина составляет $M:L=1:1,6$ по N —АНК в области $0,35 mM$; (где M —металл, L —лиганд), а в области $0,30 mM$ стехиометрия равна $M:L=1:2$. Кривая B_1 указывает на отсутствие связывания ионов калия с ганглиозидами. Кривая B_2 характеризует изменения электропроводности возрастающих концентраций растворов ацетата калия в отсутствии ганглиозидного препарата.

Обнаружить комплексообразование ганглиозидов с ионами магния в водной фазе в наших условиях не удалось. Для сравнения на рис. 2 приведены кривые изменения электропроводности возрастающих концентраций растворов ацетата магния в присутствии (C_1) и отсутствии (C_2) ганглиозида. Комплексообразование ганглиозидов с ионами магния не происходит, очевидно, из-за очень низкой константы устойчиво-

сти предполагаемого комплекса в водной среде. В литературе, однако, есть указание на связывание ионов магния ганглиозидами, но в органических растворителях [8]. Кривая D_1 (рис. 2) указывает на отсутствие связывания ионов натрия с ганглиозидами. Кривая D_2 характеризует изменения электропроводности возрастающих концентраций растворов ацетата натрия в отсутствие ганглиозидного препарата.

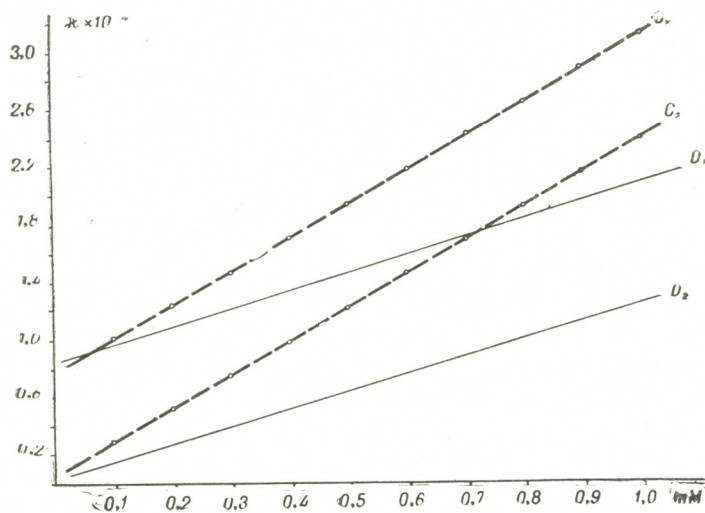


Рис. 2. Кривые изменения электропроводности возрастающих концентраций растворов ацетата магния в присутствии (C_1) и отсутствии (C_2) ганглиозидного препарата. Кривые (D_1), (D_2)—изменения электропроводности возрастающих концентраций растворов ацетата натрия в присутствии и отсутствии ганглиозидного препарата

На рис. 3 приводятся кривые зависимости связывания ионов кальция ганглиозидами в присутствии ацетилхолина (кривая a_1) и серотонина (кривая a_2). Поскольку молекулы N-ацетилнейраминаовой кислоты в основном локализованы на поверхности мембран [10], они могут выступать в качестве рецепторов для катионов. Такими катионами могут быть, в частности, как ионы кальция, так и нейромедиаторы с их вторичной, третичной или четвертичной азотной группировкой. Из кривых, приведенных на рис. 3, выясняется, что связывание ионов кальция ганглиозидами происходит также и в присутствии ацетилхолина. Концентрация ацетилхолина равнялась $0,30 \text{ мМ}$, причем форма кривой связывания напоминала кривую, полученную в отсутствие ацетилхолина, но, вместе с тем, выясняется, что участок максимального связывания кальция ганглиозидным препаратом смещается влево, т. е. к более низким концентрациям ионов кальция. Меняется и стехиометрия связывания, которая имеет величину 1:3. Отсюда следует, что имеет место или конкурентное взаимодействие ацетилхолина с ионами кальция за реактивный участок, или же происходят конформационные сдвиги в макромолекулярной структуре ганглиозида под влиянием аминов, что в конечном счете может привести к уменьшению способности ганглиозидов связывать ионы кальция. Эта последняя возможность не исключена, поскольку в литературе имеются данные о том, что связывание аминов (серотонина) определяется третичной структурой ганглиозида [3]. В наших опытах серотонин в концентрации $0,30 \text{ мМ}$ смещает участок максимального связывания кальция ганглиозидом влево значительно в меньшей степени. Стехиометрия связывания кальция в

присутствии серотонина близка к величине, имеющей место в отсутствии нейромедиатора.

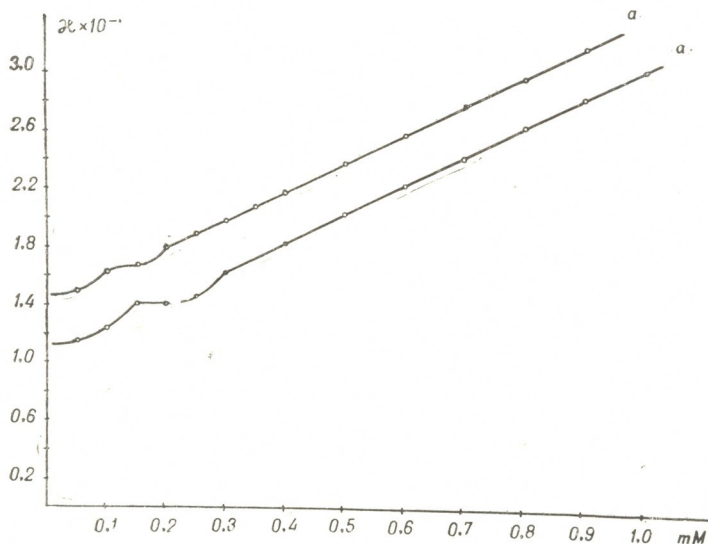


Рис. 3. Кривые зависимости связывания ионов кальция ганглиозидами в присутствии ацетилхолина (a_1) и серотонина (a_2); концентрация ацетилхолина $0,30 \text{ mM}$. Концентрация серотонина $0,30 \text{ mM}$. Ось абсцисс—удельные электропроводности $\cdot 10^{-4} \cdot \text{ом}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$. Ось ординат—концентрация $(\text{CH}_3\text{COO})_2 \text{Ca} \text{ mM}$

Таким образом, уменьшение связывающей способности катион-рецепторных компонентов (в том числе и ганглиозидов) возбудимых мембран, должно найти отражение в деполяризующем действии агентов типа ацетилхолина и серотонина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вейнберг А. Я., Чуприанова Н. Е., Самохвалов Г. И. Лаб. дело, **4**, 29—36, 1974.
2. Гоширидзе Е. Г., Хведелидзе М. А. Биофизика, **8**, 728—730, 1963.
3. Прохорова М. И. Успехи нейрохимии, Л., «Наука», 1974, 61—71.
4. Севастьянов Э. С., Горбанев А. И., Кесслер Ю. М. Ж. физ. химии, **36**, 3, 644—648, 1962.
5. Behn J. P., Lehn J. M. Febs Letters, **22**, 178—180, 1972.
6. Behn J. P., Lehn J. M. Febs Letters, **31**, 297—300, 1973.
7. Folch L., Lees J., Sloane M., Steanley G. H. J. Biol. Chem., **226**, 497—510, 1957.
8. Idem I. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, **53**, 959—965, 1965.
9. Green J. P. Advances Pharmacol., **1**, 349, 1962.
10. Klenk H. D., Chopin R. W. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, **66**, 57—64, 1970.
11. Lapetina E. G., Soto E. F., De-Robertis E. Biochim, Biophys. Acta, **135**, 33—43, 1967.
12. Lehninger A. L. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, **60**, 1069—1073, 1968.
13. Suzuki K. J. Neurochem., **12**, 629—638, 1965.
14. Wooley D. W., Commi B. W. Nature, **202**, 1074—1078, 1964.

კალციუმის იონებთან განგლიოზიდების კომპლექსწარმოქმნის კონდუქტომეტრული გამოკვლევა

ა. ჩიჩუა

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ი. ბერიტაშვილის სახელობის ფიზიოლოგიის
ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

განგლიოზიდების პრეპარატის მიღება ხდებოდა საქონლის თავის ტვინიდან ფოლჩის მეთოდით. განგლიოზიდების გაწმენდას ვახდენდით გელფილტრაციის მეთოდით G—200 სეფადექსზე. კონდუქტომეტრიის მეთოდის გამოყენებით დადგენილი იყო კომპლექსწარმოქმნის პროცესის სტექიომეტრია კალციუმის იონებსა და განგლიოზიდებს შორის, რომელიც შეადგენდა $M:L = 1:1,6$. კომპლექსწარმოქმნა წყალხსნარში განგლიოზიდებისა Na, K, Mg იონებთან არ შეინიშნებოდა. აცეტილქოლინის და სეროტონინის მოქმედებისას განგლიოზიდების დაკავშირების უნარი Ca -ის იონებთან ქვეითდება.

CONDUCTOMETRIC STUDY OF COMPLEX-FORMATION OF GANGLIOZIDES WITH CALCIUM IONS

A. I. CHICHUA

Institute of Physiology, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

Summary

The preparations of gangliozides were obtained from the cattle brain using the method of Folch et al. Purification of the preparations was effected by gel filtration on Sephadex G—200.

With the help of conductometric method stoichiometry of the process of complex-formation was ascertained in the aqueous phase between gangliozides and calcium ions which was found to be equal to $M:L = 1:1.6$. Complex-formation of gangliozides with the ions of Na, K, Mg was not observed. No considerable ϵ shifts occurred in the process of complex-formation.

Addition of acetylcholine and serotonin resulted in the attenuation of gangliozide capability of attaching calcium ions.

УДК 581.192

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

СОДЕРЖАНИЕ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В НЕКОТОРЫХ СОРТАХ КУКУРУЗЫ НА РАЗНЫХ ФАЗАХ РАЗВИТИЯ

Л. Д. Квариани

Тбилисский государственный университет

Поступила в редакцию 20.2.1977

Путем изучения содержания свободных аминокислот в разных фазах развития трех сортов кукурузы (Эверта, Аджаметис тетра, их гибрид—одно стебельная многопочатковая кукуруза) показано изменение их суммарного количества в зависимости от сорта, фазы развития и органа. Установлено также, что во всех трех сортах кукурузы среди свободных аминокислот количественно преобладает пролин. При этом преобладание количества свободного пролина особенно резко выражено в зернах гибридной одностебельной многопочатковой кукурузы.

Путем скрещивания местных подвидов лопающейся кукурузы Эверта, обладающей свойствами многопочатковости, с однопочатковой зубовидного типа Аджаметис тетра Г. М. Папалашвили [5, 6, 7] получил гибрид многопочатковой кукурузы. Этот гибрид характеризуется такими структурными признаками урожая, как величина початков и зерен на уровне однопочатковых форм при резко увеличенном количестве початков на одном растении.

Возможная перспективность этого гибрида, как высокоурожайной и высококачественной культуры, выдвигает задачу изучить в сравнительном аспекте содержание в нем органических соединений, определяющих его питательную ценность. В этом смысле безусловный интерес представляет определение содержания свободных аминокислот, являющихся, как известно, исходным материалом для белковых соединений [2, 3].

С этой целью нами изучено содержание свободных аминокислот в некоторых фазах развития одностебельной многопочатковой гибридной кукурузы, а также лопающейся кукурузы Эверта и однопочатковой кукурузы зубовидного типа Аджаметис тетра. Растения выращивали на опытном участке ТГУ. Изоляцию початков проводили с помощью пергаментных изоляторов. Со всех сортов брались образцы с пятикратной повторностью в фазах выметывания метелки и цветения (листья), молочной спелости (листья и зерна), восковой и полной спелости (зерна). Для количественного анализа аминокислот в пробах использовали хроматографию на бумаге [10].

Данные изменения количества каждой свободной аминокислоты, а также их суммарного количества в листьях и зернах изученных сортов кукурузы представлены в таблицах 1, 2.

В фазе выметывания метелки суммарное количество свободных аминокислот особенно высокое (находится почти на одном уровне) в листьях Эверты и в гибриде; в фазе цветения оно значительно снижается во всех трех сортах и особенно в листьях Аджаметис тетра. Снижение количества свободных аминокислот в этой фазе носит закономер-

Таблица 1

Содержание свободных аминокислот в листьях разных сортов кукурузы
(мг/г сухого материала)

Аминокислота	Ф а з а								
	выметыв. метелки			цветения			молочной спелости		
	Эверга	Гибрид	Аджаме- тис тетра	Эверга	Гибрид	Аджаме- тис тетра	Эверга	Гибрид	Аджаме- тис тетра
Лейцин	0,03	0,03	0,03	следы	следы	следы	0,03	0,03	следы
Фенилаланин	0,06	0,17	0,112	0,06	следы	следы	следы	следы	0,08
Валин	0,022	0,03	0,015	следы	следы	следы	следы	следы	0,03
Метионин	0,07	0,067	0,067	0,06	0,05	0,04	0,03	следы	0,05
Триптофан	0,275	0,275	0,270	0,100	0,130	0,100	0,200	0,202	0,160
Тирозин	0,100	0,100	0,06	0,03	0,03	0,03	0,09	0,100	0,06
Пролин	0,275	0,230	0,275	0,125	0,100	0,120	0,250	0,262	0,200
Аланин	0,300	0,210	0,05	0,035	0,05	0,112	0,06	0,200	0,195
Треонин	0,400	0,380	0,390	0,200	0,02	0,04	0,322	0,380	0,375
Глютаминовая кислота	0,07	0,067	0,03	0,05	0,04	0,04	0,045	0,100	0,070
Глицин	0,04	0,022	0,04	следы	следы	следы	0,052	0,09	0,04
Серин	0,190	0,135	0,022	0,100	0,09	следы	следы	0,022	0,022
Аспарагиновая кислота	0,09	0,100	0,09	0,06	0,09	0,06	0,09	0,02	0,100
Глютамин	0,2	0,100	0,070	0,190	0,085	0,06	следы	0,03	0,052
Аргинин	0,06	0,045	0,045	следы	следы	следы	следы	следы	следы
Аспарагин	0,105	0,225	0,200	0,095	0,150	0,170	0,225	0,105	0,225
Лизин	0,05	0,03	0,045	следы	следы	следы	следы	следы	0,03
Цистин	0,06	0,165	0,06	0,05	0,1	следы	следы	следы	0,09
Сумма	2,355	2,378	1,881	1,260	1,215	0,520	1,424	1,633	1,799

Таблица 2

Содержание свободных аминокислот в зернах разных сортов кукурузы
(мг/г сухого материала)

Аминокислота	Ф а з а								
	молочной спелости			восковой спелости			полной спелости		
	Эверга	Гибрид	Аджаме- тис тетра	Эверга	Гибрид	Аджаме- тис тетра	Эверга	Гибрид	Аджаме- тис тетра
Лейцин	0,07	0,03	следы	следы	следы	0,045	0,02	0,03	следы
Фенилаланин	0,105	0,06	следы	0,112	следы	следы	0,05	0,06	0,075
Валин+метионин	0,09	0,03	0,067	0,03	0,045	0,06	0,02	следы	0,03
Триптофан	0,262	0,180	0,157	0,257	0,257	0,300	0,170	0,150	0,150
Тирозин	0,217	0,117	0,165	0,035	0,06	0,06	0,06	0,07	0,06
Пролин	0,187	0,242	0,120	0,375	0,322	0,375	0,197	0,217	0,200
Аланин	0,397	0,295	0,375	0,375	0,082	0,042	0,04	0,06	0,06
Треонин	0,250	0,022	0,022	0,045	0,03	0,045	0,02	0,03	0,03
Глютаминовая кислота	0,300	0,187	0,270	следы	следы	следы	следы	следы	следы
Серин+глицин	0,225	0,037	0,09	0,135	0,07	0,135	0,06	0,02	0,202
Аспарагиновая кислота	0,09	0,045	0,142	0,045	0,09	0,120	0,200	0,232	0,150
Глютамин	следы	следы	следы	0,03	0,082	0,160	0,070	0,082	0,052
Аргинин	следы	следы	следы	следы	следы	следы	следы	следы	следы
Аспарагин	0,225	0,225	0,225	0,250	0,300	0,300	следы	следы	следы
Лизин	0,045	0,045	0,022	следы	0,072	0,075	следы	следы	следы
Цистин	0,165	0,165	0,022	следы	следы	следы	следы	следы	следы
Сумма	2,633	1,680	1,677	1,689	1,238	1,714	0,917	0,968	1,114

ный характер и, как указывается в литературе [1, 9], обуславливается более активным связыванием их в молекулы белка. В фазе молочной спелости суммарное количество свободных аминокислот вновь повы-

шается, особенно в листьях многопочаткового гибрида и Аджаметис тетра.

Результаты исследований свободных аминокислот в зерне также показывают разнообразие изменений их суммарного количества в разных фазах развития, в значительной степени характерных для каждого из изученных сортов.

Так например, суммарное количество свободных аминокислот в фазе молочной спелости особенно высокое в зернах Эверты, а в зернах гибрида и Аджаметис тетра оно значительно ниже и находится примерно на одном уровне. В фазе восковой спелости в зернах гибрида отмечается значительное его снижение. В зернах Эверты уменьшение количества свободных аминокислот еще более выражено, а в зернах Аджаметис тетра их количество даже несколько увеличивается. В фазе полной спелости отмечается дальнейшее снижение суммарного количества свободных аминокислот, особенно резко выраженное у Аджаметис тетра и Эверты, при этом количественные уровни свободных аминокислот в зернах гибрида и Эверты становятся почти одинаковыми.

Суммарное уменьшение небелковых азотистых соединений в этих фазах вполне закономерно: по данным литературы, во время созревания зерна небелковые формы азота включаются в синтез проламинов и глобулинов [8].

В аминокислотном составе изученных органов во всех фазах развития вышеуказанных сортов кукурузы отмечается преобладание определенных аминокислот над другими аминокислотами. В этом отношении выделяются в первую очередь треонин (особенно в листьях в фазе выметывания метелки и молочной спелости), триптофан (в листьях и зернах во всех фазах) аспарагин (в листьях и зернах во всех фазах за исключением фазы полной спелости).

Определенный интерес представляет динамика удельного веса пролина в суммарном количестве свободных аминокислот в зависимости от органа, фазы развития, а также сорта кукурузы.

Удельное содержание этой аминокислоты в листьях Эверты в фазе выметывания метелки составляет 11,0%, примерно таков же указанный показатель в гибриде (11,4%), несколько выше в листьях Аджаметис тетра (14,3%). В фазе цветения и молочной спелости удельное содержание пролина в листьях Эверты и гибрида так же примерно одинаково (соответственно 9,5, 8,2, 17,6, 15,8%).

Вместе с тем, в зернах кукурузы во всех изученных фазах развития удельное содержание пролина почти одинаково в Эверте и в Аджаметис тетра (в фазе молочной спелости соответственно 7,6 и 7,2%; в фазе восковой спелости — 22,0 и 21,6%; в фазе полной спелости — 20,8 и 18,0%), а в зернах гибрида оно почти в два раза выше в фазе молочной спелости (14,3%), и гораздо выше в фазе восковой спелости (26,7%) и в фазе полной спелости (22%).

Высокое удельное содержание свободного пролина во всех изученных сортах, особенно в зернах гибридной кукурузы, указывает на большую значимость этой аминокислоты для этих сортов кукурузы. Известно, что пролин, являясь запасным соединением, может стать источником энергии и азота, которые используются растением для построения новых аминокислот, участвующих в синтезе белковых соединений. Установлено также, что пролин влияет на поглощение кислорода тканями растений. Он оказывает значительное влияние на процесс окислительно-восстановительных реакций, участвуя в них в качестве акцептора или донора водорода [4].

Изучение динамики содержания свободных аминокислот в процессе развития различных сортов кукурузы, показало их разнообразный уровень в зависимости от сорта, органа растения, а также фаз развития кукурузы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Квариани Л. Д. Тр. ТГУ, 167, 117—119, 1976.
2. Кунцо В. Е., Кирик Н. Н., Кондратюк О. К. Физиология растений, 21, 1, 169—173, 1974.
3. Майстер А. Биохимия аминокислот, «Мир», М., 1961, 23—66.
4. Остапенко Д. И., Нагорная Р. В. Физиология и биохимия культурных растений, 9, 1, 35—39, 1977.
5. Папалашвили Г. М. Кукуруза, 2, 26—27, 1973.
6. Папалашвили Г. М. Кукуруза, 1, 28—29, 1974.
7. Папалашвили Г. М. Кукуруза, 9, 24—26, 1974.
8. Плешков Б. П. Биохимия сельскохозяйственных растений, «Колос», М., 1965, 367—372.
9. Самукава К., Ямагути М. Физиология растений, 22, 2, 295—299, 1975.
10. Успенская Ж. В., Кретович В. Л. В сб.: Методика количественной бумажной хроматографии сахаров, органических кислот и аминокислот у растений, «Наука», М.—Л., 25—35, 1962.

თავისუფალ ამინომჟავათა შემცველობა ზოგიერთი ჯიშის სიმინდში განვითარების სხვადასხვა ფაზაში

ლ. ჰვარიანი

თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

რ ე ზ ი უ მ ე

სხვადასხვა ჯიშის სიმინდში (ევერტა, აჯამეთის თეთრა და მათი ჰიბრიდი ერთლეროიანი მრავალტაროიანი სიმინდი) შესწავლილია თავისუფალი ამინომჟავების შემცველობა ფოთოლსა და მარცვალში. განვითარების ფაზების მიხედვით.

გამოირკვა, რომ სამივე ჯიშის სიმინდში წარმოდგენილი თავისუფალი ამინომჟავების როგორც სუმარული, ისე ცალკეული ამინომჟავის რაოდენობა თვალსაჩინოდ იცვლება განვითარების ფაზის მიხედვით და ამ ცვალებადობის ხასიათი განპირობებულია სიმინდის ჯიშით და თვით იმ ორგანოთი, რომელშიც შესწავლილია თავისუფალი ამინომჟავები. დადგენილია აგრეთვე, რომ სამივე ჯიშის სიმინდში თავისუფალ ამინომჟავათა შორის, განვითარების ყველა ფაზაში, რაოდენობრივად დომინირებს პროლინი.

CONTENT OF FREE AMINO ACIDS IN SOME SORTS OF MAIZE IN DIFFERENT PHASES OF DEVELOPMENT

L. D. KVARIANI

State University, Tbilisi, USSR

Summary

The content of free amino acids in leaves and seeds of different sorts of maize (Everta, Adgametis Tetra and their hybrid one-stemmed and many corn-cobbed maize) was studied in different phases of development.

It has been demonstrated that the total amount of amino acids, as well as the amount of each amino acid in the species examined change considerably, depending on the phase of development, the sort and the organ of the plant. Among free amino acids, there is a quantitative predominance of proline in all the phases of development of the above sorts of maize.

УДК 581.039.1

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

ВЛИЯНИЕ РАЗДЕЛЬНОЙ И СОВМЕСТНОЙ ПРЕДПОСЕВНОЙ ОБРАБОТКИ СЕМЯН РЕНТГЕНОВСКИМИ ЛУЧАМИ И МОЛИБДЕНОМ НА СОДЕРЖАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ АЗОТА И БЕЛКА В ФАСОЛИ

Ц. Г. Церетели

Тбилисский государственный университет

Поступила в редакцию 12.2.1977

Показано, что обработка семян фасоли (Сапарке-75 и Цанава-3) рентгеновскими лучами, молибденом и рентгеновскими лучами с молибденом, оказала различное влияние на содержание общего, небелкового, белкового азота и белка в растениях обоих сортов. Наибольшим их содержанием отличаются растения варианта обработки рентгеновскими лучами с молибденом.

Согласно литературным данным, молибден усиливает азотный обмен в бобовых, в результате чего повышается содержание общего и белкового азота в вегетативных и репродуктивных органах этих растений [1, 6].

Большой интерес представляют данные о влиянии ионизирующей радиации на растения и их семена. По данным некоторых авторов, определенные дозы ионизирующей радиации вызывают изменение биосинтеза некоторых жизненно-необходимых веществ (белков, углеводов), что способствует процессу развития, увеличению продуктивности и качества урожайности растения [4, 7].

Согласно приведенным литературным данным, можно отметить, что обработка семян как молибденом, так и ионизирующей радиацией, оказывает определенное положительное влияние на азотный обмен, вследствие чего в различных органах растения возрастает количество общего и белкового азота и белка, что в свою очередь обуславливает увеличение продуктивности урожая. В литературе довольно часто можно встретить сведения о результатах раздельного влияния указанных двух факторов на растение: что касается работ, посвященных результатам их совместного воздействия, то они весьма немногочисленны.

На двух сортах фасоли (Цанава-3 и Сапарке-75) мы изучали влияние как раздельной, так и совместной предпосевной обработки семян микроэлементом молибденом и рентгеновскими лучами на содержание различных форм азота в разных частях растения в зависимости от фаз развития.

МЕТОДИКА

Полевые опыты проводились на участке Натахтарской селекционной станции на площади 600 м². Почва, отведенная для указанных культур, отличалась малым содержанием легкоусваиваемой формы молибдена (0,22 мг/кг). Радиоактивность почвы была в пределах нормы.

Опытные сорта высевались в четырех вариантах:

I — контрольный вариант;

II — сухие семена подвергались рентгеновскому облучению в дозе 10 кгР. Облучение производили на спаренных установках РУТ-II при условиях: 200 кВ, 20 мА, без фильтра (1 м Аl), мощность дозы 1 кгР/мин;

III — семена выдерживались в 0,025%-ном водном растворе молибдено-кислого аммония;

IV — семена в начале облучались в дозе 10 кгР, а затем обрабатывались 0,025%-ным водным раствором молибдено-кислого аммония.

Семена I и II вариантов перед высевом выдерживались в дистиллированной воде, а III и IV вариантов — в растворе молибдено-кислого аммония в течение 10 часов.

В контрольных и опытных растениях общий азот определяли микрометодом Кьельдаля, белковый азот определялся по Барштейну [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 приведены данные об изменении содержания форм азота в различных частях опытных и контрольных растений в фасоли «Цанава-3» в соответствии с фазами развития. Из таблицы видно, что в листьях как контрольных, так и опытных растений, количество общего и белкового азота в фазе цветения значительно больше, чем в фазе зеленых бобов. Меньшим количеством общего и белкового азота характеризуются также стенки зеленых бобов. В этом случае значительное снижение количества азота обусловлено его интенсивным перемещением в семена. В процессе созревания семян повышается количество общего азота, полностью обусловленное увеличением количества белкового азота; что касается небелкового азота, количество его в семенах снижается.

Анализ содержания форм азота (по вариантам) дает следующую картину: облучение семян рентгеновскими лучами имеет определенное влияние на накопление азота в листьях, однако, по сравнению с обработкой только молибденом и рентгеновскими лучами с молибденом, влияние это небольшое. В листьях фасоли фазы цветения сильнее проявляется эффект обработки молибденом, в следующей же фазе — эффект комбинированного воздействия рентгена и молибдена. Указанная закономерность характерна для всех изученных частей растения этой фазы. Повышение содержания белкового азота во всех частях растения обуславливает увеличение в них количества белка.

Максимальное количество белка отмечено в листьях фазы цветения контрольных и опытных растений: в фазе бобов количество белка снижается; в стенках бобов оно небольшое, так как часть синтезированных здесь белков перемещена в незрелые (зеленые) семена. В соответствии с процессом созревания семян повышается количество белка.

Предпосевная обработка семян Цанава-3 указанным методом обусловила изменения процесса накопления белка в различных частях растения: облучение рентгеном, хотя и не вызвало особых изменений в накоплении общего азота, однако, по сравнению с контрольным вариантом, обусловило некоторое повышение количества белка; обработка семян только молибденом и рентгеном с молибденом оказывала большее влияние на процесс синтеза белка в изученных нами частях растения, что проявилось в значительном его накоплении (незрелые, зрелые семена).

Ниже рассматриваются колебания содержания различных форм азота и белка в контрольных и опытных растениях фасоли Сапарке-75.

Таблица 1

Содержание общего белкового, небелкового азота и белка (в процентах на гбс. сухой вес) в листьях и репродуктивных органах фасоли Цанава-3 при воздействии на семена рентгеновскими лучами и молибденом

Вид азота	Фаза цветения				Фаза зеленых бобов								Фаза созревания							
	Л и с т				Л и с т				Стенки зеленых бобов				Незрелые семена				Зрелые семена			
	Контрольные растения	Облученные	Обработанные молибденом	Облученные рентгеном с молибденом	Контрольные	Облученные	Обработанные молибденом	Облученные рентгеном с молибденом	Контрольные	Облученные	Обработанные молибденом	Облученные рентгеном с молибденом	Контрольные	Облученные	Обработанные молибденом	Облученные рентгеном с молибденом	Контрольные	Облученные	Обработанные молибденом	Облученные рентгеном с молибденом
Общий	3,77	3,75	4,25	4,39	2,23	2,35	2,32	2,87	2,27	2,33	2,91	3,22	3,63	4,05	4,27	4,50	3,84	4,07	4,32	4,60
Белковый	3,30	3,49	3,83	3,98	2,02	2,17	2,24	2,69	1,40	1,54	1,89	2,27	3,44	3,50	4,12	4,32	3,58	3,58	4,28	4,37
Небелковый	0,47	0,26	0,42	0,41	0,26	0,18	0,08	0,22	0,87	0,81	1,02	0,98	0,19	0,45	0,15	0,18	0,26	0,49	0,04	0,23
Белок	20,6	21,8	23,8	24,8	12,7	13,5	14,0	16,8	8,8	9,6	11,8	14,1	21,5	21,8	25,7	27,0	22,3	22,3	26,4	27,3

В табл. 2 приведены результаты опытов, показывающие, аналогично фасоли Цанава-3, большое количество общего, белкового азота и белка в листьях контрольных и опытных растений Сапарке-75 в фазе цветения; в фазе зеленых бобов (в стенках) возрастает содержание небелкового азота и снижается количество общего и белкового азота (листья, стенки бобов). Указанное обстоятельство, вероятно, обусловлено перемещением общего и белкового азота в репродуктивные органы. В семенах в связи с созреванием повышается количество общего и белкового азота и снижается содержание небелкового азота.

Предпосевное облучение рентгеном семян Сапарке-75 обусловило определенные изменения содержания общего и белкового азота как в листьях, так и репродуктивных органах. Относительно значимым повышением количества общего и белкового азота отличаются незрелые и зрелые семена этого варианта. Особо следует отметить, что в результате обработки семян молибденом значительно возросло количество общего азота в листьях фасоли в фазе цветения, и, наоборот, обработка рентгеновскими лучами с молибденом обусловила понижение количества этой формы азота в листьях той же фазы. Однако указанное обстоятельство не препятствовало значительному повышению белкового азота в листьях этого варианта (по сравнению с вариантом обработки молибденом). Следует отметить, что в фазе цветения заметней эффект обработки молибденом, а в фазе зеленых бобов во всех частях растения эффективнее результаты комбинированной обработки рентгеном и молибденом.

Данные о содержании белка в различных частях растения и варианты обработки семян фасоли Сапарке-75 вышеуказанным способом показывают, что количество белка в контрольных и опытных растениях повышено в листьях фасоли фазы цветения; далее, в фазе зеленых бобов, оно снижается, а в семенах, параллельно с созреванием, вновь возрастает.

Проведенные исследования показали, что белка в растениях Сапарке-75 больше, чем в растениях Цанава-3. Обработка семян этого сорта использованным нами методом дала больший эффект, чем обработка Цанавы-3.

На основе наших экспериментальных данных установлено, что в растениях фасоли обоих сортов (как контрольных, так и опытных), наряду с повышенным общим и белковым азотом, наблюдается процентное колебание содержания белка в зависимости от фазы развития. В листьях фасоли фазы цветения, в соответствии с интенсивными физиологическо-биохимическими процессами, процентный состав белкового азота и белка выше, чем в фазе образования бобов. В стенках бобов значительно снижается количество белкового азота. В процессе созревания семян процентный состав белкового азота и белка возрастает за счет небелкового азота.

Обработка семян фасоли рентгеновскими лучами, молибденом и рентгеновскими лучами с молибденом, оказала различное влияние на содержание общего и белкового азота и белка в растениях обоих сортов. Наибольшим содержанием общего, белкового азота и белка отличаются растения обработанные рентгеновскими лучами с молибденом.

Наши исследования подтверждаются литературными данными, согласно которым в результате совместной обработки семян бобовых молибденом и ионизирующей радиацией, в вегетативных и репродуктивных органах повышается содержание белка [2, 4].

Т а б л и ц а 2

Содержание общего, белкового, небелкового азота и белка (в процентах на абс. сух. вес) в листьях и репродуктивных органах фасоли Сапарке-75 при воздействии на семена рентгеновскими лучами и молибденом

Вид азота	Фаза цветения				Фаза зеленых бобов								Фаза созревания							
	Л и с т				Л и с т				Стенки зеленых бобов				Незрелые семена				Зрелые семена			
	Контрольные растения	Облученные	Обработанные молибденом	Облученные рентгеном с молибденом	Контрольные растения	Облученные	Обработанный молибденом	Облученные рентгеном с молибденом	Контрольные	Облученные	Обработанные молибденом	Облученные рентгеном с молибденом	Контрольные	Облученные	Обработанные молибденом	Облученные рентгеном с молибденом	Контрольные	Облученные	Обработанные молибденом	Облученные рентгеном с молибденом
Общий	3,70	3,89	4,63	4,61	2,25	2,32	2,68	2,90	2,91	2,91	3,03	3,76	3,75	40,0	4,66	4,69	4,04	4,27	4,47	4,70
Белковый	3,44	3,50	3,77	4,32	2,00	2,11	2,48	2,67	1,43	1,52	1,87	2,13	3,50	3,65	3,89	4,35	3,60	3,82	4,13	4,35
Небелковый	0,60	0,39	0,16	0,29	0,25	0,21	0,20	0,23	0,86	1,39	1,16	1,63	0,25	0,45	0,77	0,34	0,44	0,45	0,34	0,35
Белок	21,5	21,9	23,6	26,0	12,5	13,2	16,1	16,7	8,9	9,5	12,6	13,4	21,8	22,8	24,3	27,1	23,8	25,5	25,8	27,1

Предпосевная обработка семян вышеуказанным методом обусловила значительное повышение степени накопления белка в незрелых и зрелых семенах. Следует отметить, что предпосевная обработка молибденом и рентгеновскими лучами с молибденом способствовала созреванию семян в ранней фазе (незрелые семена). Это проявилось в накоплении достаточного количества белка в незрелых семенах. В дальнейших фазах повышение количества белка не столь заметно.

ЛИТЕРАТУРА

1. Власюк П. А. Биологические элементы в жизнедеятельности растений. Изд. АН УССР, Киев, 1969, 3—10.
2. Горланов Н. А., Александрова Ф. Ф., Уч. зап. Горьковского ун-та, 63, 17—19, 1963.
3. Гусева В. А., Шейцева Т. М., Курганова Л. Н. Уч. зап. Горьковского ун-та, 73, 21—23, 1967.
4. Гусева В. А. Уч. зап. Горьковского ун-та, 73, 20—23, 1967.
5. Ермаков А. И., Арасимович В. В., Смирнова-Иконникова М. И., Мури И. К. Методы биохимического исследования растений, Сельхозгиз, М., 1952, 30—31.
6. Пейве Я. Н. Изв. АН ГССР, сер. биол., 2, 12—16, 1970.
7. Приходько Л. С., Клышев Л. К. Тр. Ин-та ботаники АН Казахской ССР, 29, 15—18, 1971.

რენტგენის სხივებით და მოლიბდენით თესლეზზე
ჯემოკმედების გავლენა ლობიოში აზოტის სხვადასხვა
ფორმის და ცილის შემცველობაზე

ც. წერეთელი

თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

რ ე ზ ი მ ე

ლობიოს ორი ჯიშის (ცანავა-3 და საპარკე-75) თესლების რენტგენის სხივებითა და მოლიბდენით ცალ-ცალკე და ერთდროული დამუშავება სხვადასხვაგვარად მოქმედებს საერთო, ცილოვანი აზოტისა და ცილის შემცველობაზე ფოთოლსა და რეპროდუქციულ ორგანოებში. ცილოვანი აზოტისა და ცილის ყველაზე მაღალი შემცველობით ხასიათდება ის ვარიანტი, რომელშიც თესლები დამუშავებული იყო რენტგენის სხივებით + მოლიბდენით.

ამგვარად, კომბინირებული მეთოდით ლობიოს თესლების დამუშავება აუმჯობესებს ამ თესლების ხარისხსა და კვებით ღირებულებას.

EFFECT OF X-RAYS AND MOLYBDENUM ON THE CONTENT OF DIFFERENT FORMS OF NITROGEN AND PROTEIN IN THE SEEDS OF HARICOT BEAN

Ts. G. TSERETELI

State University, Tbilisi, USSR

Summary

It has been demonstrated that treatment of haricot bean seeds (Sapark-75, Tsanava-3) with X-rays, molybdenum and X-rays + molybdenum exerts different influences on the total protein nitrogen and protein content in the leaves and reproduction organs. The largest content of nitrogen and protein was found in the seeds treated with X-rays + molybdenum.

Thus, a combined method of the bean seed treatment appears to improve the degree of seeds and their nourishing value.

УДК 564.53:551.762

ПАЛЕОБИОЛОГИЯ

К ИЗУЧЕНИЮ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ ПЕРЕГОРОДОЧНОЙ ЛИНИИ КАДОЦЕРАТИН

Т. А. Ломинадзе

Институт палеобиологии АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 30.9.1976

Проведено детальное изучение онтогенетического развития перегородочной линии представителей родов *Cadoceras*, *Pseudocadoceras*, *Quenstedtoceras* (надсемейство *Macrocephalitoidea*, семейство *Cardioceratidae*, подсемейство *Cadoceratinae*). У исследуемой группы аммонитов наблюдается полная идентичность в развитии перегородочной линии в онтогенезе до стадии соответствующей формуле: $(V_1V_1)(U_2U_1U_2)U^1U^2U^3U^4U^3U^2U^1ID$. Различия наступают только в конечных стадиях. Полное сходство в строении элементов перегородочной линии рода *Quenstedtoceras* с другими представителями кадоцератин свидетельствует об их филогенетической близости. На этом основании род *Quenstedtoceras* включен в подсемейство *Cadoceratinae*.

Для семейств *Cardioceratidae* Н. Douvillé, 1890 (с подсемействами *Cardioceratinae* Н. Douvillé, 1890 и *Cadoceratinae* Hyatt, 1900) и *Macrocephalitidae* Buckman, 1922 характерно очень раннее возникновение второй внутренней боковой лопасти I^1 , однако в отличие от большинства стефанокератацеей усложнение перегородочной линии у представителей этих семейств происходит за счет пупковых лопастей. По этому признаку Шевырев [4] совершенно справедливо объединяет эти семейства в надсемейство *Macrocephalitoidea*.

В нашей коллекции представлены три рода кадоцератин, которые и были изучены нами онтогенетическим методом, являющимся наиболее надежным для выявления филогенетических связей и установления таксономических категорий.

Род *Cadoceras* Fosher, 1881. Изучен онтогенез перегородочной линии на экземплярах №№ 1070, 1045—*C. elatmae* (Nik.), № 1064—*C. modiolare* (Luid.), № 1108—*C. frearsi* (Crb.), № 1084—*C. tschefkini* (Crb.).

На рис. 1 изображен ход онтогенетического развития перегородочной линии *Cadoceras tschefkini* (Crb.). При толщине оборота 0,65 мм линия имеет уже пять лопастей: брюшную (V), разделенную на две симметричные лопасти V_1V_1 ; пупковую (U); первую пупковую (U^1); внутреннюю боковую (I); спинную (D). Формула перегородочной линии при данной толщине оборота имеет вид: $(V_1V_1)UU^1ID$.

При $T=0,72$ мм в вершине внутреннего седла I/D появляется неглубокая лопасть I^1 и все остальные лопасти начинают углубляться.

При $T=0,95$ мм в вершине седла U^1/I появляется пупковидная лопасть U^2 , которая имеет пришовное положение. Формула перегородочной линии: $(V_1V_1)UU^1U^2\Pi^1D$.

При $T=1,1$ мм лопасть U^2 смещается к наружной стороне, а вторая внутренняя лопасть I^1 становится довольно глубокой. Новые элементы в строении перегородочной линии не появляются. Формула — $(V_1V_1)UU^1U^2:\Pi^1D$.

При $T=2$ мм на внешней стороне оборота в вершине седла U^2/I возникает лопасть U^3 и в вершине седла U^1/U^2 появляется углубление, характерное для всех кадоцератин. Формула — $(V_1V_1)UU^1U^2U^3\Pi^1D$.

При $T=2,8$ мм лопасть U^3 делится на две симметричные лопасти U_1^3, U_2^3 , одна из которых смещается на наружную, а другая на внутреннюю сторону раковины. Лопасть U принимает неясно треугольное очертание. Формула — $(V_1V_1)UU^1U^2U_1^3:U_2^3\Pi^1D$. В дальнейшем все лопасти и седла начинают усложняться добавочными элементами, а лопасть I^1 становится одинаковой длины с лопастью I .

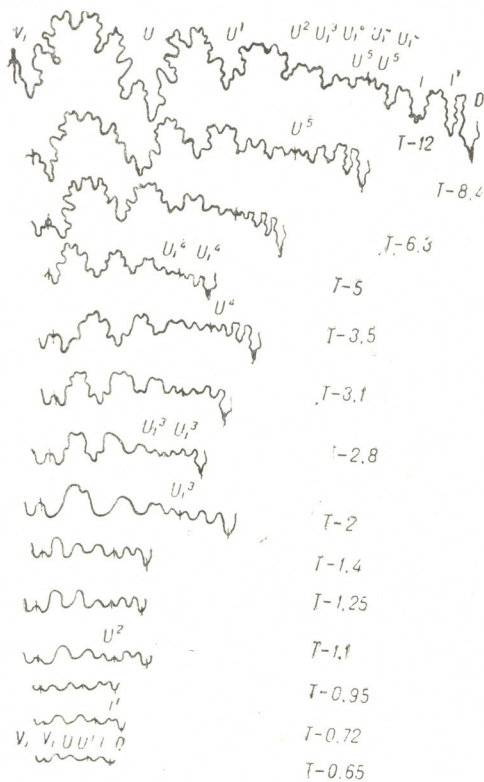


Рис. 1. *Cadoceras tscheffini* (Orb.) (увеличение от 20 до 1), обр. 1084, р. Ока, с. Ельма, средний келловей

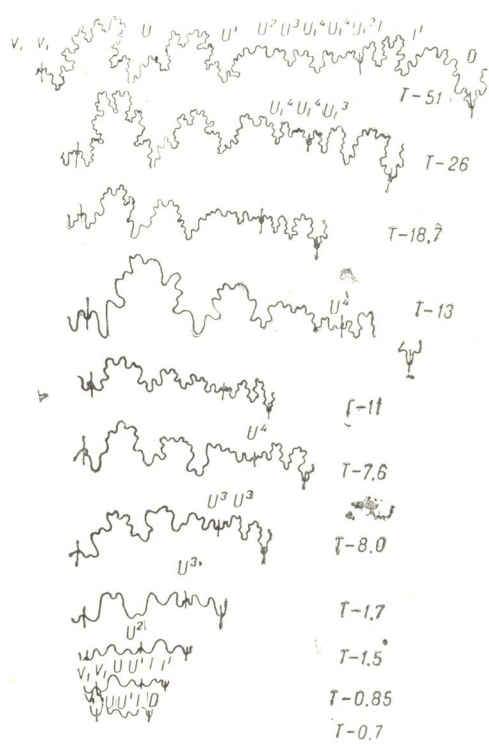


Рис. 2. *Cadoceras modiolare* (Luid.) (увеличение от 20 до 1), обр. 1064, р. Ока, с. Ельма, нижний келловей

При $T=3,5$ мм в вершине седла U^3/U_1^3 появляется лопасть U^4 , которая при данной толщине оборота имеет пришовное положение. Лопасть U отчетливо трехраздельной формы. Седло U^1/U^2 довольно широкое. Формула перегородочной линии $(V_1V_1)(U_2U_1U_2)U^1U^3U_1^4U^3\Pi^1D$ — является типичной для подсемейства кадоцератин.

При толщине оборота $T=5$ мм лопасть U^4 делится на две симметричные лопасти U_1^4, U_1^4 , одна из которых находится на внешней стороне раковины, а другая на внутренней. Седло I/I^1 становится двураздельным. Формула — $(V_1V_1)(U_2U_1U_2)U^1U^2U^3U_1^4:U_1^4U_1^3I^1D$.

При $T=6,3$ мм наблюдается усложнение отдельных элементов перегородочной линии, однако новые лопасти не возникают.

При $T=8,4$ мм в вершине седла U_1^4/U_1^4 появляется лопасть U^5 с пришовным положением. Формула: $(V_1V_1)(U_2U_1U_2)U^1U^2U^3U_1^4U^5U_1^4U_1^3I^1D$.

И, наконец, при $T=12$ мм лопасть U^5 делится на две симметричные лопасти $U_1^5:U_1^5$. Конечная формула перегородочной линии для *Cadoceras tschefkini* (Orb.) имеет вид: $(V_1V_1)(U_2U_1U_2)U^1U^2U^3U_1^4(U_1^5:U_1^5)U_1^4U_1^3I^1D$.

На рис. 2 дана картина онтогенетического развития перегородочной линии вида *Cadoceras modiolare* (Luid.). В отличие от вышеописанного вида, возникшая на шве в вершине седла U_1^4/U_1^4 лопасть U^4 (здесь перегородочная линия имеет формулу, характерную для всего подсемейства), смещается на наружную сторону и после этого делится на две симметричные, не вполне обособленные, лопасти $(U_1^4U_1^4)$, а U_1^3 , которая в начале расположена на внутренней стороне раковины, занимает пришовное положение. Конечная формула перегородочной линии имеет вид: $(V_1V_1)(U_2U_1U_2)U^1U^2U^3(U_1^4U_1^4)U_1^3I^1D$.

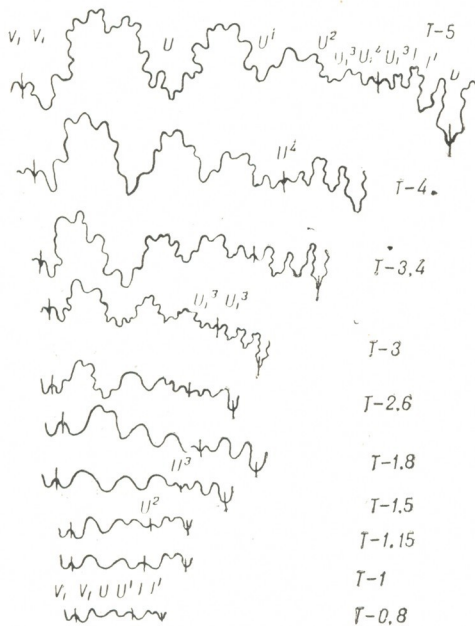


Рис. 3. *Pseudocadoceras cuneatum* Sas. (увеличение от 20 до 1), обр. 1107, р. Ока, с. Елатьма, средний келловей

Род *Pseudocadoceras* Buckman, 1918. Развернут экземпляр № 1107 — *Pseudocadoceras cuneatum* Sas. Не вдаваясь в подробное описание развития перегородочной линии в онтогенезе отметим, что развитие перегородочной линии в онтогенезе происходит аналогичным с *Cadoceras* и *Longaeviceras* путем, однако усложнение линии у этого вида заканчивается в момент

у вида *Cadoceras elatmae* Nik. усложнение линии заканчивается в момент деления лопасти U^4 на две симметричные лопасти $(U_1^4:U_1^4)$, а формула принимает вид: $(V_1V_1)(U_2U_1U_2)U^1U^2U^3U_1^4:U_1^4U_1^3I^1D$. Синтез перегородочной линии у данного вида был довольно детально изучен Бодылевским [1] и Шевыревым [4].

Перегородочная линия другого представителя подсемейства кадоцератин рода *Longaeviceras* Buckman, 1919 [2] развивается по типу *Cadoceras elatmae* Nik., однако в отличие от последнего у *Longaeviceras sp.* седло U^1/U^2 гораздо уже. Формула перегородочной линии имеет вид: $(V_1V_1)(U_2U_1U_2)U^1U^2U^3U_1^4:U_1^4U_1^3I^1D$.

Перегородочная линия другого представителя подсемейства кадоцератин рода *Longaeviceras* Buckman, 1919 [2] развивается по типу *Cadoceras elatmae* Nik., однако в отличие от последнего у *Longaeviceras sp.* седло U^1/U^2 гораздо уже. Формула перегородочной линии имеет вид: $(V_1V_1)(U_2U_1U_2)U^1U^2U^3U_1^4:U_1^4U_1^3I^1D$.

возникновения на пупковом шве лопасти U^4 . Конечная формула перегородочной линии такова: $(V_1V_1)(U_2U_1U_2)U^1U^2U_1^3U^4U_1^3II^1D$ (рис. 3).

Род *Quenstedtoceras* Hyatt, 1877. Развернуты экземпляры № 33—*Q. vertumnum* (Leck.), № 30—*Q. mariae* (Crb.), № 31—*Q. lamberti* (Sow.), № 45—*Q. henrici* Douv.

На рис. 4 изображен ход онтогенеза перегородочной линии *Quenstedtoceras mariae* (Orb.). При толщине оборота $T=0,62$ мм линия имеет уже пять лопастей. Формула— $(V_1V_1)UU^1:ID$.

При $T=0,75$ мм в вершине седла I/D появляется лопасть I^1 . При $T=1$ мм на пупковом шве в вершине седла U^1/I возникает новая лопасть U^2 .

Формула: $(V_1V_1)UU^1U^2II^1D$.

При толщине оборота $T=1,8$ мм седло V/U усложняется добавочными лопастями, а лопасть U становится неясно трехраздельной. При $T=1,85$ мм в вершине седла U^2/I на пупковом шве уже наблюдается лопасть U^3 , а U^2 смещается на наружную сторону.

Формула: $(V_1V_1)UU^1U^2U^3II^1D$.

При $T=2,3$ мм в вершине седла U^1/U^2 появляется углубление, характерное для всех кадоцератин. До $T=3,3$

мм новые самостоятельные элементы в строении перегородочной линии не возникают, однако уже при этой толщине лопасть U^3 делится на две симметричные лопасти U^3_1, U^3_1 . Одна из них находится на наружной стороне раковины, а другая — на внутренней.

При $T=4,5$ мм лопасть U становится отчетливо трехраздельной и в вершине седла U^3_1/U^3_1 на пупковом шве закладывается новая самостоятельная лопасть U^4 . Конечная формула перегородочной линии: $(V_1V_1)(U_2U_1U_2)U^1U^2U_1^3U^4U_1^3II^1D$.

На рис. 5 изображен онтогенез перегородочной линии вида *Quenstedtoceras vertumnum* (Leck.), у которого конечная формула имеет такой же вид, как и у *Quenstedtoceras mariae* (Crb.), однако закладка новых лопастей происходит при гораздо большей толщине оборотов, чем у других изученных видов.

Онтогенетическое развитие перегородочной линии рода *Quenstedtoceras* было изучено и Шиндевольфом [5]. К сожалению, этот исследо-

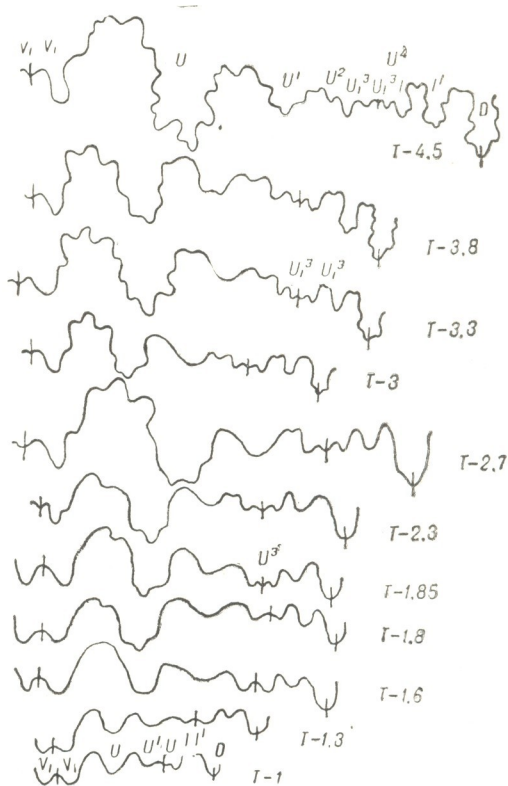


Рис. 4. *Quenstedtoceras mariae* (Orb.) (увеличение от 20 до 1) обр. 30, Польша, Лукув, верхний келловей

ватель не дает полной картины развития линии, однако все же что ее усложнение идет тем же путем, что и в изученных нами случаях.

Следовательно, у исследуемой группы аммонитов подсемейства *Cadoceratinae* (роды *Cadoceras*, *Pseudocadoceras*, *Quenstedtoceras*, *Longae-*

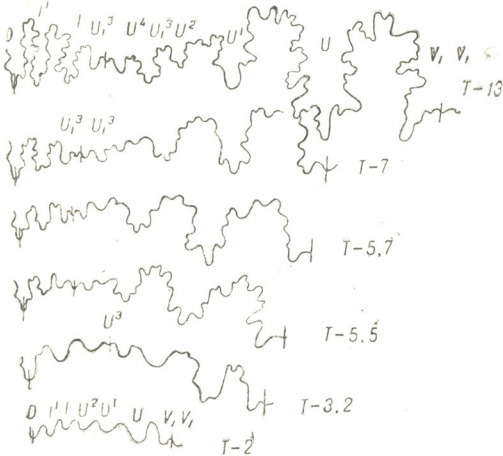


Рис. 5. *Quenstedtoceras vertumnum* (Leck.) (увеличение от 12 до 1) обр. 33, Польша, Лукув, верхний келловей

viceras) наблюдается полная идентичность в развитии перегородочной линии в онтогенезе до стадии соответствующей формуле $(V_1V_1)(U_2U_1U_2)U^1U^2U_1^4U_1^3U^1D$. Стадия развития линии, выраженная данной формулой, является характерной для всего подсемейства кадоцератин. Различия наступают только в конечных стадиях.

Так, например, у *Quenstedtoceras*, так же, как и у *Pseudocadoceras* усложнение перегородочной линии заканчивается в момент возникновения на пугковом шве лопасти U^4 , а у *Cadoceras* и *Longaeviceras* эта лопасть

делится на две симметричные лопасти $U_1^4:U_1^4$. У *Cadoceras* хотя и редко, но все же возникает лопасть U^5 , которая в свою очередь делится на две симметричные лопасти $U_1^5:U_1^5$.

Полное сходство в строении элементов перегородочной линии рода *Quenstedtoceras* с другими представителями кадоцератин свидетельствует об их генетической близости, и род *Quenstedtoceras*, без сомнения, должен быть включен в это подсемейство.

Сюда же, по-видимому, надо включить и роды, объединенные С. В. Мелединой [3] в новое подсемейство *Arctocephalitinae* Meledina, так как существенных различий, достаточных для выделения нового подсемейства, в развитии перегородочной линии и других структур у представителей нового подсемейства и кадоцератин не наблюдается.

Предковой группой подсемейства *Cadoceratinae* можно рассматривать *Sphaeroceratinae*. На это указывает единый план развития скульптуры и формы поперечного сечения, а также перегородочной линии на ранних стадиях онтогенеза [3].

Изучение хода онтогенетического развития перегородочной линии позволяет установить подсемейственную принадлежность (редко родовую) кадоцератин. Однако для более низких таксономических единиц перегородочная линия является признаком лишь дополнительным и должна быть использована в совокупности с другими структурами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бодылевский В. И. Ежегод. русск. палеонт. общ., V, 1, 61—99, 1926.
2. Князев В. Г. Геол. и геоф., 2, 140—146, 1971.

3. М е л е д и н а С. В. Тр. Инст. геол. и геоф., Новосибирск, 153, 5—152, 1973.
 4. Ш е в ы р е в А. А. Бюлл. МОИП, отд. геол., 65, 159—178, 1960.
 5. S c h i n d e w o l f O. Abh. der Math.Naturwiss. Klasse, Jahrgang, 3, 461—470, 1965.

კადოცერატინების ტიხრის ხაზის ონტოგენეზური განვითარების შესწავლისათვის

თ. ლომინაძე

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის პალეობიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

ნაშრომში მოცემულია *Cadoceras*, *Pseudocadoceras* და *Quenstedtoceras*-ის ტიხრის ხაზის ონტოგენეზური განვითარების შესწავლის შედეგები. დადგენილია, რომ ამ გვარებისათვის დამახასიათებელია ტიხრის ხაზის განვითარების სრული იდენტურობა $(V_1V_1)(U_2U_1U_2)U^1U^2U_1^1U_2^1U_1^2U_2^2U_1^1U_2^1U_1^2U_2^2$ —სტადიამდე, გვარებს შორის განსხვავება მხოლოდ ბოლო სტადიაზე იჩენს თავს. გვარ *Quenstedtoceras*-ს, ისევე როგორც *Pseudocadoceras*-ს ტიხრის ხაზის გართულება უმთავრდებათ U^4 წარმოშობის მომენტში. *Cadoceras*-ის და *Longaeviceras*-ის წარმომადგენლებს ეს უბე გაყოფილი აქვთ ორ სიმეტრიულ უბედ — $U_1^1:U_1^1$. *Cadoceras*-ს იშვიათად, მაგრამ მაინც წარმოექმნება U^5 , რომელიც თავის მხრივ იყოფა ორ სიმეტრიულ უბედ $U_1^1:U_1^1$.

გვარ *Quenstedtoceras*-ის წარმომადგენლები, ტიხრის ხაზის განვითარებისას, კადოცერატინების სხვა წარმომადგენლების მსგავსნი არიან და, როგორც ჩანს, გენეტიკურად არიან მათთან დაკავშირებულნი. ამის გამო ეს გვარი შეყვანილია ქვეოჯახ *Cadoceratinae*-ს შემადგენლობაში.

STUDY ON THE ONTOGENETIC DEVELOPMENT OF SUTURE OF CADOCERATINAE

T. A. LOMINADZE

Institute of Paleobiology, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

A comprehensive study has been made on the suture ontogenesis in the genera of *Cadoceras*, *Pseudocadoceras* and *Quenstedtoceras*. The absolute identity in the development of suture up to the stages $(V_1V_1)(U_2U_1U_2)U^1U^2U_1^1U_2^1U_1^2U_2^2U_1^1U_2^1U_1^2U_2^2$ was shown to be typical for these genera. Differences were observed only at ultimate stages. In both *Quenstedtoceras* and *Pseudocadoceras* the process of suture complication completes at the moment of the appearance of lobe U^4 . In *Cadoceras* and *Longaeviceras* this lobe is divided into two symmetrical lobes $U_1^1:U_1^1$. As far as *Cadoceras* is concerned, there appears, though seldom, lobe U^5 , which, in its turn, is divided into two symmetrical lobes $U_1^1:U_1^1$.

The absolute resemblance in the composition of elements of the suture in the genus *Quenstedtoceras* with other representatives of *Cadoceratinae* is indicative of their genetical proximity. On these grounds the genus *Quenstedtoceras* is included in the subfamily of *Cadoceratinae*.

УДК — 581.412:581.524.44

ЭКОЛОГИЯ

НЕКОТОРЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ СРАВНИТЕЛЬНО-ГЕОГРАФИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ ЭКОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ РАСТИТЕЛЬНОСТИ

В. Н. Голубев

Никитский ботанический сад ВАСХНИЛ, Ялта

Поступила в редакцию 9.8.1976

Обосновывается необходимость унификации эколого-биологической информации и представления ее в виде количественного состава по элементарным признакам компонентов. По намеченной программе изучаются все виды сообщества. Большое значение имеют специальные интегральные характеристики: кривые цветения, плодоношения, диссеминации, основанные на подекадных суммах видов по трем составляющим каждой фенофазы, а также состав фитоценозов по продолжительности цветения, плодоношения и диссеминации. Динамические признаки отобраны по принципу наибольшей экологической чувствительности. Приведен ряд статических признаков, выявляющих морфологическую и экологическую структуры ценозов как основу для сравнения их в географическом аспекте.

Структура и функциональные свойства растительных сообществ определяются эколого-биологическими особенностями их компонентов, степенью количественного развития видов и распределением по площади. Роль эколого-биологических показателей для характеристики фитоценозов в полной мере еще не оценена, хотя попытки выявления состава морфобиоцено типов некоторых таксонов растительности предпринимались неоднократно [12—10]. Значительный биоэкологический материал приводится в фенологических спектрах растительных сообществ, составленных по методике А. П. Шенникова [13]. Однако аналитический характер феноспектров не выявляет количественных характеристик ценозов по тем или иным признакам сезонного развития растений — они составляют резерв эколого-биологической информации, который путем соответствующей трансформации [6] может быть использован для количественной оценки сообществ. Большими возможностями для познания фитоценозов обладает комплексное морфофизиологическое изучение видов [8, 9].

В своих эколого-биологических исследованиях компонентов разных зональных типов растительности [1, 2, 5] мы стремимся унифицировать, расширить, сделать репрезентативным количественный анализ состава ценоэкобиоморф. Существенным условием сравнимости количественных данных должно быть изучение полного видового состава фитоценозов, которое соблюдается очень редко.

Разработка единых принципов представления эколого-биологической информации о конкретных таксонах растительности крайне необходима в виду больших перспектив для всестороннего познания их в экологическом, фитоценогенетическом, классификационном отношении. До сих пор многочисленные таксоны растительности мы очень

слабо знаем эколого-биологически в строго количественном выражении, что позволило бы сравнивать данный таксон с другими и опосредованно, через эколого-биологический состав, выявлять экологическое своеобразие и вероятные пути генезиса растительных сообществ. Даже для основных зональных типов растительности такие количественные характеристики эколого-биологического состава весьма неполны, а часто и несопоставимы — из-за отсутствия единой основы в содержании признаков и в обработке исходного материала.

С обоснованием и апробацией линейной системы жизненных форм [3, 7] резко повышается определенность и идентичность эколого-биологического изучения компонентов растительных сообществ и расчет их количественных характеристик. Однако, вследствие очень большого числа учтенных в линейной системе экологических и биоморфологических признаков, а также из-за возможности дальнейшего возрастания их многообразия, значительно увеличивается объем количественных данных. В этой ситуации следует принимать во внимание по крайней мере два обстоятельства. Во-первых, чем больше привлекается приспособительных признаков растений, тем полнее и разносторонне выявляются связи растительности со средой обитания, устанавливаются экологические закономерности и природа фитоценозов, исторические пути их формирования и развития. Во-вторых, по мере совершенствования интегрального понимания жизненных форм путем обобщения, можно будет все более сокращать количество анализируемых признаков, повышая их информативную емкость. Путь синтеза эколого-биологических данных уже достаточно ясно наметился и можно ожидать в недалеком будущем существенный прогресс в этом направлении. Думается все же, что предлагаемый ниже объем эколого-биологической информации, для выявления которого по зональным и поясным типам растительности следует сосредоточить усилия, не является избыточным даже в том случае, если затем будут выделены интегральные типы экобиоморф с выпадением из них части учтенных признаков. Ведь только на базе многообразия изученных признаков возможна сама интеграция.

В комплексной ценоэкологической характеристике таксонов растительности представляется важным выявление систематической структуры флоры, состава по типам ареалов видов и фитоценотипам [11, 3]. В число последних входят характеристики растений и обобщенные данные состава сообществ по степени количественного развития (весу, проективному покрытию, численности), эдификаторной функции (эдификаторы, субэдификаторы, ассектаторы), встречаемости (по классам), эколого-фитоценотической принадлежности.

Говоря об эколого-биологических признаках для количественной характеристики растительности, надо различать среди них статические и динамические, аналитические и синтетические. Относительно статистические эколого-биологические признаки растений не подвержены четкому изменению под влиянием метеорологических условий данного года или незначительных вариаций эдафических факторов на площади данного таксона растительности. Таковы структура побегов и корневой системы, характер летнего и зимнего покоя, способ нарастания побегов и др. Динамические признаки чутко реагируют на погодные изменения сроками своего проявления (например ритмы цветения, плодоношения*, диссеминации). Элементарные признаки, фиксируемые

* Под плодоношением здесь подразумевается процесс завязывания и созревания плодов (и семян). За начало этой фазы принимается отцветание единичных цветков, что устанавливается по подвявшим венчикам, хотя бы у 2—3-х особей популяции дан-

у отдельных растений, носят аналитический характер, но представленные в виде состава видов в данном сообществе приобретают синтетическое (в фитоценотическом смысле) выражение. Специфическими синтетическими характеристиками являются кривые цветения, плодоношения, диссеминации ценозов, выведенные на основании трансформированного определенным образом состава сообщества по соответствующим показателям прохождения компонентами фенофаз [4].

В отборе и представлении признаков для количественной оценки сообществ особое внимание нами уделяется их чувствительности к экологическим особенностям развития растительности, к специфике метеорологических условий каждого года наблюдений. Для удовлетворения этого требования наступление фенофаз развития и временная фиксация других процессов и признаков проводятся с максимальной возможной точностью — в лучшем случае до одного дня. В целях реализации указанного требования предлагаются и особые формы обработки материала, в частности специальная методика составления кривых цветения [4]. По точным датам начала и конца цветения каждого вида ценоза рассчитываются подекадные суммы зацветающих, цветущих и отцветающих видов и вычерчиваются три кривые. Аналогично можно составлять кривые плодоношения, диссеминации и других фенофаз, для которых фиксируются сроки начала и конца. Эмпирические подекадные суммы за отдельные годы наблюдений могут иметь и самостоятельное значение, равноценное кривым цветения, плодоношения, диссеминации и др. По этим данным устанавливаются начало, конец и характер зацветания, цветения и отцветания видов сообщества (то же для плодоношения, диссеминации и др.), количество и особенности пиков в каждой кривой и их распределение во времени. За отдельные годы следует пользоваться эмпирическими подекадными суммами, которые обнаруживают более тесную связь с метеорологическими условиями данного года. Максимальные значения подекадных сумм и соответствующие подъемы кривых экологически весьма показательны и выявляют экологические оптимумы и пессимумы развития растительности.

При наличии фенонаблюдений за всеми видами ценоза с точной фиксацией дат начала и конца фенофаз цветения, плодоношения диссеминации и др. в течение ряда лет нужно выводить средние многолетние даты начала и конца отмечавшихся фаз и по ним рассчитывать эмпирические подекадные суммы, которые затем следует выравнивать методом скользящих средних по триадам. Такие выравненные суммы и вычерченные по ним кривые приобретают константный характер [2, 4], отражающий зональные закономерности экологических условий и развития растительности. Поэтому сопоставление константных кривых (цветения, плодоношения, диссеминации, вегетации, отмирания листьев на генеративных побегах и др.) надо проводить со среднемноголетними величинами осадков, температурного режима и др.

Весьма экологически значимыми оказались признаки длительности цветения, плодоношения и диссеминации. Нами выделяются три подгруппы видов по каждой из отмеченных фенофаз: коротко (до 1 месяца), средне (от 1 до 2 месяцев) и длительно (свыше 2 месяцев) (короткоцветущие, короткоплодоносящие, короткообсеменяющиеся и

ного вида. За кснец фазы принимается время полного созревания плодов у всех особей, за исключением 2—3-х, у которых плоды находятся в приспевающем состоянии. К этому времени большинство или часть зрелых плодов может опасть.

ტ. დ.). При расчете длительности указанных фаз растений надо пользоваться их среднемноголетними показателями. Тогда каждый вид сообщества найдет для себя единственное место в классах длительности цветения, плодоношения, диссеминации.

Помимо рассмотренного, мы рекомендуем рассчитывать количественные характеристики состава сообществ по основным биоморфам, структуре корневых систем и надземных побегов, способу сочленения монокарпических побегов и их нарастания, количеству генераций листьев и побегов в течение вегетации, длительности вегетации, способу перезимовки, характеру летнего и зимнего покоя, степени сформированности побегов будущего года в почках возобновления [12], типу почек возобновления [12], специальной форме вегетативного размножения, цикличности развития монокарпических побегов и растений, ритмам цветения, плодоношения, диссеминации, способу опыления и распространения плодов и семян, отношению растений к водному и тепловому режимам, степени богатства почв, освещенности и пр. [1, 2, 3, 7]. Указанные признаки характеризуют структурно-экологические особенности растений, основные этапы сезонного развития, обуславливающие структурно-функциональные черты растительности, ритмику ее сезонного развития. Рассчитанные количественные характеристики эколого-биологического состава сообществ создают надежную основу для сравнительно-географического их изучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Голубев В. Н. Тр. Центр.-Черноземн. госзаповедника, 7, Воронеж, 1962, 1—511.
2. Голубев В. Н. Эколого-биологические особенности травянистых растений и растительных сообществ лесостепи, «Наука», М., 1965, 1—288.
3. Голубев В. Н. Бот. ж., 53, 8, 1085—1093, 1968.
4. Голубев В. Н. Бюлл. МОИП, отд. биол., 74, 2, 90—97, 1969.
5. Голубев В. Н. Бюлл. Гос. Никитского бот. сада, 1(15), Ялта, 5—10, 1971.
6. Голубев В. Н. В кн.: Теоретические вопросы фитоиндикации, «Наука», Л., 1971, 132—137.
7. Голубев В. Н. Бюлл. МОИП, отд. биол., 77, 6, 72—80, 1972.
8. Нахуцришвили Г. Ш. Экология высокогорных травянистых растений и фитоценозов Центрального Кавказа, Водный режим, «Мецниереба», Тбилиси, 1971, 1—200.
9. Нахуцришвили Г. Ш. Экология высокогорных растений и фитоценозов Центрального Кавказа. Ритмика развития, фотосинтез, экобиомсрфы, «Мецниереба», Тбилиси, 1974, 1—193.
10. Овчинников П. Н. Флора и растительность ущелья реки Варзоб, «Наука», Л., 1971.
11. Понятовская В. М. Полевая геоботаника, «Наука», М.—Л., 3, 209—299, 1964.
12. Серебряков И. Г. Вестник МГУ, 6, 75—108, 1974.
13. Шенников А. П. Тр. Вологодск. обл. с.-х. опытн. станции, 2, 1928, 1—22.

ზოგადი მეთოდური საკითხი მცენარეულობის ეკოლოგო-
ბიოლოგიური თავისებურების შედარებით-გეოგრაფიული
შესწავლის შესახებ

3. გოლუბევი

ნიკიტის ბოტანიკურა ბაღი, იალტა

რ ე ზ ი მ ე

დასაბუთებულია ეკოლოგო-ბიოლოგიური ინფორმაციის უნიფიკაციის
აუცილებლობა და მისი თანასაზოგადოების ოდენობრივი შედგენილობის სახით

წარმოდგენა სახეობათა ელემენტარულ ნიშნების მიხედვით, რომელთა რაოდენობა უნდა იყოს სრული. დიდი მნიშვნელობა აქვს სპეციალურ ინტეგრალურ დახასიათებას: ყვავილობის მრუდეები, ნაყოფობა, თესვაცვენა, დეკადების მიხედვით. სახეობათა საერთო რიცხვზე დაყრდნობით და აგრეთვე ფიტოცენოზების შედგენილობა ყველა კომპონენტისათვის შემოხსენებული სამი ფენოფაზის ხანგრძლივობის მიხედვით. დინამიური ნიშნები შეირჩევა უმაღლესი ეკოლოგიური მგრძობელობის მიხედვით. დინამიურ ნიშნებთან ერთად მოყვანილია თანასაზოგადოების მორფო-ეკოლოგიური სტრუქტურის გამომხატველი სტატისტიკური ნიშნები, როგორც საფუძველი მათი გეოგრაფიულ ასპექტში შედარებისათვის.

SOME METHODOLOGICAL PROBLEMS OF COMPARATIVE-GEOGRAPHIC STUDY OF ECOLOGO-BIOLOGICAL PECULIARITIES OF VEGETATION

V. N. GOLUBEV

Nikitin Botanical Gardens, Yalta, USSR

S u m m a r y

The necessity of unification of ecologo-biological information and its presentation as quantitative composition of communities by elementary characters of species, the amount of which should be rather complete, is substantiated. Special integral characteristics are of great importance: curves of blooming, fruit-bearing, dissemination, based on ten-day sums of the species, as well as composition of the phytocoenoses in terms of the duration of the above three phenophases of all components. The dynamic characters are selected according to the highest ecological sensibility.

A number of static features are presented, which, together with the dynamic ones, reveal the morpho-ecological structure of the communities as a basis for comparing them in the geographical light.

УДК — 616.981.49:616.927.7

МИКРОБИОЛОГИЯ

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ САЛЬМОНЕЛЛ С КУЛЬТУРАМИ КЛЕТОК

Л. М. Надирадзе, Л. Л. Дзоценидзе, М. В. Бибинейшвили

Тбилисский государственный медицинский институт

Поступила в редакцию 12.11.1976

В настоящей работе были изучены некоторые биологические свойства сальмонелл, выделенных от больных с тифо-паратифозной инфекцией, инвазионные свойства микробов в клеточных культурах, реакция клеточных культур на инвазию и морфологию сальмонелл, а также действие специфической иммунной сыворотки, комплемента и левомицетина на внутриклеточные и внеклеточные формы микробов.

Для изучения поставленных вопросов применяли перевивание культуры клеток HEp-2, амниотические FL клетки. Для заражения клеток применяли свежевыделенные сальмонеллы (8 штаммов).

Исследования показали, что свежевыделенные штаммы сальмонелл активно проникают в клетки культуры тканей, но под воздействием специфической иммунной сыворотки, левомицетина и комплемента претерпевают глубокие морфологические изменения.

На основании современных представлений одним из основных звеньев патогенеза тифо-паратифозной инфекции является патогенность сальмонелл инвазировать и размножаться в эпителиальных клетках слизистой оболочки кишечника.

Подтверждением этого является ряд работ, доказывающих внутриклеточное развитие сальмонелл как *in vivo*, так и *in vitro* [3, 4, 6, 2, 5].

В последнее время большое внимание уделяется изучению и раскрытию патогенного действия бактерий. Несмотря на отдельные успехи в этой области, следует признать, что многие стороны проявления патогенных свойств возбудителя в условиях макроорганизма остаются далеко неясными [7, 4, 6], поскольку изучение инфекционного процесса в многоклеточном организме крайне затруднено (ввиду непрерывного характера его обмена и других причин). В связи с этим, изучение взаимодействия возбудителя и хозяина в упрощенных живых системах (клеточных культурах) представляет большой интерес, так как эта биологическая модель, с одной стороны приближает эксперимент к условиям макроорганизма, с другой — дает возможность изучить влияние антибиотиков и других биологически активных веществ на развитие внутри- и внеклеточных сальмонелл.

В ряде экспериментальных работ доказана возможность длительного существования и персистирования возбудителей дизентерий и сальмонелл в культуре клеток человека и животных [4, 6, 2]. Менее изучены процессы комбинированного влияния антибиотиков и специфических сывороток на сальмонеллы совместно с комплементом в питательной среде, в которой развивается культура клеток. Все эти вопросы имеют важное значение в связи с разработкой проблемы бактерионосительства, его специфической профилактики и терапии.

Задача настоящего исследования заключалась в изучении некоторых биологических свойств сальмонелл, выделенных от больных в остром периоде заболевания: инвазионные свойства, реакция клеточных культур на инвазию сальмонелл и комбинированное действие специфической иммунной сыворотки, комплемента и левомицетина на внутриклеточные и внеклеточные сальмонеллы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использованы перевиваемые культуры клеток HEp-2, Hela, амниотические (FL), клетки почки человека (RH). Клетки культивировали в 199 среде с 10% сыворотки крупного рогатого скота, 100 ед. пенициллина и 50 ед. стрептомицина. Культивирование проводили на протяжении 5—6 дней в термостате при 37°C без смены питательной среды. Затем клетки снимали с матраца при помощи 0,03%-ного раствора версена, и, после подсчета в камере Горяева, разливали по сосудам разной емкости — в зависимости от характера опыта. За день до заражения в матрацах и в пробирках с клетками, растущими на покровных стеклах, питательную среду заменяли на 199 среду без антибиотиков. Для заражения использовали 18-часовую культуру сальмонелл, взвешенных в 199 среде. В каждую пробирку вносили по 10 млн. мт. Всего было изучено 8 штаммов, выделенных от больных брюшным тифом и паратифом в остром периоде заболевания (*S. typhi* № 18430; № 6406; № 4812; № 3081; № 2665; № 4222, *S. paratyphi* «А» № 1949; *S. paratyphi* «В» № 1111). Все изученные культуры характеризовались типичными для брюшнотифозных и паратифозных микробов культурально-морфологическими, биохимическими и антигенными свойствами.

Способность сальмонелл и *E. coli* проникать и размножаться в клеточной культуре исследовали на 3—4-суточной культуре клеток по методу В. И. Бахуташвили [1]. Препараты для световой микроскопии окрашивали по Романовскому-Гимза. Для определения степени вирулентности сальмонелл через 8 ч после контакта с клетками подсчитывали количество инвазированных клеток на 1000 клеток монослоя и результат выражали в процентах.

Для изучения некоторых биологических свойств микробов через 8 ч после заражения клеточных культур сальмонеллами из сосудов удаляли старую питательную среду и добавляли свежую, содержащую 50 мг левомицетина, иммунную сыворотку против брюшного тифа или паратифа (разведение 1:10), имеющую высокие титры агглютининов (1:1800, 1:1600), и коммерческий комплемент (разведение 1:20).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Первые серии экспериментов были посвящены выяснению способности сальмонелл инвазировать клеточные культуры. Цитологическое изучение клеток, зараженных 10 штаммами кишечной палочки, показало, что они не проникали в клетки, не вызывали токсического действия и не разрушали клетки в течение 24 ч наблюдения. В то же время, свежевыделенные сальмонеллы от больных брюшным тифом и паратифом в разной интенсивности проникали в клетки, размножались в клеточных культурах (рис. 1, 2) и оказывали на них цитопатическое действие (таблица).

Из таблицы видно, что 8 свежевыделенных штаммов сальмонелл на различных перевиваемых клеточных культурах характеризовались

различной степенью инвазивности. При этом самыми чувствительными оказались клетки HEp-2 и FL и, поэтому, дальнейшие опыты были продолжены на этих клеточных культурах. 10 штаммов *E. coli* не инвазировали ни одну линию перевиваемых клеточных культур, из чего следует, что культура клеток является чувствительной моделью, позволяющей определить у сальмонелл инвазионные свойства.

Кроме того, наши исследования показали, что свежесвыделенные штаммы сальмонелл, которые размножались в условиях макроорганизма и вызывали инфекционный процесс, а при заражении тканевых культур — инвазию клеток, утрачивали свойство проникать и размножаться внутриклеточно после длительного хранения и культивирования на искусственных питательных средах. Это свойство является одним из наиболее важных, требующих дальнейшего разрешения, так как изучение этого вопроса должно выявить механизм проникновения сальмонелл в клетку. Как известно, для внутриклеточного размножения, инфекционный агент должен преодолеть клеточную оболочку, которая относительно непроницаема даже для молекул умеренной величины, поэтому механизм, при помощи которого инфекционный агент проходит через клеточную мембрану, является важным фактором в комплексе свойств, определяющих вирулентность микроба и позволяющих последнему размножаться внутриклеточно. Таким образом, было выяснено, что существуют какие-то механизмы, обеспечивающие проникновение вирулентных штаммов в клетку.

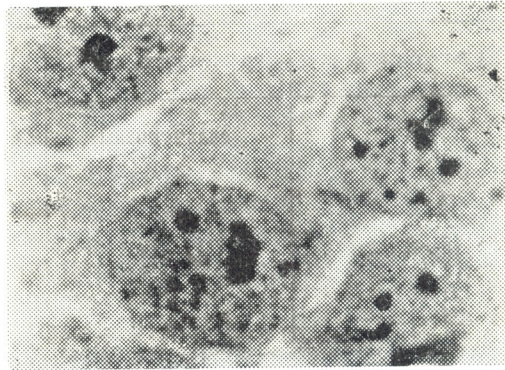


Рис. 1. Культура клеток HEp-2, зараженная кишечной палочкой, выделенной от больных брюшным тифом

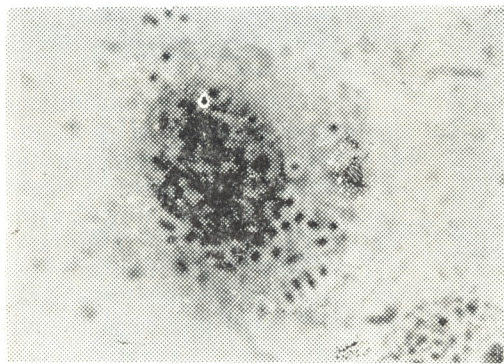


Рис. 2. Культура клеток HEp-2 через 6 ч после заражения сальмонеллами паратифа „В“

Этим механизмом может осуществляться фагоцитоз. Поэтому для подтверждения этого предположения клетки культуры тканей FL и HEp-2 заражались кишечной палочкой (*E. coli*), выделенной от больных брюшным тифом. Оказалось, что эти клетки неспособны осуществлять фагоцитоз кишечной палочки.

Результаты экспериментов показывают, что сальмонеллы, выделенные от больных, имеют своеобразный, пока еще не расшифрованный фактор или комплекс факторов, обеспечивающих этим микробам патогенность, способность проникать и размножаться в человеческих клетках. Это отличает их от лабораторных апатогенных штаммов саль-

монелл, а также от кишечных палочек, постоянно обитающих в кишечнике человека.

Таблица
Количественная характеристика инвазивности (вирулентности)
сальмонелл и *E. coli* на клеточных культурах

Культуры клеток	Зараженность клеток	Количество штаммов	Процент инвазивности
HEp-2	сальмонеллы	8	1—5
HeLa		8	2
FL		8	1—4
RH		8	до 1
HEp-2	<i>E. coli</i>	10	0
HeLa		10	0
FL		10	0
RH		10	0

В настоящее время очень мало известно о действиях антител, комплемента, антибиотиков на внутриклеточные и внеклеточные бактерии. Наши знания о механизме действия антибиотиков получены лишь на модели бактериальная клетка—антибиотик. Поэтому представляется

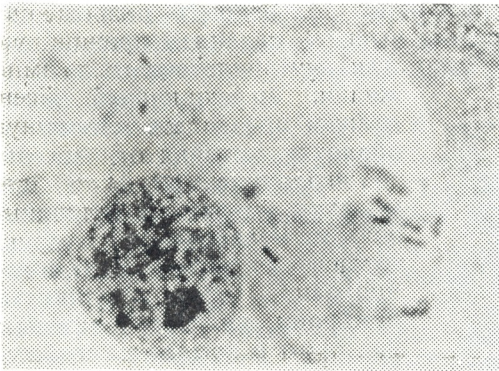


Рис. 3. Культура клеток HEp-2, зараженная сальмонеллами паратифа „В“ с добавлением левомицетина, комплемента и иммунной сыворотки

важным в экспериментах на клеточных культурах получить сведения относительно комбинированного действия иммунной сыворотки (против тифопаратифозных микробов), левомицетина и комплемента на сальмонеллы.

В опытах использованы культуры клетки HEp-2, выращенные в пробирках с покровными стеклами. Через различные сроки после заражения изучалась реакция клеток на внутриклеточные сальмонеллы внесением специфической иммунной сыворотки, комплемента, антибиотика. Микробы, находящиеся вне

клеток, окрашивались более интенсивно, не образовывали вокруг себя вакуоли и не находились в одной плоскости с ядром. Микробы считались внутриклеточными, если они находились в цитоплазме, внутри вакуоли, а при микроскопировании в одной плоскости с ядром и ядрышками. В это время над цитоплазмой терялось четкое изображение ядра и ядрышек, видны были одни микробы. Эти критерии являются очень важными при определении внутриклеточного нахождения возбудителя. Через 5—6 ч после добавления в питательную среду иммунной сыворотки, агглютининов, имеющих высокие титры (1:1800; 1:1600), левомицетина и комплемента, наблюдалось морфологическое изменение всех 8 штаммов сальмонелл. В первую очередь изменялись микробы, находящиеся вне клеток, отмечалась задержка их деления, они теряли четкую структуру, окрашивались более интенсивно, появлялись нитевидные, сферические формы бактерии (рис. 4а—4б). Цитологическое изучение пре-

паратов псказало, что в монослое клеточных культур в это время цитопатическое действие не происходило. Клетки сохраняли свою обычную форму, а в цитоплазме инвазированных клеток после размножения сальмонелл начиналась вакуолизация. Через 12 ч происходило разрушение монослоя клеточных культур, отслоение группы клеток, инвазированных микробами, и образование бляшек. Надо отметить, что такое явление наблюдалось лишь при комбинированном действии препаратов. В контрольных опытах, куда вносили отдельно сыворотку, содержащую противобрюшнотифозные антитела, левомицетин или комплемент не происходило разрушения зараженных клеток и образования бляшек. Таким образом, образование бляшек, вероятно, можно объяснить избирательным отслоением инвазированных клеток (рис. 3). Доказательством этого является то, что на месте образования бляшек остается какое-то количество разрушенных микробов, фиксированных на стекле.

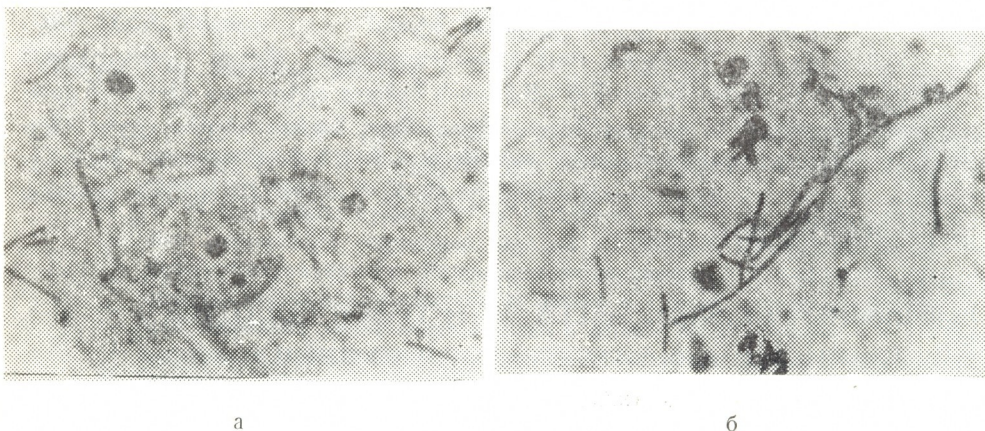


Рис. 4а, б. Динамика образования нитевидных форм сальмонелл в культуре клеток НЕр-2

Добавление специфической и иммунной сыворотки, левомицетина и комплемента на монослой, содержащий инвазированные сальмонеллами клетки, вызывает соединение антигена с антителом. По-видимому, это присоединение комплемента и левомицетина к антителам усугубляет литическое действие специфической сыворотки и приводит к образованию бляшек.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бахуташвили В. И. Лаб. дело, **11**, 683—685, 1967.
2. Билибин А. Ф., Тимаков В. Д., Бондаренко В. М., Иванова А. В. ЖМЭИ, **1**, 12—13, 1970.
3. Бондаренко В. М. ЖМЭИ, **7**, 65—67, 1967.
4. Бондаренко В. М. Автореф. канд. дисс., М., 1968.
5. Джапаридзе С. Қ., Бахуташвили В. И. В кн.: Современная инфекционная патология человека, «Медицина», М., 1972, 80—85.
6. Кикнадзе Г. П., Бахуташвили В. И., Мерабишвили Д. Г. Матер. юбилейного II съезда Респ. научно-медицинского общества эпидемиологов ГССР, Тбилиси, 1970, 152—154.
7. Courany M., Kendrick G. Infect. Dis., **116**, 495—498, 1966.

სალმონელის ურთიერთმოქმედება უჯრედის კულტურასთან

ლ. ნადირაძე, ლ. ძოჭენიძე, მ. ბიბინეიშვილი

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო ინსტიტუტი

რ ე ზ ი უ მ ე

გამოკვლევის მიზანი იყო შეგვესწავლა: მუცლის ტიფითა და პარატიფით დაავადებული ავადმყოფებიდან გამოყოფილი სალმონელების ზოგიერთი ბიოლოგიური თვისება. კერძოდ, სალმონელების ინვაზიურობა უჯრედის კულტურაში, უჯრედის კულტურის გავლენა სალმონელების მორფოლოგიაზე და სპეციფიკური იმუნური შრატის, კომპლემენტისა და ლევომიციტინის მოქმედება უჯრედშიდა და უჯრედგარე სალმონელებზე.

საკითხის შესასწავლად გამოვიყენეთ გადასათესი უჯრედული კულტურა HEP-2 და FL. უჯრედებს ვასნებოვნებდით ავადმყოფებიდან ახლადგამოყოფილი სალმონელებით. სულ შევისწავლეთ 21 შტამი.

გამოკვლევებმა გვიჩვენა, რომ ავადმყოფებიდან ახლად გამოყოფილი სალმონელები დასნებოვნებიდან 6—8 საათის შემდეგ აქტიურად იჭრებიან ქსოვილოვანი კულტურის უჯრედებში და შლიან მათ, მაგრამ სპეციფიკური იმუნური შრატის, კომპლემენტისა და ლევომიციტინის ზემოქმედებით მნიშვნელოვნად იცვლებიან მორფოლოგიურად, კერძოდ, იღებენ ძაფისებურ ფორმას და კარგავენ ინვაზიის უნარს.

INTERACTION OF SALMONELLA WITH TISSUE CULTURES

L. M. NADIRADZE, L. L. DZOTSENIDZE, M. V. BIBINEISHVILI

State Medical Institute, Tbilisi, USSR

Summary

Invasion properties of Salmonella in tissue HEP-2 and FL cultures were studied. Fresh isolated pathogenic microbes (21 strains) penetrate actively the cell wall in tissue cultures. Under the influence of immune sera, complements and antibiotics, as well as after the contact with the cell morphological alterations of Salmonella are observed.

УДК 616—089.843

ИММУНОЛОГИЯ

СОСТАВ И КОНЦЕНТРАЦИЯ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И В НЕКОТОРЫХ ТКАНЯХ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ

И. И. Тимошук, Э. Я. Нацишвили, Э. Ч. Тевдорадзе,
О. В. Мгалоблишвили, Т. Н. Джапаридзе, Ц. Я. Гугушвили

*Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической хирургии
МЗ ГССР, Тбилиси*

Поступила в редакцию 23.8.1976

Представлены результаты изучения состава и концентрации свободных аминокислот в крови и зависимых тканях при трансплантации. Применяли гетеротопическую ауто- и аллопластику.

Эксперименты проведены на 74 здоровых собаках. Содержание свободных аминокислот определяли методом нисходящей распределительной хроматографии на бумаге. Результаты экспериментов показали, что гетеротопическая ауто- и аллопластика приводят к резкому повышению концентрации свободных аминокислот в крови в первые послеоперационные дни с последующим попеременным падением и повышением через равномерные промежутки времени и к снижению концентрации свободных аминокислот в заинтересованных тканях в основном за счет незаменимых.

Повышение концентрации свободных аминокислот в ауто- и аллотрансплантатах может служить дополнительным критерием активации распада и отмирания трансплантата.

Общезвестно, что пересадка органов и тканей приводит к развитию активного иммунитета, который обуславливает отторжение трансплантата на уровне органа, ткани или клетки. Наряду с этим, некоторые исследователи [10] считают, что посттрансплантационные реакции в известной мере детерминированы самой операционной травмой — повреждением тканей и нарушением структурной и функциональной целостности их гисто-гематических барьеров, следствием чего является усиление выхода белковых веществ и декомпенсация обменных процессов.

Исходя из сказанного, мы решили изучить в эксперименте белковые сдвиги, наступающие в организме после трансплантации.

Опыты проведены на беспородных собаках обоего пола весом 15—20 кг. Применяли гетеротопическую ауто- и аллопластику. Собак оперировали по поводу различного рода кардиопексий (диафрагмо-, оменто-пульмонокардиопексии) и пересадки свободного сегмента вены в искусственно создаваемый дефект кожи. У животных контрольной группы моделировали дефект кожи [3].

Всего проведено 148 операций на 74 собаках.

О белковых сдвигах судили по составу и концентрации свободных аминокислот в сыворотке крови и в некоторых тканях. Дело в том, что в соответствии с данными литературы внутриклеточная концентрация

и состав свободных аминокислот являются одними из первичных факторов контролирующих обновление белков [6, 12]. Кроме того свободные аминокислоты рассматриваются как предшественники ряда медиаторов, гормонов и других эндогенных физиологически активных веществ, принимающих непосредственное участие в формировании метаболической перестройки тканей на различных этапах умирания и оживления организма.

Подопытные животные для установления исходной концентрации свободных аминокислот обследовались до операции. В послеоперационном периоде содержание свободных аминокислот в крови исследовали в динамике (на 3, 5, 7, 10, 12, 14, 20, 25, 50, 75, 90-й день); в заинтересованных тканях — однократно: в тканях алловены — к моменту полного отторжения, то есть к 9—10-му дню, аутовены — на 12—14-й день.

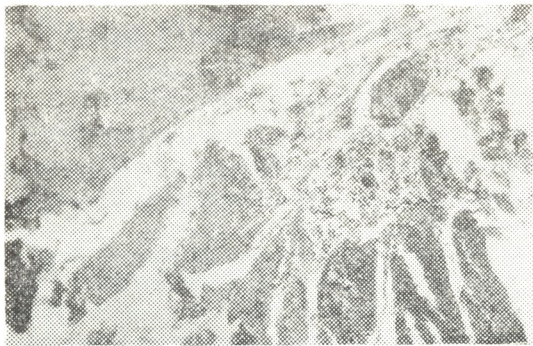


Рис. 1. Участок сращения сердечной мышцы и диафрагмального лоскута на ножке. Окраска гематоксилин-эозином, увеличение 120х

Исследование содержания свободных аминокислот проводилось качественно и количественно. В сыворотке крови содержание свободных аминокислот определяли методом нисходящей распределительной хроматографии на бумаге по Saini [13]. Для определения концентрации свободных аминокислот в тканях (кожа, вена, легкое, перикард, сердечная и диафрагмальная мышца, сальник) использовали метод Т. С. Пасхиной [9].

Условия и режим анализа во всех случаях строго соблюдались.

Концентрация свободных аминокислот определялась на приборе СФК-601 по предварительно построенным калибровочным кривым.

Полученный цифровой материал обрабатывался методами вариационной статистики в Вычислительном центре АН ГССР.

В серии экспериментов по кардиопексиям во всех случаях было получено приживление аутолоскутов. В серии опытов по трансплантации свободного сегмента вены в искусственно создаваемый дефект кожи приживления не наблюдалось. Однако аутокань во всех случаях обусловила первичное натяжение раневой поверхности, аллоткань на 8—9-й день отторгалась. У собак контрольной группы искусственно создаваемый дефект кожи через 2—2,5 месяца закрывался грубой рубцовой тканью. Отдаленное заживление кожи объясняется нами размерами дефекта 2×2 или 2×3 см и развитием осложнений в форме воспалительно-некротических процессов.

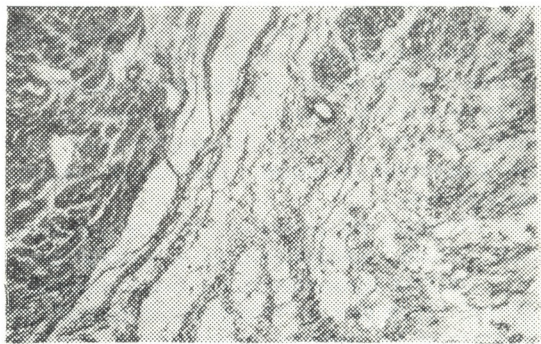


Рис. 2. Сращение сальника с сердечной мышцей. Окраска гематоксилин-эозином, увеличение 120х

Данные визуальных наблюдений были подтверждены результатами микроморфологических исследований (рис. 1—3).

Последовательность распределения аминокислот на хроматограммах от линии старта была следующей: цистин, лизин, гистидин, аргинин, глутамин¹, аспарагиновая кислота с серином, аланин, тирозин, триптофан, метионин с валином, фенилаланин и лейцин.

В табл. 1 представлена концентрация свободных аминокислот в крови и исследованных тканях до экспериментов. Как видно из таблицы, концентрация свободных аминокислот в тканях в наших случаях колебалась в довольно широких пределах в зависимости от характера ткани — от $19,65 \pm 2,41$ мг% до $132,80 \pm 4,02$ мг%. Так, самая низкая концентрация свободных аминокислот была отмечена в крови; порядок расположения остальных тканей в зависимости от степени возрастания концентрации был следующий — перикард, вена, сальник, легкое, кожа и сердечная мышца; наибольшей была концентрация свободных аминокислот в диафрагмальной мышце.



Рис. 3. Пограничная зона с резко выраженным воспалительным инфильтратом между сердечной мышцей и сегментом легкого. Окраска гематоксилин-эозином, увеличение 120 х

Таблица 1

Концентрация свободных аминокислот в тканях собак до трансплантации

Аминокислота	Концентрация свободных аминокислот в мг% (М) в							
	крови n=21	коже n=10	серд. мышце n=10	вене n=10	диа- фрагме n=7	сальнике n=5	легком n=5	пери- карде n=5
Цистин	1,39	1,38	6,10	0,40	7,21	1,71	0,78	1,82
Лизин	0,98	1,86	2,54	1,00	1,78	0,88	3,90	1,90
Гистидин	2,67	3,91	19,72	3,34	13,08	1,90	2,82	0,87
Аргинин	1,44	4,80	15,62	0,60	9,53	0,86	5,76	1,80
Глутамин	2,35	9,08	5,63	0,56	6,51	—	0,02	1,80
Аспарагин+Серин	0,56	3,25	0,09	4,03	следы	1,15	0,04	1,12
Глицин	1,34	3,20	6,46	1,41	6,53	0,01	2,94	1,72
Глутамин+Треонин	0,70	1,71	6,65	1,00	6,71	2,80	0,88	4,19
Аланин	2,05	13,00	4,47	2,70	7,82	6,61	1,82	2,91
Тирозин	1,39	8,00	9,86	1,51	12,42	1,16	2,38	1,24
Триптофан	0,98	9,53	4,27	0,21	4,34	—	2,84	0,99
Метион+Валин	0,68	6,70	13,83	1,18	46,90	7,54	1,46	1,79
Фенилаланин	1,44	16,70	1,17	5,75	7,73	—	0,56	0,56
Лейцин	1,22	8,57	1,51	0,11	2,12	—	1,42	1,33
Суммарная кон- центрация амино- кислот	19,65	91,76	97,83	23,25	132,80	24,94	27,89	23,06

Концентрация незаменимых аминокислот в крови и во всех исследованных тканях превышала концентрацию заменимых. Причем, если

¹ Глутамин — амид глутаминовой кислоты.

в крови, в тканях вены, сальника и перикарда эта разница была значительной, то в ткани легкого, сердечной и диафрагмальной мышцах концентрация незаменимых аминокислот была вдвое выше концентрации заменимых.

В крови и тканях постоянно обнаруживались все анализируемые аминокислоты. Лишь в ткани сальника ни в одном случае не были выявлены такие аминокислоты, как глутамин, триптофан, фенилаланин и лейцин.

В результате гетеротопической ауто- и аллопластики в сыворотке крови наступали сдвиги со стороны концентрации изучаемых свободных аминокислот (табл. 2). Характерной особенностью динамики изменения концентрации свободных аминокислот в исследуемых состояниях является то обстоятельство, что в раннем послеоперационном периоде (3—5 дней) количество аминокислот в сыворотке крови резко повышается. Исключение составляют аргинин, глутамин и глицин, уровень которых, наоборот, снижается.

Несмотря на однонаправленность обнаруженных изменений, рост концентрации отдельных аминокислот происходил в различной степени. Так, в наибольшей степени повышалась концентрация фенилаланина, триптофана, тирозина, аланина, аспарагиновой кислоты с серином.

Далее оказалось, что через 5—7 дней после операции наблюдается существенный спад концентрации исследуемых аминокислот, в некоторых случаях ниже исходных показателей (в случае лизина, аргинина, глицина и лейцина).

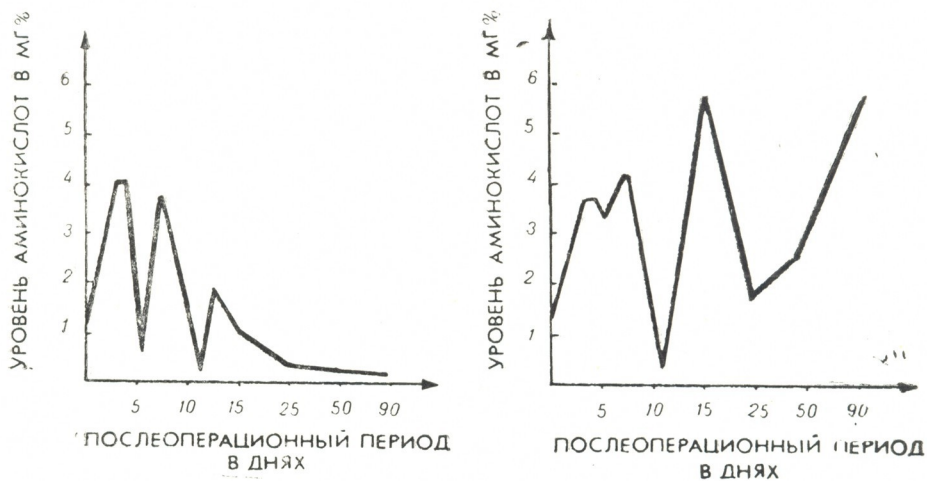


Рис. 4. Уровень цистина (слева) и фенилаланина в сыворотке крови собак в динамике послеоперационного периода

При сопоставлении данных за весь послеоперационный период (90 дней) обращает на себя внимание одинаковая картина динамики изменения концентрации свободных аминокислот — попеременное повышение и понижение через почти равномерные промежутки времени (5—10 дней). Причем в большинстве случаев к концу срока наблюдения концентрация аминокислот оказывалась значительно ниже исходной. Только в случае фенилаланина, гистидина, глицина и аспарагиновой кислоты с серином происходило их накопление (рис. 4, 5).

Повышение концентрации свободных аминокислот в сыворотке крови после операции наблюдалось и среди собак контрольной группы.

При изучении состава и уровня свободных аминокислот в тканях собак была получена следующая картина. После операции, как в тканях места пересадки (кожа, сердечная мышца), так и в тканях трансплантатов (диафрагмальная мышца, легкое, перикард, сальник) отмечалось резкое падение концентрации свободных аминокислот. Примечательно, что это снижение, в основном, шло за счет незаменимых аминокислот, таких как лизин, триптофан, фенилаланин, лейцин, и условно незаменимых — аргинин и гистидин. В сальнике снижение концентрации свободных аминокислот шло за счет условно незаменимой аминокислоты — гистидина и незаменимых аминокислот типа лизина, глутамин с треонином и метионина с валином, так как в сальнике и до операции не были выявлены такие незаменимые аминокислоты, как триптофан, фенилаланин, лейцин.

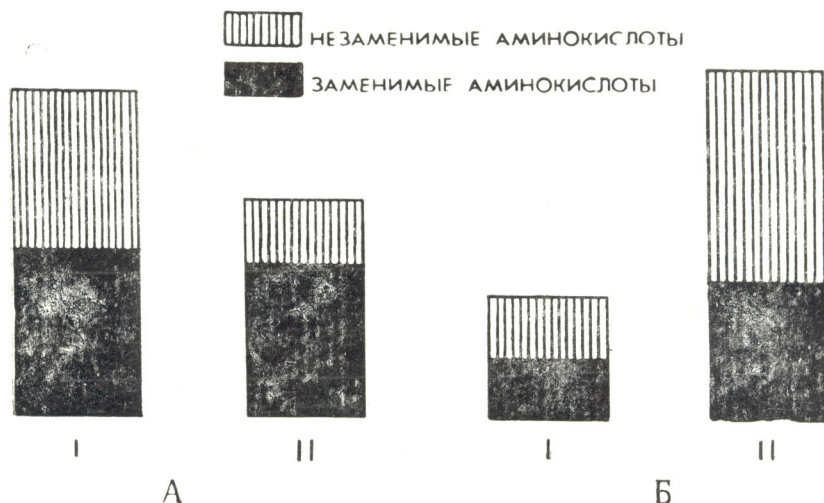


Рис. 5. Уровень заменимых и незаменимых аминокислот в ткани перикарда (А) и в ткани сегмента (Б) вены до (I) и после (II) трансплантации

В некоторых тканях (сердечная мышца, диафрагмальная мышца), наряду с падением концентрации незаменимых аминокислот, наблюдалось падение концентрации и заменимых аминокислот. Исключение составляет такая заменимая аминокислота как цистин, уровень которой повышался во всех случаях, независимо от характера операции.

Снижение концентрации свободных аминокислот в ткани (кожа) после операции имело место и среди животных контрольной группы.

Совершенно не укладывается в общую схему более или менее однонаправленных изменений данные изучения концентрации свободных аминокислот в ауто- и аллотканях лоскута вены. После трансплантации в дефект кожи в неприжившемся лоскуте ауто- и алловены наблюдалось накопление свободных аминокислот, в основном за счет незаменимых и условно незаменимых аминокислот типа лизина, глутамин, триптофана, метионина с валином, гистидина, аргинина, отчасти тирозина (рис. 3, 4). Приведенные данные статистически достоверны ($P < 0,001 - 0,01$).

Исследования подтвердили предполагаемое нами изменение содержания свободных аминокислот в организме подопытных животных после трансплантации. Как уже было отмечено, в первые после операции дни у подопытных животных отмечалось значительное повышение концентрации свободных аминокислот в крови.

Таблица 2

Концентрация свободных аминокислот в тканях собак после трансплантации

Аминокислота	Концентрация свободных аминокислот в мг% (М) после												
	ауто трансплантации в							аллотрансплантации в			моделирования де- фекта кожи в		
	крови n=18	коже n=10	серд. мышце n=10	вене n=10	дифр. мышце n=7	сальн. n=5	легк. n=5	перик. n=5	крови n=5	кожа n=5	вене n=5	крови n=5	кожа n=5
Цистин	1,18	2,30	12,83	1,52	10,20	3,99	1,85	5,22	3,32	2,83	1,41	0,26	2,13
Лизин	1,22	1,15	1,42	1,61	1,44	0,01	1,55	0,03	2,60	1,41	3,02	0,88	1,03
Гистидин	2,12	1,30	0,76	10,10	0,55	0,02	0,74	0,28	5,89	1,35	6,90	1,18	1,66
Аргинин	2,23	0,39	2,93	5,67	0,29	0,09	2,62	0,15	1,72	0,60	3,07	3,36	0,50
Глутамин	2,21	0,31	1,91	0,90	1,31	—	1,92	0,93	8,32	0,40	1,03	2,10	0,42
Аспарагин+Серин	1,99	2,40	5,23	9,11	1,73	0,37	1,74	0,60	0,39	2,43	5,90	2,83	2,73
Глицин	1,84	0,81	3,87	10,60	2,16	0,26	2,50	0,80	0,40	0,81	8,04	2,81	0,81
Глутамин+Треонин	0,77	1,30	0,86	6,75	3,31	0,27	0,88	3,30	4,90	1,71	5,40	0,93	1,17
Аланин	2,46	1,70	0,80	0,97	4,16	0,14	0,72	2,18	5,86	3,20	1,03	2,48	1,68
Тирозин	2,10	1,60	1,44	3,14	1,90	0,04	1,84	0,55	4,90	1,34	2,42	5,95	—
Триптофан	1,08	1,51	0,30	11,30	1,40	—	0,48	0,20	0,54	1,62	8,90	—	1,61
Метионин+валин	1,08	0,76	17,90	0,92	3,00	0,08	1,76	0,74	3,80	0,73	0,94	0,30	0,92
Фенилаланин	2,73	1,30	0,06	4,41	1,50	—	0,23	0,04	1,63	1,31	4,44	3,44	1,10
Лейцин	1,20	1,30	3,00	6,21	0,63	—	2,50	0,29	1,14	0,50	6,30	0,54	1,33
Суммарная кон- центрация амино- кислот	25,30	18,13	34,53	73,28	33,79	6,03	21,33	15,28	45,40	20,30	58,70	31,19	18,45
P<	0,01	0,01	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,01	0,001	0,01	0,001	0,01	0,001

Данные литературы свидетельствуют, что повышение уровня свободных аминокислот в крови наблюдается при различных патологических состояниях, например при инфаркте миокарда, лучевой болезни, травматическом шоке, системной дезорганизации соединительной ткани, различных поражениях печени [2, 5, 7]. Следовательно, повышение уровня свободных аминокислот в сыворотке крови не является специфичным для трансплантации, о чем свидетельствуют и данные наших контрольных экспериментов. Накопление свободных аминокислот в сыворотке крови после трансплантации можно рассматривать как проявление максимальной мобилизации защитных сил организма в данном случае неспецифического характера. Последующее снижение концентрации свободных аминокислот является естественным результатом их интенсивного расхода, сменяющегося дефицитом [4].

Снижение уровня свободных аминокислот в прижившихся тканях, в основном за счет незаменимых, возможно, обусловлено их интенсивным потреблением в процессе восстановления.

На этом фоне очень интересен факт повышения уровня свободных аминокислот в отторгнутой ткани свободного сегмента вены.

Это повышение может быть следствием активации распада, сопровождающего различные повреждения клетки, в данном случае — нарушения питания (гипоксии) в условиях неприживания и возможного ацидоза [1].

Результаты этой серии экспериментов полностью согласовываются с данными клинических и микроморфологических наблюдений.

Значительные затруднения возникали у нас при анализе возможных механизмов изменений концентрации свободных аминокислот, наблюдаемых в крови и тканях.

Известно, что при воздействии «стресс»-факторов («чрезвычайных раздражителей») одним из проявлений метаболической перестройки в организме является увеличение в крови катехоламинов за счет их высвобождения из надпочечников и окончаний симпатических нервов. Адреналин через сложную систему усиливает синтез кортикостероидов, которые в свою очередь снижают интенсивность включения аминокислот в тканевые белки [8, 11]. Большое значение в этом отношении имеет и физиологический статус барьерных гистогематических механизмов [10].

При трансплантации наиболее вероятными механизмами повышения концентрации свободных аминокислот в крови и снижения их в тканях нам представляются усиление процессов протеолиза, уменьшение утилизации и вымывание аминокислот из тканей вследствие воздействия «стресс»-факторов, каковыми могут быть сам процесс операции, более или менее обильная потеря крови и нарушение морфологической и функциональной целостности гистогематических барьеров (ослабление их основного свойства — селективной проницаемости для различных веществ). Эти механизмы, вероятно, обуславливают и сдвиги, наблюдаемые среди животных контрольной группы, так как и в этих случаях остается в силе действие таких факторов, как «стресс» и нарушение физиологического статуса тканей.

Хотя повышение концентрации свободных аминокислот в сыворотке крови имело место при ауто- и аллотрансплантации и в контроле, их максимальное накопление до $45,40 \pm 1,10$ мг% против $19,65 \pm 2,41$ мг% наблюдалось все же при использовании аллогенной ткани. Можно предположить, что в аллогенной системе действует дополнительный «стресс»-фактор — антигенные различия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адо А. Д. Вестник АМН СССР, 3, 27—36, 1972.
2. Белавина Л. П., Блохина В. Д., Романцев Е. Ф. Радиобиология, 6, 724—727, 1966.
3. Джапаридзе Т. Н., Мгалоблишвили О. В., Нациашвили Э. Я., Габуния У. А., Пагава Г. Д., Шейнина Л. И., Тимошук И. И., Кулиджанова Л. С. Тр. Ин-та хирургии МЗ ГССР, 1976.
4. Довганский А. П. В сб.: Шок и коллапс, «Карта молдовеняскэ», Кишинев, 1971, 68—75.
5. Зорькин А. А., Курцер Б. М., Довганский А. П. В сб.: Шок и коллапс, «Карта молдовеняскэ», Кишинев, 1971, 83—91.
6. Капланский С. Я. Вестник АМН СССР, 9, 10—14, 1962.
7. Кобылянский Л. Н. Автореф. канд. дисс., Кишинев, 1971, 16—18.
8. Labogi N. Регуляция обменных процессов, «Медицина», М., 1970, 308—345.
9. Пасхина Т. С. Биохимические методы исследования, «Медиздат», М., 1963, 72—86.
10. Сергеев П. В., Чистяков В. А., Кострыкин В. И. Актуальные проблемы пересадки органов, «Медицина», М., 1969, 119—146.
11. Cannon W. B. Traumatic Shock, N. Y., L. Univ. Press, 1943.
12. Hanking G. M. Trans. Acad. Sci., 34, 6—10, 1972.
13. Saini. Clin. Chim. Acta., 31, 479—485, 1971.

თავისუფალი ამინომჟავების შემადგენლობა და კონცენტრაცია სისხლის ურატში და ზოგიერთ ქსოვილში სხვადასხვა სახის ქსოვილის ტრანსპლანტაციის დროს

ი. ტიმოფევი, ე. ნაციაშვილი, ე. თევდორაძე, ი. მგალობლიშვილი, თ. ჯაფარიძე, ც. გუგუშვილი

საქართველოს ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს ექსპერიმენტული და კლინიკური ქირურგიის სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

ნაშრომში აღწერილია სისხლში და ზოგიერთ ქსოვილში თავისუფალი ამინომჟავების შემადგენლობის და კონცენტრაციის შესწავლის შედეგები ვენის თავისუფალი სეგმენტის, ფილტვის, დიაფრაგმის, კუნთისა და ბადექონის ქსოვილების ნაჭრების ტრანსპლანტაციის დროს. ცდები ჩატარდა 74 ძალზე ჰეტეროტოპული აუტო- და ალოპლასტიკის გამოყენებით.

ცდების შედეგად აღმოჩნდა, რომ ჰეტეროტოპული აუტო- და ალოპლასტიკის დროს, სისხლში თავისუფალი ამინომჟავების კონცენტრაცია მკვეთრად მატულობს ოპერაციის პირველ დღეებში. ოპერაციის მომდევნო პერიოდში, დროის თანაბარ მონაკვეთებში, ხდება ამინომჟავების დაკლების და შემდგომი მატების კანონზომიერი მონაცვლეობა.

ტრანსპლანტატში და მის ირგვლივ უშუალო კონტაქტში მყოფ ქსოვილებში თავისუფალი ამინომჟავების კონცენტრაცია, ტრანსპლანტატის შეზრდის შემთხვევაში, კლებულობს უპირატესად შეუცვლელი ამინომჟავების ხარჯზე.

თავისუფალი ამინომჟავების კონცენტრაციის მომატება ჰეტეროტოპულ აუტო- და ალოტრანსპლანტატებში შესაძლოა გამოყენებულ იქნას როგორც დამატებითი ნაადრევი კრიტერიუმი იმის გასარკვევად, თუ რამდენად აქტივდება ტრანსპლანტატში დაშლილი პროცესები და შემდეგ ხდება თვით ტრანსპლანტატის დაღუპვა.

COMPOSITION AND CONCENTRATION OF FREE AMINO ACIDS IN BLOOD SERUM AND IN SOME TISSUES DURING TRANSPLANTATION

I. I. TIMOSHCHUK, A. J. NATSIASHVILI, E. Ch. TEVDORADZE, O. V. MGALOBLI-
SHVILI, T. N. DGAPARIDZE, Ts. J. GUGUSHVILI

Institute of Experimental and Clinical Surgery, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

The results obtained in studies of the composition and concentration of free amino acids in blood and in the concerned tissues during transplantation are considered. Heterotopic auto- and alloplasty were used. The experiments were performed on 74 healthy dogs. The content of free amino acids was determined by the method of descending distributing paper chromatography.

The experimental results have demonstrated that heterotopic auto- and alloplasty result in a sharp rise of free amino acid concentration in blood in the first postoperation days with a subsequent fall and rise alternately and in a decrease of free amino acid concentration in the concerned tissues at the expense of irreparable acids.

The increase in free amino acid concentration in auto- and allotransplantates may serve as an additional criterion for the activation of decay and transplant rejection.

УДК 612.42.017.1

ИММУНОЛОГИЯ

ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ГУМОРАЛЬНОГО ФАКТОРА АКТИВИРОВАННЫМИ ЛИМФОЦИТАМИ

С. А. Ригвава, Д. Р. Каулен, Е. Б. Мысякин, Т. А. Голованова

НИИ вакцин и сывороток МЗ СССР, Тбилиси, ИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи АМН
СССР, Москва

Поступила в редакцию 19.10.1976

Клетки тимуса сингенных доноров, обработанные антилимфоцитарным глобулином (АЛГ) *in vitro*, высвобождают в среду гуморальный фактор, угнетающий способность стволовых гемопоэтических клеток образовывать кроветворные колонии в селезенках смертельно облученных (830 рад) мышей. Активность высвобождаемого лимфоцитами фактора ингибиции стволовых клеток (ФИСК) нарастает во времени, достигая максимума к 12 ч культивирования, а через 24 ч уровень его несколько снижается. ФИСК не высвобождается при культивировании активированных лимфоцитов при 4°C. Выделение ФИСК'а полностью ингибируется пуромицином. Предполагается, что ФИСК относится к группе медиаторов клеточного иммунитета типа лимфокинов.

Среди веществ, синтезирующихся в лимфоцитах на ранних этапах их активации, особый интерес представляет группа агентов, обладающая выраженной биологической активностью. Являясь в частности медиаторами ГЗТ, лимфокины, возможно, обеспечивают связь между клетками кроветворной и лимфоидной тканей в индукции образования антител. Однако химическая природа, условия образования, механизм действия и степень участия их в иммунологическом ответе остаются пока малоизученными. Обозначения лимфокинов строго соответствуют их биологическим эффектам; фактору ингибиции миграции макрофагов — МИФ [4], лимфотоксину — ЛТ [6], продукту антигенного распознавания — ПАР [10] и т. д. Лимфоциты, обработанные *in vitro* антилимфоцитарным глобулином (АЛГ), высвобождают в среду гуморальный фактор, угнетающий образование кроветворных колоний в селезенках смертельно облученных мышей [2, 8].

Обнаруженная активность в отношении стволовых кроветворных клеток по аналогии была обозначена как фактор ингибиции стволовых гемопоэтических клеток — ФИСК.

Целью настоящей работы явилось изучение кинетики высвобождения ФИСК'а лимфоцитами, активированными АЛГ, а также исследование влияния ингибиторов нуклеинового обмена и определенных температурных условий на динамику его высвобождения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опыты проводили на мышах линии СВА и гибридах первого поколения (СВА × С₅₇В1)F₁. АЛГ выделяли из антилимфоцитарной сыворотки, полученной путем иммунизации кроликов клетками тимуса

мышей линии СВА [1, 2]. Цитотоксический титр АЛГ соответствовал разведению 1:256—1:512, титр лейкоагглютинации был равен 1:1024. АЛГ хранили при температуре — 20°C без заметного падения активности в течение нескольких месяцев.

Для получения ФИСК'а лимфоциты в концентрации $40 \cdot 10^6$ кл/мл обрабатывали *in vitro* АЛГ в течение 30 мин при 37°C, затем клетки тщательно отмывали и инкубировали их в «чистой», безсывороточной среде в течение 40 мин при 37°C. Далее получали супернатант, содержащий фактор ингибиции стволовых клеток. Проведенный ранее иммунохимический анализ позволил исключить возможность наличия в супернатанте АЛГ, элиминированного с поверхности АЛГ-обработанных лимфоцитов [8].

В серии опытов по изучению динамики высвобождения ФИСК'а супернатант собирали через 30 мин, 2, 6, 12, 24 ч культивирования в «чистой» безсывороточной среде клеток тимуса, предварительно обработанных АЛГ (в концентрации 0,5 мг/мл). Пробы хранили при 4°C. Через сутки отбирали по 1 мл каждой пробы соответственно, и обрабатывали предназначенные для трансплантации клетки костного мозга (в количестве $2 \cdot 10^6$ кл/мл) сингенных доноров.

В работе использован метод клонирования стволовых кроветворных клеток [11]. Мышей облучали в дозе 830 рад и через 4 ч каждому реципиенту внутривенно инъецировали 10^5 клеток костного мозга, предварительно обработанных *in vitro* ФИСК'ом в течение 30 мин при 37°C и тщательно отмытых от него средой 199. Через 9 суток после трансплантации животных забивали, извлекали селезенки и фиксировали их в растворе Буэна. Подсчет макроскопически видимых колоний на поверхности органа производили после его фиксации.

В работе использован лиофилизированный коммерческий препарат пуромицина («Serva»), который *ex tempore* растворяли в среде 199 и доводили до нужной концентрации. При оценке различий между средними величинами применяли критерий Стьюдента, считая различия достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Внутривенная трансплантация взвеси клеток костного мозга, предварительно обработанных супернатантом, полученным в результате инкубации клеток тимуса сингенных доноров с нормальным глобулином кролика (НГК) в концентрации 5 мг/мл, вызывало в среднем образование 29,7 колоний на селезенку у летально облученных (830 рад) реципиентов. Аналогичная обработка взвеси клеток костного мозга ФИСК'ом (концентрация АЛГ 5 мг/мл) приводила к резкому снижению клонообразования (в среднем 3,9 очага на селезенку). При использовании для получения ФИСК'а меньших концентраций АЛГ (1 мг/мл и 0,5 мг/мл) также наблюдалось высвобождение гуморального фактора, но его ингибирующая активность была несколько ниже. Число гемопоэтических колоний при этом было 7,2—17,9 на селезенку (табл. 1).

Эксперименты по изучению динамики высвобождения ФИСК'а лимфоцитами, активированными АЛГ (в концентрации 0,5 мг/мл), показали, что выделение фактора нарастает во времени. Обработка клеток костного мозга ФИСК'ом, полученным после двухчасовой инкубации, приводит к резкому снижению гемопоэтических колоний в селезенках летально облученных мышей (в среднем 9,0 очагов на селезенку), тогда как ФИСК, полученный через 30 мин незначительно угнетает клонобразование (в среднем 22,4 очага на селезенку). Интенсив-

ность высвобождения ФИСК'а нарастает через 4, 6 ч и достигает своего максимального уровня к 12 ч инкубации. ФИСК, полученный через 12 ч инкубации, обладает наибольшей ингибиру-

Таблица

Влияние АЛГ и пуромидина на колониеобразующую способность стволовых гемопоэтических клеток

Вещ-во, используемое для обработки трансплантируемых клеток	Концентрация (мг/мл)	Число исследованных животных	Количество колоний на селезенку		
			Разброс	M ± m	P
АЛГ	0,05	28	0—4	1,71 ± 0,25	0,01
Супернатант АЛГ*	5	28	0—8	3,62 ± 0,44	0,01
”	1	23	3—13	7,26 ± 0,64	0,01
”	0,5	15	14—20	17,93 ± 0,6	0,01
Супернатант НГК	5	16	22—34	29,73 ± 0,68**	
Пуромидин	0,015	13	27—33	30,30 ± 0,56	
”	0,030	12	26—32	28,75 ± 0,55	
Клетки без обработки		11	27—33	29,81 ± 0,64	
Контроль облучения (эндоколонизация)		13	0	—	—

*—Супернатант—ФИСК, полученный после обработки клеток тимуса АЛГ

**—Достоверность (P) была рассчитана по отношению к этой группе

ющей активностью в отношении стволовых гемопоэтических клеток и падает через 24 ч. Контрольные супернатанты, полученные путем обработки клеток НГК, не были эффективны ни в одной из исследуемых временных точек (рисунок, кривая 1).

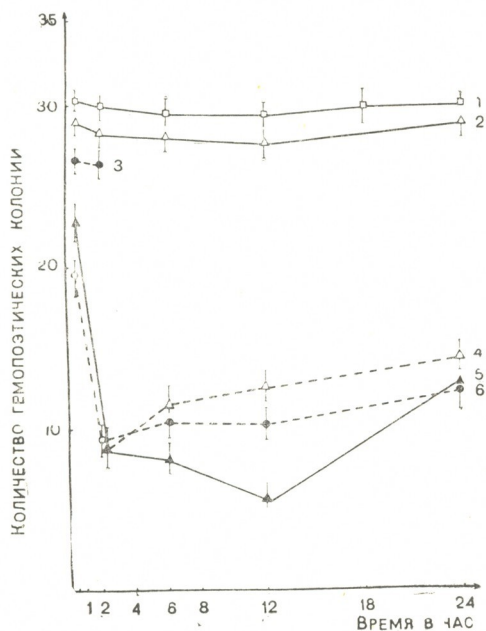


Рис. 1. Динамика высвобождения фактора ингибции стволовых клеток: 1—клетки тимуса, обработанные НГК 0,5 мг/мл; 2—клетки тимуса, обработанные АЛГ 0,5 мг/мл и инкубированные с пуромидином; 3—клетки тимуса, обработанные АЛГ 0,5 мг/мл и выдержанные на холоду (+4°C); 4—клетки тимуса, обработанные АЛГ 0,5 мг/мл в присутствии пуромидина после двухчасовой инкубации; 5—клетки тимуса, обработанные АЛГ 0,5 мг/мл и инкубированные при 37°C; 6—клетки тимуса, обработанные АЛГ 0,5 мг/мл и помещенные на холоду (+4°C) после двухчасовой инкубации при 37°C

Если после двухчасовой инкубации клетки находятся при температуре 4°C, то выделение ФИСК'а практически полностью прекращается и все последующее время инкубации остается на исходном уровне

(рисунок, кривая 6). ФИСК не выделяется клетками на холоду (рисунок, кривая 3).

Далее представляло интерес выяснение влияния ингибиторов нуклеинового обмена, в частности пурамицина, на активность процесса высвобождения ФИСК'а. Обработка клеток костного мозга, предназначенных для трансплантации, *in vitro* пурамицином (в концентрации 15, 30 *мкг/мл*) не была токсичной, ибо не влияла на колониеобразующую способность стволовых гемопоэтических клеток (таблица). Наличие пурамицина в культуральной среде сопровождается полным подавлением высвобождения ФИСК'а активированными лимфоцитами. Отсутствие пурамицина в течение двух часов культивирования приводило к резкому нарастанию высвобождения гуморального фактора, добавление же пурамицина в культуральную среду после двухчасовой инкубации полностью блокировало выделение ФИСК'а (рисунок, кривая 2 и 4).

Работы последних лет с очевидностью показали, что лимфоциты, активированные антигенами или митогенами, синтезируют спектр биологически активных веществ — лимфокинов, не являющихся антителами, различающихся по физико-химическим свойствам и играющих важную роль в реакциях клеточного иммунитета.

Известно, что АЛС, являясь выраженным иммунодепрессором, стимулирует процесс трансформации и пролиферации в коротко живущих культурах лимфоцитов и в этом отношении не уступает действию такого выраженного митогена как фитогемагглютинин (ФГА) [7]. Сходство в действии митогенов и АЛГ на лимфоциты выявляется также в их способности вызывать выделение в культуральную среду биологически активных веществ [9]. Так, стимулированные АЛГ лимфоциты высвобождают фактор ингибции стволовых клеток — ФИСК, который, вероятно, относится к лимфокинам [2, 8]. На основании представленных данных можно заключить, что интенсивность высвобождения ФИСК'а пропорциональна нагрузке АЛГ на лимфоидную клетку. При этом наиболее активный ФИСК был получен при обработке клеток АЛГ в концентрации 5 *мг/мл*, тогда как при снижении дозы АЛГ до 1 *мг/мл* и 0,5 *мг/мл* ингибирующая активность фактора заметно падала (таблица). Если учесть, что для обработки АЛГ всегда бралась постоянная концентрация клеток ($40 \cdot 10^6$ *кл/мл*) можно сделать два допущения: либо каждая клетка с увеличением нагрузки АЛГ высвобождает большое количество фактора, либо большие концентрации АЛГ вовлекают дополнительное число клеток (если для раздражения последней необходима некоторая критическая концентрация АЛГ).

Показано, что присутствие гуморальных факторов выявляется в культуральной среде уже после двух—трех часов культивирования (т. е. задолго до бласттрансформации и активации синтеза ДНК), их синтез продолжается в течение 2—4 дней культивирования даже при смене среды и обратимо ингибируется пурамицином и циклогексимидом [6, 12].

Известно, что для клеточных реакций типа бласттрансформации или подавления миграции макрофагов требуется непосредственный контакт лимфоцитов с антигеном. При этом если антиген растворим, достаточно 30 *мин* [5] или даже 10 *мин* [3] контакта для запуска бласттрансформации.

Поскольку столь кратковременная инкубация (30—40 *мин*) была уже достаточной для получения материала, активно ингибирующего

стволовые гемопоэтические клетки, то можно заключить, что это продукт, высвобождаемый лимфоцитами, а не синтезируемый ими *de novo*. Однако эксперименты по изучению активности процесса высвобождения ФИСК'а четко показали, что выделение фактора нарастает во времени и достигает максимума к 12 ч инкубации, а через 24 ч его активность в отношении стволовых клеток несколько снижается, но остается выше по сравнению с 40-минутной инкубацией. Более того, активность процесса высвобождения ФИСК'а в известной степени подтверждается полным прекращением его выделения в условиях низких температур, и что еще более существенно ингибируется пуромицином (рисунок, кривая 2).

Следует отметить, что в процессе культивирования клеток в безсывороточной среде уже через 6—12 ч наблюдается значительная гибель лимфоцитов, достигая 30—50% к 24 ч. Так как в культуральную среду поступают вещества клеточного метаболизма, а гибель клеток сопровождается высвобождением протеолитических ферментов, можно предположить, что за счет этого усиливается ингибирующая активность ФИСК'а. Однако аналогичная гибель клеток отмечалась при обработке их НГК, но полученные при этом супернатанты не обладали ингибирующей активностью (рисунок, кривая 1). Снижение активности ФИСК'а через 12 ч культивирования, вероятнее всего, вызвано разрушением последнего клеточными энзимами.

Естественно предположить, что в активированных лимфоцитах синтезируются одни и те же группы веществ независимо от причины, вызывающей активацию. Не исключено, что полученный нами фактор может быть сходен с другими растворимыми агентами, которые обнаруживаются в активированных лимфоцитах и определенным образом влияют на функцию лимфоидных клеток. Пока нельзя с уверенностью сказать, является ли ФИСК самостоятельным лимфокином или разновидностью уже известных в настоящее время гуморальных факторов, различная активность которых проявляется в разных экспериментальных условиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каулен Д. Р., Голованова Т. А. Вестник АМН СССР, 7, 33—41, 1970.
2. Каулен Д. Р., Голованова Т. А., Пятыхина Д. П., Хоробрых В. В. Бюлл. экпер. биол. и мед., 2, 64—67, 1974.
3. Caron G. A. Int. Arch. All. Appl. Imm., 32, 1, 98—103, 1967.
4. David J. R. Proc. Nat. Acad. Sci., 56, 72—77, 1966.
5. Eijssvoogel V. P., Du Bois G. J., Schelkens P. T., Van Loghem J. J. Trans. Proc., 1, 1, pt 2, 408—413, 1969.
6. Granger G. A., Williams T. W. Nature, 218, 1253—1254, 1968.
7. Humphrey L. J., Kauffman H. M., Dunn Jr. E. Science, 157, 471—473, 1969.
8. Kaulen D. R., Golovanova T. A., Pyatikhina D. P., Khorobrikh V. V. Folia Biolog. (Praha) 21, 95—102, 1975.
9. Lametin J. P., Vassalli P. Nature, 229, (5284) 426—428, 1971.
10. Ramseier H. J. Exp. Med., 130, 6, 1279—1284, 1969.
11. Till L. E., McCulloch E. A. Rad. Res., 14, 2, 213—222, 1961.
12. Ziegler F. G., Lohmann-Matthes M. L., Fisher H. Int. Arch. Allergy Appl. Immun., 48, 182—191, 1975.

აქტივირებული ლიმფოციტების მიერ ჰუმორული ფაქტორის
გამოყოფის დინამიკის შესწავლა

ს. რიგვავა, დ. კაულენი, ე. მისიაკინი, ტ. გოლოვანოვა

სსრკ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს თბილისის ვაქცინებისა და შრატების სამეცნიერო-
კვლევითი ინსტიტუტი,

სამედიცინო მეცნიერებათა აკადემიის ნ. გამაღვის სახელობის ეპიდემიოლოგიისა და
მიკრობიოლოგიის ინსტიტუტი, მოსკოვი

რ ე ზ ი უ მ ე

სინგენური დონორის თიმუსის უჯრედები, დამუშავებული ანტილიმფო-
ციტური გლობულინით, გარემოში გამოყოფენ ჰუმორულ ფაქტორს, რომელიც
აქვეითებს ღერულ ჰემოპოეზურ უჯრედთა უნარს, რომ ლეტალური დოზით
დასხივებული თავების ელენთაში წარმოშვან სისხლმბადი კოლონიები. ლიმ-
ფოციტების მიერ გამოყოფილ ღერულ უჯრედთა შემკავებელი ფაქტორის აქ-
ტივობა თანდათან მატულობს, მაქსიმუმს აღწევს 12 საათში, შემდეგ კი მისი
შემკავებლური უნარი რამდენადმე იკლებს. ღერულ უჯრედთა შემკავებელი
ფაქტორი არ გამოიყოფა თუ აქტივირებული უჯრედების კულტივირება მოხდა
4°C-ზე. პურომიცინის ზეგავლენით ეს ფაქტორი სრულეზით აღარ წარმოიქმნე-
ბა. გამოთქმულია მოსაზრება, რომ ღერულ უჯრედთა შემკავებელი ფაქტორი
უჯრედული იმუნიტეტის მედიატორთა ჯგუფს — ლიმფოკინებს მიეკუთვნება.

STUDY OF THE RELEASE OF THE LYMPHOCYTE ACTIVATED
HUMORAL FACTOR

S. A. RIGVAVA, D. R. KAULEN, E. B. MISYAKIN, T. A. GOLOVANOVA

The Tbilisi Institute of Vaccines and Sera, USSR Ministry of Health; N. F. Gamaleya
Institute of Epidemiology and Microbiology of the USSR Academy of Medical
Sciences, Moscow

Summary

Thymus cells of syngenic donors, treated with antilymphocytic globulin
(ALG) *in vitro*, release into the medium the humoral factor that depresses
the ability of stem hemopoietic cells to produce hemopoietic colonies in the
spleens of lethally irradiated mice (830 rad). The rate of activity of lympho-
cyte released factor of inhibition of stem cells (FISC) increases reaching its
maximum in 12 hours of cultivation and in 24 hours its level somewhat low-
ers. FISC is not released during the cultivation of activated lymphocytes at
4°C. The release of FISC is completely inhibited with puromycin. It is
supposed that FISC relates to the group of mediators of cell immunity of
the lymphocyte type.

УДК 577.3

БИОФИЗИКА

ВЛИЯНИЕ α -ТОКОФЕРОЛА НА ОКИСЛЕНИЕ ФОСФОЛИПИДОВ, ПРОМОТИРОВАННОЕ СИНГЛЕТНЫМ КИСЛОРОДОМ

М. Г. Меладзе, И. И. Иванов

Московский государственный университет

Поступила в редакцию 15.7.1976

Исследовалось фоточувствительное окисление α -токоферола в системах с различными временами жизни синглетного кислорода, а также окисление встроенного в лецитиновые липосомы токоферола в промотированной синглетным кислородом реакции перекисного окисления липидов. Показано, что при таком способе инициирования защита ненасыщенных жирных кислот α -токоферолом происходит, в основном, за счет его реакции с синглетным кислородом на начальной стадии реакции перекисления.

Ряд экспериментальных данных, полученных за последние годы, указывает, что ответственными за протекание множества патологических процессов в организме могут являться активированные формы кислорода: супероксидный анион радикал $\cdot\text{O}_2^-$ и синглетный кислород $^1\text{O}_2^*$ — в силу их высокой реакционной способности [6, 5]. С их действием связывается инициирование реакции перекисного окисления липидов в организме при ряде токсических воздействий [5, 2]. Наиболее подверженным субстратом действия $\cdot\text{C}_2^-$ и $^1\text{C}_2^*$ могут являться ненасыщенные липиды клеточных мембран. В связи с этим представляет интерес вопрос изучения возможных механизмов защиты мембранных липидов от окислительной деструкции, промотированной синглетным кислородом.

Известно, что α -токоферол является классическим биологическим липидным антиоксидантом. К настоящему времени считается установленным, что функция α -токоферола в реакции перекисного окисления липидов заключается в обрыве цепей путем взаимодействия со свободными радикалами ненасыщенных липидов [1, 4, 11]. Однако за последние годы [8, 7] было показано, что α -токоферол обладает способностью реагировать с синглетным кислородом [8, 7]. Таким образом, он, возможно, способен ингибировать перекисное окисление липидов на начальной стадии инициирования посредством тушения синглетного состояния кислорода.

В работе проведено исследование окисления α -токоферола в условиях фотодинамической деградации искусственных фосфолипидных мембран, промотированной синглетным кислородом, а также при окислении фосфолипидов в отсутствие генераторов синглетного кислорода.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В опытах использован препарат α -токоферола фирмы Calbiochem, USA. В качестве искусственных фосфолипидных мембран использо-

вали липосомы, приготовленные по методу Бэнгхем [3]. Хроматографический чистый лецитин получали из желтка куриных яиц по модифицированному методу Пенгборн [10]. Спектры люминесценции токоферола снимали на специально собранной установке. В качестве генератора синглетного кислорода использовали фоточувствительный краситель «Бенгальская роза», источником света служила лампа накаливания с йодным циклом мощности 150 Вт. Окисление липидов в отсутствие генераторов синглетного кислорода проводили при t 37°C. Протекание перекисного окисления липидов прослеживалось по накоплению диеновых конюгатов с увеличением поглощения при λ 232 — 234 мкм. Продукты окисления токоферола разделяли методом тонкослойной хроматографии.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При генерации $^1\text{O}_2$ в модельных мембранных системах наблюдается протекание перекисного окисления липидов (рис. 1, кривая а). Включение α -токоферола в липосомы в соотношениях 1:100 ТФ:ЛЕЦ приводит к снижению скорости перекисного окисления липидов. Ингибирующий эффект может быть вызван как действием токоферола в качестве тушителя синглетного кислорода на начальной стадии инициирования окисления, так и его способностью обрывать свободнорадикальную цепь переокисления липидов путем взаимодействия со свободными радикалами полиненасыщенных жирных кислот.

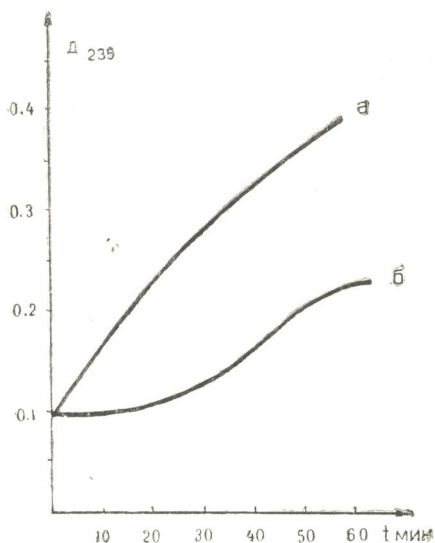


Рис. 1. Перекисное окисление лецитина в липосомах (а), в липосомах с токоферолом (б)

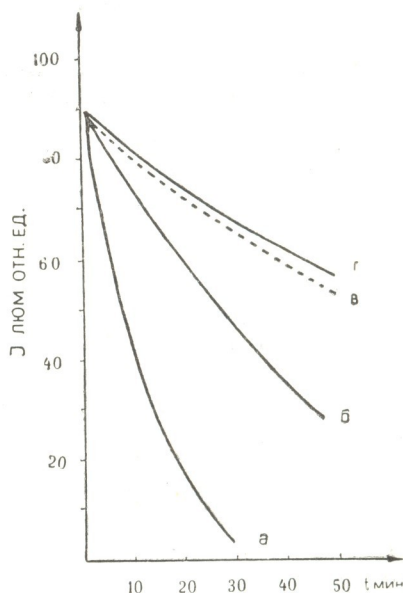


Рис. 2. Фоточувствительное окисление токоферола; (а)—в этаноле, (б) — в тяжелой воде; (в) — в липосомах; (г) — в воде

Для выяснения того, какой из двух механизмов является доминирующим в данной системе, нами было проведено сравнительное изучение скоростей окисления токоферола в средах, различающихся временами жизни синглетного кислорода, а также в дисперсии фосфолипидов. О скорости расходования токоферола судили по изменению интенсивности люминесценции (рис. 2, 3). Скорость фоточувствительного

окисления токоферола в тяжелой воде, где время жизни $^1\text{O}_2^*$ 20 мксек, гораздо больше, чем в обычной (время жизни $^1\text{C}_2^*$ 2 мксек). Однако эффект увеличения скорости окисления токоферола в тяжелой воде выражен в меньшей степени, чем можно было ожидать на основании сопоставления времен жизни $^1\text{C}_2^*$ в обычной и тяжелой воде. Так, например, в этаноле, где время жизни синглетного кислорода составляет 12 мксек токоферол окисляется гораздо быстрее, чем в дейтериевой

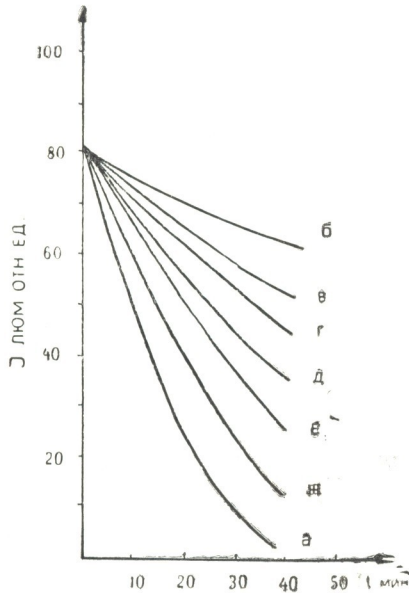


Рис. 3. Фоточувствительное окисление токоферола: (а) — в этаноле, (б) — в воде; соотношения этанол:вода (в)—80:20, (г)—60:40, (д) — 50:50, (е) — 40:60, (ж) — 20:80

реагировать с синглетным кислородом.

Разделение продуктов окисления α -токоферола в точном слое показало, что при окислении токоферола в присутствии в липосомах генераторов синглетного кислорода образуются лабильные продукты с R_f 0,71 и 0,80, имеющие максимум поглощения при 255—260 мк, тогда как в отсутствии в системе синглетного кислорода при ингибировании токоферолом перекисного окисления липидов образуется только токоферилхинон $\lambda_{\text{полг}}$ при 275 мк.

Картина тонкослойного хроматографирования продуктов фоточувствительного окисления токоферола в липосомах сходна с той, которая получена при окислении α -токоферола синглетным кислородом в метаноле, где по схеме, предложенной Гремсом [7], окисление токоферола происходит путем образования эндоперекисей, которые впоследствии дают характерные эпоксикетоны.

Приведенные выше результаты подтверждают сделанное предположение о том, что в основном защита липидов α -токоферолом при фотодинамическом окислении происходит за счет его реакции с синглетным кислородом на начальной стадии инициирования реакции перекисного окисления.

Это несоответствие, по-видимому, обусловлено различием агрегативных состояний токоферола в воде и в спирте. Наиболее отчетливо зависимость скорости окисления токоферола от времени жизни синглетного кислорода обнаруживается в опытах, где в качестве окружающей среды использованы различные соотношения этанола и воды, время жизни $^1\text{C}_2^*$ менялось от 2 до 12 мксек (рис. 3). Скорость окисления α -токоферола монотонно увеличивается с увеличением времени жизни O_2^* .

Скорость окисления токоферола, встроенного в липосомы синглетным кислородом, сходна со скоростью фотоокисления чистого токоферола в воде, т. е. в условиях, при которых в системе отсутствуют свободные радикалы.

Приведенные выше данные дают основание полагать, что уменьшение токоферола в липосомах в условиях фоточувствительного окисления обусловлено его свойствами

ЛИТЕРАТУРА

1. Кудряшев Б. А. Бюлл. экпер. биол. и мед., 3, 3, 302—305, 1937.
2. Anderson S. M., Krinsky N. I. Photochem. Photobiol., 18, 403—408, 1973.
3. Bangham A. D., Standisch M. M. J. Mol. Biol., 13, 253—259, 1965.
4. Foot C. S., Ta-Yen Shing, Geller G. G. Photochem. Photobiol., 21, 6, 511—517, 1974.
5. Foot C. S., Denny R. W. J. Am. Chem. Soc., 90, 6233—6235, 1968.
6. Fridovich L. J. Biol. Chem., 245, 16, 4053—4057, 1970.
7. Grams G. W., Inglett G. E. Lipids, 7, 7, 442—449, 1972.
8. Green J. A., Diplock T. Brit. J. Nutr., 21, 69, 1967.
9. Lucy J. J. A. Ann. N. Y. Acad. Sci., 203, 4, 1972.
10. Pangborn M. S. J. Biol. Chem., 188, 471—475, 1951.
11. Tappel A. L. Amer. J. Clin. Nutret., 23, 8, 1137—1141.

α -ტოკოფეროლის გავლენა სინგლეტური ჟანგბადით
პრომოტირებულ ფოსფოლიპიდების ჟანგვაზე

მ. მელაძე, ი. ივანოვი

მოსკოვის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილ იქნა α -ტოკოფეროლის ჟანგვის სიჩქარე სინგლეტური ჟანგბადის წარმოქმნელ სისტემებში. ნაჩვენებია, რომ α -ტოკოფეროლის ჟანგვის სიჩქარე მთლიანად არის დამოკიდებული მოცემულ სისტემაში $^1O_2^*$ -ის სიცოცხლის ხანგრძლივობაზე. α -ტოკოფეროლის ინჰიბიტორული გავლენა ლიპიდების ზეჟანგვაზე ასეთ სისტემებში ძირითადად ხდება ამ ნივთიერების $^1O_2^*$ -თან უშუალო მოქმედების შედეგად რეაქციის გამოწვევის საწყის სტადიაში.

EFFECT OF α -TOCOPHEROL ON THE PHOSPHOLIPID OXIDATION PROMOTED BY $^1C_2^*$

M. G. MELADZE, I. I. IVANOV

State University, Moscow, USSR

S u m m a r y

The rate of α -tocopherol oxidation in the systems generating $^1C_2^*$ has been investigated. The rate of α -tocopherol oxidation has been shown to be strictly dependent on $^1C_2^*$ lifetime. The inhibiting effect of α -tocopherol is mainly due to its interaction with $^1C_2^*$ at the primary stage of initiation.

УДК 547.96

БИОФИЗИКА

О ВИДОВОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ НЕКОТОРЫХ БЕЛКОВ КРОЛИКА И РЫБЫ И ЭГТА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ МИОЗИНА В РЫБЫ

М. С. Хурцилава, Е. В. Бут, М. М. Заалишвили

Институт физиологии им. И. С. Бериташвили АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 20.1.1977

В статье показано отсутствие видовой специфичности нативного тропомиозина и различие во взаимодействии актина с нативным тропомиозином, выделенных из мышц рыбы и кролика.

Установлены оптимальные условия проявления ЭГТА чувствительности миозина В, полученного из мышц рыбы.

С. Эбаш и сотрудники [8] первыми показали, что комплекс двух белков тропонина и тропомиозина придает Ca^{++} -чувствительность системе актомиозина. В настоящее время принят следующий регуляторный механизм сокращения мышцы: конформационные изменения, вызванные в молекуле тропонина ионами кальция, который высвобождается при раздражении волокна из саркоплазматического ретикулула, передаются посредством тропомиозина Ф-актину. Структурное состояние Ф-актина определяет его взаимодействие с миозином, чем и обуславливается сокращение мышцы [4, 11].

Как выяснилось, разница между миозином В и синтетическим актомиозином обусловлена присутствием в миозине В минорных белков, в том числе и тропонин-тропомиозинового комплекса. В физиологических условиях тропомиозин находится в форме нативного тропомиозина, т. е. комплекса с тропонином и располагается в мышце в канавках двойной спирали Ф-актина [6, 1]. Ранее было изучено влияние нативного тропомиозина на полимеризацию Г-актина [2] и показано, что он замедляет переход глобулярного актина в фибриллярный.

Известно, что при образовании актомиозинового комплекса миозин и актин никакой видовой специфичности не проявляют [7]. Нас интересовало существует ли видовая специфичность актина и нативного тропомиозина кролика и рыбы. Это привело нас к мысли изучить взаимодействие рыбьего нативного тропомиозина с кроличьим актином и наоборот. Все эксперименты проводили на вискозиметре, время истечения буфера которого не более 100 с. Концентрацию белков определяли по методу микробюрета. Нативный тропомиозин из карпа был получен по методу, применяемому для получения кроличьего белка [8] с небольшими модификациями. Актин был получен по Рису и Янгу [10].

Рыбий Г-актин после пропускания через Сефадекс Г-150 плохо переходил в Ф-форму без добавления ионов Mg^{++} в 0,1 МКСI. В наших опытах использовали рыбий актин, полученный без пропускания через колонку и переходящий в Ф-форму в 0,1 МКСI без ионов Mg^{++} .

Из рис. 1 видно, что действие нативных тропомиозинов, выделенных как из мышц рыбы, так и из мышц кролика, на $\Gamma \rightarrow \Phi$ переход рыбьего актина идентично.

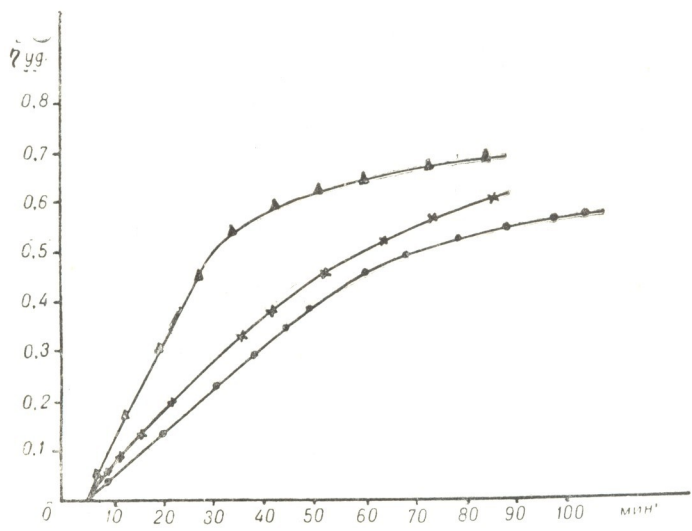


Рис. 1. Ингибиторное действие нативного тропомиозина НТ, выделенного из мышц кролика и рыбы на полимеризацию Γ -актина рыбы в 0,1 М КСI при 20°C, 25 мМ трис-НСI рН 7,5, концентрация актина 0,7 мг/мл. Полимеризация: \blacktriangle — Γ -актина; \times — Γ -актина в присутствии: \times —10% НТ кролика; \bullet —10% НТ рыбы

Влияние рыбьего нативного тропомиозина на полимеризацию кроличьего актина выражено в меньшей степени, чем влияние нативного тропомиозина, выделенного из мышц кролика (рис. 2).

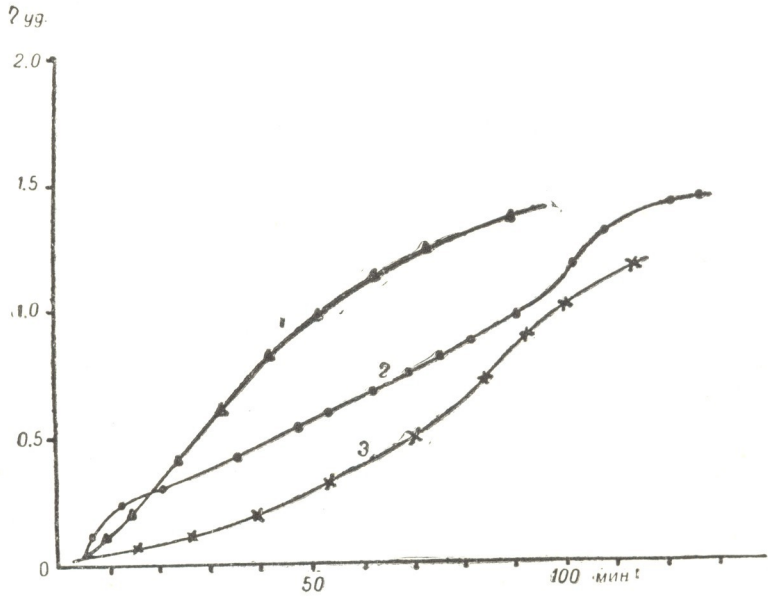


Рис. 2. Ингибиторное действие НТ на полимеризацию Γ -актина кролика. Условия те же, что на рис. 1. Концентрация актина 0,8 мг/мл. Полимеризация: \blacktriangle — Γ -актина кролика; \bullet — Γ -актина кролика в присутствии: \bullet —9% НТ рыбы и \times —5% НТ кролика

Многими исследователями было показано, что вязкость Ф-актина увеличивается при добавлении тропомиозина. Это свидетельствует об образовании комплекса этих двух белков. Комплекс также образовывался между Ф-актином, выделенных из мышц кролика, и нативным тропомиозином, выделенным из мышц рыбы. Об этом свидетельствует увеличение удельной вязкости кроличьего Ф-актина при добавлении тропонин-тропомиозинового комплекса, полученного из мышц рыб. Через некоторый отрезок времени наблюдается падение удельной вязкости, что вероятно обусловлено механическим раздражением образованного комплекса (рис. 3).

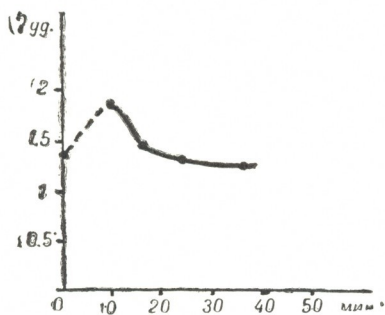
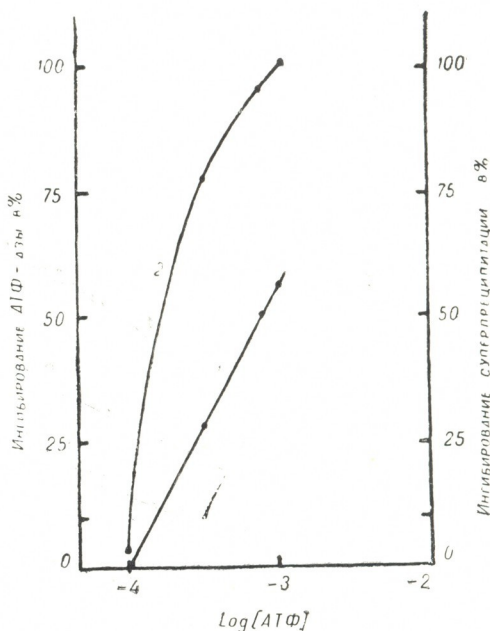


Рис. 3. Увеличение удельной вязкости Ф-актина кролика при добавлении 35% НТ рыбы. Концентрация Ф-актина кролика 0,6 мг/мл, 25 мМ трис-НСI pH 7,5, 25°C.

Эти данные, вероятно, свидетельствуют об отсутствии видовой специфичности между актином и нативным тропомиозином кролика и рыбы.

Для модельных опытов сокращения актомиозина и миофибрилл требуются ионы кальция [7]. Актиномиозиновые системы становятся активными при концентрации кальция 10^{-7} М [4]. Ca^{++} -чувствительность этой системе придает нативный тропомиозин.

Рис. 4. Зависимость степени ингибирования суперпреципитации и АТФазной активности миозина В рыбы от концентрации АТФ (10^{-3} М Mg Cl₂, 0,2 мМ ЭГТА, 0,05 М КСI, концентрация миозина В—0,5 мг/мл, температура 25°C, pH 7,7).



Исследования Ca^{++} -чувствительности миозина В осуществляется добавлением к нему Хелата-кальция ЭГТА (этиленгликоль-бис-аминоэтиловый эфир-N—N-тетраацетат), который связывает Ca^{++} и в при-

сутствии физиологической концентрации Mg^{++} АТФ (10^{-3} М для кролика) [4] максимально ингибирует суперпреципитацию и АТФазную активность миозина В.

Нас интересовали оптимальные условия проявления ЭГТА чувствительности миозина В, полученного из мышц рыбы. Рыбий миозин В был получен по методу Сент-Джорджи [5]. Опыты были проведены на приборе, который мерит одновременно величину и кинетику суперпреципитации и АТФазной реакции. Реакции инициировались добавлением различных концентраций АТФ и ЕГТА при 10^{-3} М Mg^{++} .

Максимальное ингибирование, как степени суперпреципитации, так АТФазной активности рыбьего миозина В, выявляется также при концентрации Mg^{++} АТФ, равной 10^{-3} М, концентрация ЭГТА была постоянной (0,2 мМ). Величину ингибирования вычисляли следующим образом: величину АТФазной реакции и степень суперпреципитации в отсутствие ЭГТА принимали за 100%. Ингибирование определяли как разность соответствующих величин, выраженных в процентах в присутствии и в отсутствие ЭГТА (рис. 4).

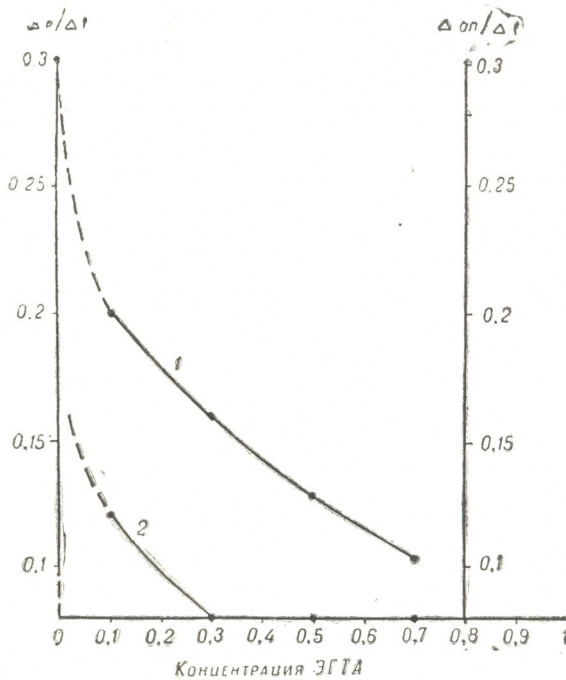


Рис. 5. Зависимость скорости суперпреципитации и АТФазной реакции миозина В рыбы от концентрации ЭГТА ($9 \cdot 10^{-4}$ М АТФ, концентрация миозина В 0,5 мг/мл, 0,05 М КСl, рН 7,5, 25°C)

Также была изучена зависимость скорости АТФазной реакции и суперпреципитации при $9 \cdot 10^{-4}$ М Mg^{++} АТФ от различных концентраций ЭГТА. Чем больше концентрация ЭГТА, тем больше ингибирование АТФазной активности, и при ЭГТА 0,3 мМ скорость суперпреципитации падает до нуля (рис. 5).

Полученные данные свидетельствуют, вероятно, об отсутствии видовой специфичности нативного тропомиозина и различии во взаимодействии актина с нативным тропомиозином указанных животных.

Максимальное ингибирование, как степени суперпреципитации, так АТФазной активности миозина В рыбы, вызванное добавлением к нему Ca^{++} хелатного агента (ЭГТА) выявляется при концентрации АТФ, равной 10^{-3} М.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бендолл Дж. В кн.: Мышцы, молекулы и движение, «Мир», М., 1970, 24—27.
2. Бут Е. В., Колхидашвили К. М., Джулакидзе К. Р., Заалишвили М. М. Сообщения АН ГССР, **75**, 2, 441—444, 1974.
3. Бут Е. В., Симонидзе М. Ш., Бокочадзе Н. Н., Заалишвили М. М. Сообщения АН ГССР, **69**, 1, 161—164, 1973.
4. Заалишвили М. М. В кн.: Физико-химические основы мышечной деятельности, «Мецниереба», Тбилиси, 1971, 230—236.
5. Сент-Дьердьи А. В кн.: О мышечной деятельности, «Медгиз», М., 1947, 98—100.
6. Grabikowski K., Nowak E. *Europ. J. Biochem.*, **5**, 376—384, 1968.
7. Ebashi S. *J. Biochem.*, (Tokyo), **50**, 236—244, 1961.
8. Ebashi S., Ebashi F. *J. Biochem.*, (Tokyo), **55**, 604—613, 1964.
9. Hasselback W. *Biochim. Biophys. Acta*, **25**, 562—574, 1957.
10. Rees M. K., Hoang M. *J. Biol. Chem.*, **242**, 19, 4449—4458, 1957.
11. Топотура У., Watanabe S., Morales M. F. *J. Biochemistry*, **8**, 2171—2176, 1969.

თევზისა და შინაური კურდღლის ზოგბიერთი ცილის სახეობრივი სპეციფიკურობა და თევზის მიოზინ B-ს ემბტ მგრძნობიარობა

მ. ხურცილავა, ე. ბუტი, მ. ჯაალიშვილი

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ი. ბერიტაშვილის სახელობის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

ნაჩვენებია, რომ თევზისა და შინაური კურდღლის კუნთებიდან გამოყოფილ ნატივურ ტროპომიოზინს არ ახასიათებს სახეობრივი სპეციფიკურობა და ამ ორი სახეობის კუნთიდან მიღებული აქტინისა და ტროპომიოზინის ურთიერთქმედება ერთიმეორისაგან არ განსხვავდება.

გარკვეულია თევზის კუნთიდან მიღებული მიოზინ B-ს ემბტ-მგრძნობიარობის გამოვლინების ოპტიმალური პირობები.

TYPICAL SPECIFICITY OF SOME FISH AND RABBIT PROTEINS AND EGTA SENSITIVITY OF FISH MYOSIN B

M. S. KHURTSILAVA, E. V. BUT, M. M. ZAALISHVILI

I. S. Beritashvili Institute of Physiology, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

It has been demonstrated that native tropomyosin isolated from the fish and rabbit muscles is not characterized by species specificity and no difference is found in the interaction of actin and tropomyosin obtained from the two species.

The optimal conditions are established for the manifestation of EGTA sensitivity of myosin B obtained from fish muscles.

УДК 591.1.15

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

ИДЕНТИФИКАЦИЯ Р- и N-СОДЕРЖАЩЕГО ОСТАТКА АХ-ПОДОБНОГО ВЕЩЕСТВА С $R_f = 0,25$

К. С. Ахвледзანი, К. В. Хелашвили

*Тбилисский государственный университет, Институт экспериментальной и клинической
терапии МЗ ГССР, Тбилиси*

Поступила в редакцию 21.7.1976

В 1972 году было высказано предположение, что одним из медиаторов возбуждения может являться к тому времени обнаруженный в живых тканях ацетилфосфорилхолин (АФХ). Синтезированный химическим путем АФХ действительно показал высокую АХ-подобную физиологическую активность [1]. В дальнейшем из мозга [2] и селезенки [3] было выделено вещество, обладающее АХ-подобной активностью и $R_f = 0,25$. Совпадение свойств этого вещества со свойствами АФХ заставило допустить их идентичность.

Вещество с $R_f = 0,25$ дает реакции на четвертичные аммониевые основания и при гидролизе в мягких условиях, а также при гидроксил-аминолизе, образует вещество с $R_f = 0,15$, которое не содержит серы, карбоксильные и гидроксильные группы. Соотношение фосфора и азота (1:1) соответствует фосфорилированному оксиалкилтриметиламмию [4].

МЕТОДИКА

Экстракт селезенки обрабатывали по описанному методу [3]. Вещество с $R_f = 0,25$ гидролизовали в мягких условиях, вновь хроматографировали и проявленную зону, соответствующую $R_f = 0,15$, элюировали. Элюаты нескольких зон $R_f = 0,15$ соединяли и доводили до 2 г. В 1 мл этого раствора определяли содержание фосфора после сжигания серной кислотой и H_2O_2 . Содержание ФХ, рассчитанное по фосфору, составляло 406 мкг в первой повторности и 340 мкг — во второй. Остатки элюатов переносили в толстостенные пробирки с перетяжкой, в которые добавляли по 1 мл 6Н·НСl, и затем отпайвали ампулы. В контрольных опытах в ампулах находились по 1 мл раствора 600 мкг пентагидрата кальциевой соли ФХ-хлорида (производство фир-

мы «Сигма») и 1 мл 6N·НСl. Ампулы помещали в кипящую воду на трое суток, затем вскрывали и их содержимое концентрировали до 0,2 мл. К этим концентратам добавляли насыщенный водный раствор Ва (ОН)₂ до рН 7,5, фильтровали в центрифужной воронке, вновь концентрировали и помещали в вакуум-эксикатор с серной кислотой, который заполняли СО₂. После высушивания остаток экстрагировали последовательно тремя порциями этанола по 1 мл. Экстракты объединяли, концентрировали до минимального объема и наносили на хроматографическую бумагу (свидетель — холинхлорид). После хроматографирования в растворителе БЭУВ и проявления свидетеля парами йода вырезали зону, соответствующую холину ($R_f = 0,36$). Элюат этой зоны выпаривали на водяной бане и досушивали в вакууме над Р₂О₅. Через два дня добавляли 0,3 мл свежеперегнанного уксусного ангидрида и нагревали два часа без доступа влаги при температуре 105°C. Затем отгоняли избыток уксусного ангидрида в вакууме. Продукт ацетилирования растворяли в 5 мл раствора Рингера. Из 2 мл этого раствора готовили серию разбавлений и определяли биоактивность на прямой брюшной мышце лягушки.

Для определения электрофоретической подвижности элюаты зон $R_f = 0,15$ концентрировали и наносили на бумагу Filtrak NF12 в виде пятна. Контролем служила кальциевая соль ФХ-хлорида. В качестве буфера был взят раствор пиридина (25 мл/л), к которому была добавлена концентрированная уксусная кислота до рН 5,2 (сила тока 2 мА при ширине бумаги 9 см, напряжение около 100 В, продолжительность — 1 ч). Электрофореграмму высушивали до исчезновения запаха пиридина и проявляли реактивом Драгендорфа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

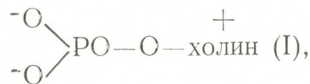
В первом контрольном опыте АХ обнаружено 18,8 мкг, во втором — 28 мкг и в третьем — 44 мкг, что соответствует выходу $\frac{АХ}{ФХ} \cdot 100\% = 6,0\%$, 8,8% и 13,9%.

Из гидролизатов зоны $R_f = 0,15$ получен АХ-хлорид 1,75 мкг/мл (выход, считая на взятый ФХ—12%) и 0,85 мкг/мл (выход 7,1%). После разбавления до концентрации 0,25 мкг/мл, эти растворы вызвали уменьшение амплитуды сокращения сердца лягушки на 50% ($\pm 10\%$), что соответствует активности АХ-хлорида.

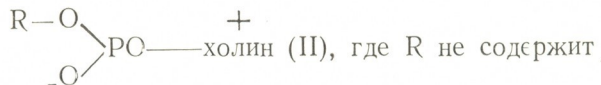
Из ацетилпроизводных ближайших аналогов холина (нор-, гомо-, α - и β -метилхолинов) только ацетил- α -метилхолин обладает соизмеримой с АХ физиологической активностью в отношении N-холинрецепторов, а ацетил- β -метилхолин — в отношении М-холинрецепторов [5, 6.]

Практически полное совпадение физиологической активности продуктов ацетилирования гидролизатов синтетического ФХ и вещества с

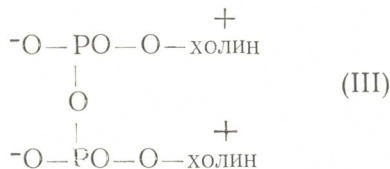
$R_f = 0,15$ в отношении сердца и прямой мышцы живота лягушки доказывает, что вещество с $R_f = 0,15$ может быть только фосфорилхолином:



либо его эфиром:



фосфора, азота, карбоксила и гидроксила, либо симметричным P^1 , P^2 — дихолинпирофосфатом:



При электрофорезе полностью диссоциированный ФХ (I) будет перемещаться к аноду, в отличие от (II и III), которые должны оставаться на месте нанесения. Если бы соединение (III) гидролизовалось в ФХ за время электрофореза, то пятно ФХ на электрофореграмме имело бы более или менее заметный «хвост», тянущийся со старта. Вещество с $R_f = 0,15$ при электрофорезе перемещается в виде четкого пятна на такое же расстояние, что и синтетический ФХ (в наших опытах на 20 мм в одном опыте и 23 мм в другом). При этом место нанесения пятен не окрасилось.

Таким образом, доказывается, что вещество с $R_f = 0,15$, образующееся при гидролизе природного физиологически активного вещества с $R_f = 0,25$, является фосфорилхолином.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ахвледиани К. С., Логуа Г. Ш., Ломоури И. Д. Сообщения АН ГССР, **65**, 2, 466—468, 1972.
2. Ахвледиани К. С., Логуа Г. Ш., Кекенадзе Л. В. Сообщения АН ГССР, **69** 1, 175—177, 1973.
3. Ахвледиани К. С., Логуа Г. Ш., Григолава И. В., Мурванидзе Г. В. Представлена к депонированию в Груз.НИИНТИ.
4. Ахвледиани К. С., Хелашвили К. В. Представлена к депонированию в ВИНТИ.
5. Михельсон М. Я., Зеймаль Э. В. Апетилхолин. О молекулярном механизме действия, «Наука», Л., 1970.
6. Varlow R. B. Introduction to chemical Pharmacology. Second Edition, London. Methuen a. Co. Ltd, 1964.

0,25-ის მქონე აცეტილქოლინის მსგავსი ნივთიერების P- და N-შემცველი ნაშთის იდენტიფიკაცია

ჟ. ახვლედიანი, კ. ხელაშვილი

თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, საქართველოს სსრ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს ექსპერიმენტული და კლინიკური თერაპიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

იოლ პირობებში ჰიდროლიზის დროს ნივთიერება $R_f = 0,25$ -ით წარმოქმნის ერთადერთ P- და N-შემცველ ნაერთს $R_f = 0,15$ -ით, რომელიც ამ ელემენტებს შეიცავს 1:1 შეფარდებით.

მკაცრ პირობებში $R_f = 0,15$ მქონე ნაერთი ჰიდროლიზდება ორთოფოსფატად და ქოლინად, რომელიც აცეტილქოლინში გადაყვანის შემდეგ იდენტიფიცირებულია ბაყაყის მუცლის სწორ კუნთსა და გულზე ფარმაკოლოგიური მოქმედებით. ელექტროფორეზული ძვრადობით ეს ნაერთი არ განსხვავდება ფოსფორილქოლინისაგან. ეს მონაცემები მეტყველებენ $R_f = 0,15$ -ის მქონე ნაერთისა და ფოსფორილქოლინის იდენტურობაზე.

IDENTIFICATION OF P- AND N-CONTAINING RESIDUE OF ACh-LIKE SUBSTANCE WITH $R_f = 0.25$

K. S. AKHVLEDIANI, K. V. KHELASHVILI

Tbilisi State University, Institute of Experimental and Clinical Therapy, Georgian Ministry of Health, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

At hydrolysis under mild conditions the substance with $R_f = 0.25$ forms a single P- and N-containing compound with $R_f = 0.15$; the ratio of the elements being 1:1.

Under hard conditions the compound with $R_f = 0.15$ hydrolyses into orthophosphate and choline, identified after conversion into ACh, according to its pharmacological effect on frog m.rectus abdominalis and heart.

As for the electrophoretic mobility, it does not differ from that of phosphorylcholine. The foregoing proves the identity of the substance having $R_f = 0.15$ with phosphorylcholine.

УДК 577.3

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

ВЛИЯНИЕ ГИДРОКСИЛИРОВАНИЯ ПРОЛИНА НА ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТЬ КОЛЛАГЕНА

Т. В. Бурджанадзе

Институт экспериментальной морфологии им. А. Н. Натишвили АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 20.10.1976

Данные литературы по изучению структуры коллагена указывают, на то, что гидрокселирование пролина должно оказывать заметное влияние на структуру и термостабильность коллагена. Полная расшифровка последовательности аминокислотного состава фрагментов α_1 цепей коллагенов из кожи крысы и телянка показала, что пролин в третьем положении в повторяющейся последовательности $(\text{Гли}-\text{X}-\text{Y})_n$ находится исключительно в гидрокселированной форме [7]. Хотя мы и не располагаем аналогичными данными для других коллагенов, все же этот факт нельзя отнести к чистой случайности, тем более, что в последнее время пересмотр пространственной структуры односвязной модели коллагена показал возможность образования дополнительной водородной связи в третьем положении в последовательности $(\text{Гли}-\text{X}-\text{Y})_n$ [9].

В серии работ [1, 2, 3] получены ценные сведения, подтверждающие эту точку зрения. Показано, что в процессе ингибирования пролингидроксилазы — фермента, гидрокселирующего пролин в третьем положении $\alpha\alpha'$ — дипиридиллом, в культурах соединительной ткани коллагена из сухожилий цыплят синтезируется коллаген, в котором все пролиновые остатки, находящиеся в третьем положении, негидрокселированы. Этот коллаген, названный протоколлагеном, имеет сходный с солерастворимым и кислотнорастворимым коллагеном аминокислотный состав [1]. Различие наблюдается лишь в том, что число гидрокселированных остатков пролина составляет меньше единицы на 1000 остатков. Изучение физико-химических свойств выявило тождественность молекулярных характеристик протоколлагена (степень спиральности, молекулярный вес, форма) с характеристиками солерастворимого и кислотнорастворимого коллагена [3]. Однако процесс гидрокселирования пролина может оказывать заметное влияние на термостабильность коллагена [2]. Оказалось, что негидрокселированный коллаген имеет температуру денатурации (T_d) на 15° ниже, чем гидрокселированный, более того, температура денатурации коллагена сухожилий эмбриона цыпленка увеличивается с ростом доли гидрокселированных остатков пролина (светлые кружки на рис. 1а) [10].

Влияние степени гидрокселирования пролина на термостабильность $\alpha_1\text{CB}2$ фрагментов коллагена сухожилий хвоста и кожи крысы с одинаковым суммарным числом пирролидиновых остатков, но отличающихся по степени гидрокселирования, также подтверждают эту точку зрения. Так например, для коллагена из сухожилий хвоста крысы на 36 остатков фрагмента $\alpha_1\text{CB}2$ приходится 3,2 остатка оксипролина, в то

время как для коллагена из кожи крысы число оксипролиновых остатков составляет 5. Соответственно, равновесные температуры перехода фрагментов отличаются на 7–8° [8, 12].

Аналогичная картина наблюдается при исследовании синтетических аналогов коллагена с одинаковым числом пирролидиновых остатков (ГЛИ-ПРО-ПРО)₁₀ (ГЛИ-ПРО-ОПРО)₁₀. Показано, что гидроксильная форма более термостабильна [12].

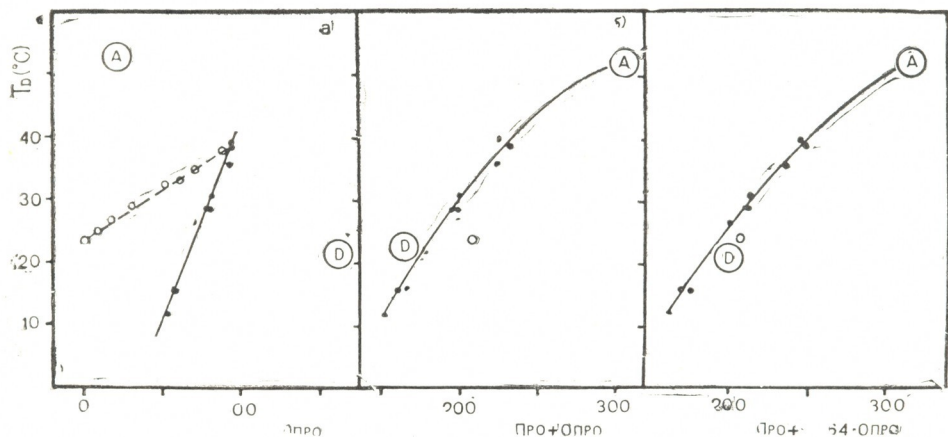


Рис. 1. а) Зависимость температуры денатурации от содержания оксипролина (число на 1000 остатков). Светлые кружки относятся к коллагену из сухожилий цыплят, отличающихся по степени гидроксирования пролина.

б) Зависимость температуры денатурации от суммарного содержания иминокислот. Светлый кружок—негидроксильная форма коллагена из сухожилий цыпленка.

в) Зависимость температуры денатурации от суммарного содержания иминокислот с учетом гидроксирования пролина

(а)—аскарида, (Д)—дождевой червь

Из вышеизложенного видно, что гидроксильное пролина в третьем положении оказывает существенное влияние на термостабильность коллагена. В связи с этим необходимо выяснить следующие вопросы. Каким образом влияние степени гидроксирования пролина можно согласовать со сложившимися за последнее время вполне обоснованными экспериментальными и теоретическими представлениями о том, что температура денатурации строго коррелирует с суммарным количеством иминокислотных остатков (ПРО+ОПРО), а не с пролином или оксипролином в отдельности [6]. И будет ли наблюдаться такая же строгая закономерность в изменении T_d , если сделать соответствующую поправку на степень гидроксирования? Такой анализ интересен и из тех соображений, что коллагены из кутикулы аскариды и дождевого червя имеют существенно различающийся между собой оксипролиновый состав (таблица).

Все необходимые для анализа данные, приведенные в таблице, были использованы из ранее опубликованных работ [5, 4]. На рисунке 1а, б и с эти данные приведены в виде зависимости T_d от иминокислотного состава. Как видно из рис. 1а, значения T_d соответствующие негидроксильной форме коллагена из сухожилий эмбриона цыпленка не согласуются с общей закономерностью изменения T_d от суммарного количества оксипролина для различных коллагенов. Температура денатурации негидроксильной формы $T_d=24^\circ\text{C}$ также не вписывается

ся в закономерность изменения T_d от суммарного количества пирролин-диновых остатков. Однако эти трудности легко преодолимы, если сделать соответствующие поправки на степень гидроксирования, предположив, что для всех образцов гидроксирование должно вызывать дополнительное увеличение T_d в общей закономерности ее изменения от суммарного количества иминокислотных остатков (ПРО+ОПРО) (рис. 1б).

Т а б л и ц а

К о л л а г е н	Полное число иминокислот на 1000 ост.	Пролин на 1000 ост.	Опролин на 1000 ост.	Про+1,164 опролин на 1000 ост.	Температура денатурации, T_d (°С)
Кожа трески	152	99	53	161	12
Плавательный пузырь трески	160	103	57	169	16
Кожа морской собаки	166	109	57	175	16
Дождевой червь	173	8	165	195	22
Кожа щуки	199	119	70	200	27
Кожа акулы	192	113	79	210	29
Плавательный пузырь карпа	197	116	81	210	31
Плавательный пузырь окуня	199	118	81	212	31
Кожа крысы	223	130	93	238	36
Кожа теленка	232	138	94	247	39
Околомышечный слой аскариды	225	103	122	245	40
Кутикула аскариды	310	291	19	313	52
Негидроксированная форма из сухожилий эмбрионов цыплят	208	208	<1	208	28

Оценка величины поправки на степень гидроксирования возможна как из данных по изучению коллагена из сухожилий эмбриона цыплят [2], так и из данных по плавлению $\alpha 1CB2$ цепей. Ввиду того, что температура денатурации может изменяться также и от других параметров белка (аминокислотный состав, длина цепи) [11, 12], в обоих случаях условие можно считать стандартным по отношению к этим свойствам. Следовательно, можно допустить, что повышение температуры как для негидроксированной формы, так и для фрагментов обусловлено гидроксированием пролина. Простой расчет из зависимости T_d от количества оксипролина (пунктир на рис. 1а) в рамках линейной экстраполяции показывает, что на один остаток прирост в T_d составляет 0,164°С. Из данных иминокислотного состава (см. таблицу) нами был построен график зависимости T_d от ПРО+ОПРО+0,164ОПРО = ПРО+1,164ОПРО. На рис. 1с нанесена эта зависимость. Как видно из рисунка, точка, соответствующая негидроксированной форме (светлый кружок), удовлетворительно согласуется с общей закономерностью изменения T_d . Эта закономерность описывается кривой второго порядка также, как и в случае рассмотрения только лишь суммарного значения количества иминокислотного состава (рис. 1а). Более того, точки располагаются на более плавной кривой с меньшим разбросом.

Таким образом, подводя некоторые итоги, мы видим, что учет гидроксирования пролина, на основании данных иминокислотного состава не нарушает общую закономерность изменения температур денатурации для различных образцов коллагена. Исходя из структурных соображений, мы предполагаем, что гидроксирование должно иметь двойную природу влияния на термостабильность коллагена — энтропийную, за счет увеличения жесткости цепи, и энтальпийную — за счет образования дополнительной водородной связи в третьем положении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Berg R. A., Prockop D. G. *Biochemistry*, **12**, 18, 3385, 1973.
2. Berg R. A., Prockop D. G. *B. Res. Commun.*, **52**, 1, 115, 1973.
3. Darnell J., Rosenblum J. B. *B. Res. Commun.*, **57**, 3, 910, 1974.
4. Harrington W. F. *J. Mol. Biol.*, **9**, 2, 1964.
5. Harrington W. F., Von Hippel P. *Advances in Protein Chem.*, **16**, 1, 1961.
6. Harrington W. F., Rao N. V. In: *Treatise on Collagen* (ed. Ramachandran G. N.) **1**, 515, 1967.
7. Hulmes D. J., Miller A., Parry D. A. D., Piez K. A., Woodhead-Gilloway. *J. Mol.*, **79**, 173, 1973.
8. Piez K. A., Sherman M. *Biochemistry*, **9**, 4129, 1970.
9. Ramachandran G. N., Bancel M., Bhatnager. *Biochim. Biophys. Acta*, **322**, 1, 166, 1973.
10. J. Rosenbloom, H. Hursch, S. Jimenes. *Arch. Biochem. Biophys.*, **158**, 478, 1973.
11. Sakaif A., Gross P. *Biochemistry*, **2**, 518, 1967.
12. Sasakibara S., Jnouye K., Shudo K., Kishida Y., Kobayashi Y., Prockop D. G. *Biochim. Biophys. Acta*, **303**, 198, 1973.
13. Ward A. R., Mason P. *J. Mol. Biol.*, **79**, 431, 1973.

პროლინის ჰიდროქსილირების ზეგავლენა კოლაგენის თერმოსტაბილურობაზე

თ. ბურჯანაძე

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ა. ნათიშვილის სახელობის ექსპერიმენტული მორფოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

უკანასკნელ ხანს მიღებული შედეგები ცხადყოფენ, რომ კოლაგენის თერმოსტაბილურობაზე სპეციფიკურ ზეგავლენას ახდენს პროლინის ჰიდროქსილირება [3, 4, 5]. ეს განპირობებულია იმით, რომ ჰიდროქსიპროლინი საშუალებას იძლევა კოლაგენის მოლეკულაში წარმოქმნას დამატებითი შიდამოლეკულური წყალბადური კავშირები. ზემოაღნიშნულ ნაშრომებში მიღებული შედეგების საფუძველზე იმინომჟაურად განსხვავებული კოლაგენებისათვის გამოთვლილია პროლინის ჰიდროქსილირების წვლილი კოლაგენის დნობის ტემპერატურის შეცვლაში.

გამოთვლების შედეგად მიღებული მონაცემები ცხადყოფენ, რომ ადრე მიღებული კანონზომიერება, რომელიც აკავშირებს კოლაგენის დნობის ტემპერატურას იმინომჟაურ შედგენილობასთან, შეიძლება გამოყენებულ იქნას პროლინის ჰიდროქსილირების ეფექტის გათვალისწინებით.

INFLUENCE OF PROLINE HYDROXYLATION UPON THE THERMAL STABILITY OF COLLAGEN

T. V. BURJANADZE

A. N. Natishvili Institute of Experimental Morphology, Georgian Academy of Sciences,
Tbilisi, USSR

Summary

It has been shown recently that proline hydroxylation increases the denaturation temperature of chick embryo tendon collagen [3, 5, 4].

On the basis of the above-mentioned finding an attempt is made to estimate the share of the degree of proline hydroxylation in a general rule of dependence of denaturation temperature on the collagen imino acid content.

УДК 577.3

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ОДНО- И ДВУХВАЛЕНТНЫХ КАТИОНОВ И ТЕМПЕРАТУРЫ НА ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛИЗОСОМАЛЬНЫХ МЕМБРАН

Т. К. Дарчия, М. А. Царцидзе, Б. А. Ломсадзе

Тбилисский государственный университет

Поступила в редакцию 30.9.1976

Неорганические катионы существенно меняют организацию молекулярных компонентов мембран, так как растворы различной ионной силы и ионного состава по разному влияют на солиubilизацию мембранных белков и на активность мембранных ферментов [7], а также предотвращают термоинактивацию ферментных систем [6].

Ввиду того, что катионы изменяют липид-белковые взаимодействия в мембранах, вызывая тем самым нарушения в ферментных системах мембран, представлялось интересным изучить влияние одно- и двухвалентных катионов, а также температуры на изменение активностей лизосомальных ферментов.

Как известно, кислая фосфатаза является одним из маркерных ферментов лизосом, которая в основном локализована в мембранах [3, 2]. Изучение солиubilизирующей способности додецилсульфатом натрия (ДДСNa) кислой фосфатазы может дать картину расположения данного фермента в мембране лизосом и ответить на вопрос: локализована ли кислая фосфатаза трансмембранно или расположена только на поверхности мембраны? Поэтому целью наших экспериментов являлось также изучение влияния различных концентраций ДДСNa на активность кислой фосфатазы в мембранах лизосом.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Опыты проводились на беспородных белых крысах, весом 100—150 г. Из печени забитых декапитацией животных с помощью дифференциального центрифугирования получали фракцию лизосом по методу Саванта [9]. Мембрану лизосом выделяли их разрушением с помощью осмотического шока (диализ против воды в течение 24 ч) и центрифугированием при 29 000 г 20 мин [10]. Для солиubilизации мембранных белков были использованы разные концентрации ДДСNa.

Активность ферментов лизосом (кислая фосфатаза, катепсин) определяли по методу Де Дюва [4].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 показано изменение активности кислой фосфатазы мембран лизосом при действии различных концентраций ДДСNa. Наименьшей концентрацией ДДСNa, вызывающей эффект снижения ак-

тивности фермента, является 0,01%. Последующее увеличение концентрации ДДСNa до 0,1% вызывает постепенное солюбилизирующее

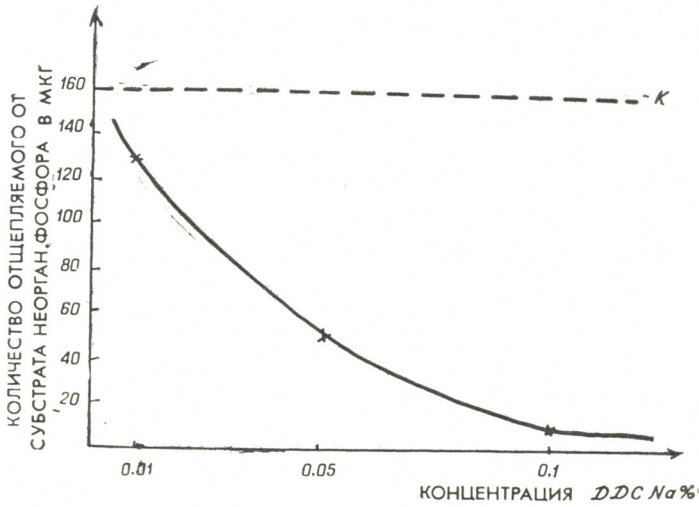


Рис. 1. Изменение активности кислой фосфатазы мембран лизосом при действии различных концентраций ДДСNa

действие на кислую фосфатазу мембран лизосом. При дальнейшем увеличении концентрации детергента активность фермента в мембранах

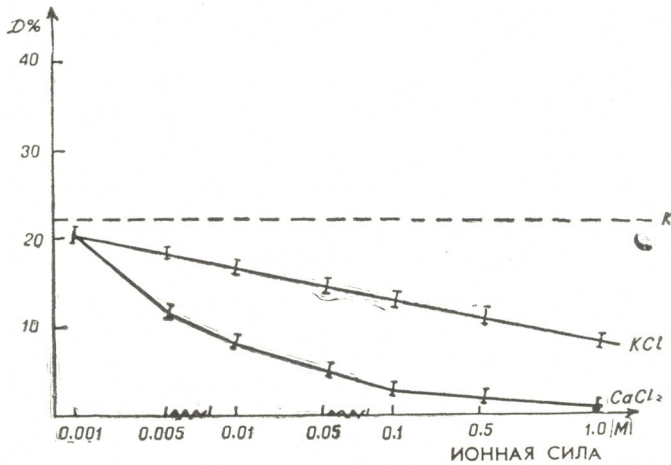


Рис. 2. Изменение активности кислой фосфатазы лизосом при действии KCl и CaCl₂ различной ионной силы

исчезает. При этом надо отметить, что данные концентрации детергента не вызывают полную солюбилизацию мембран. Проведение данного эксперимента дало возможность заключить, что кислая фосфатаза в мембранах лизосом расположена на поверхности и является их периферическим белком.

О природе сил, удерживающих кислую фосфатазу на поверхности мембраны, можно судить по нижеприведенным экспериментам.

На рис. 2 приводятся данные об изменении активности кислой фосфатазы лизосом при действии KCl и $CaCl_2$ различной ионной силы. Как видно из рисунка, и одновалентные (K^+) и двухвалентные (Ca^{2+}) катионы вызывают уменьшение активности кислой фосфатазы лизосом по сравнению с нормой. При этом ионы K^+ в концентрации от 0,001 до 0,1 М незначительно меняют активность фермента и только в концентрации 0,5 и 1 М наблюдается выраженное падение активности. Как известно, в мембранах липид-белковые взаимодействия обусловлены гидрофобными и электростатическими силами. При введении ионов K^+ происходит частичная нейтрализация зарядов гидрофильных концов липидов и белков [8], что облегчает солиubilизацию ферментов из мембраны. В присутствии низких концентраций K^+ этот эффект мало выражен, увеличение концентрации ионов K^+ приводит к увеличению солиubilизации фермента, из-за чего активность фермента в мембранах резко падает. Подтверждением этого являются и данные Геннинга и

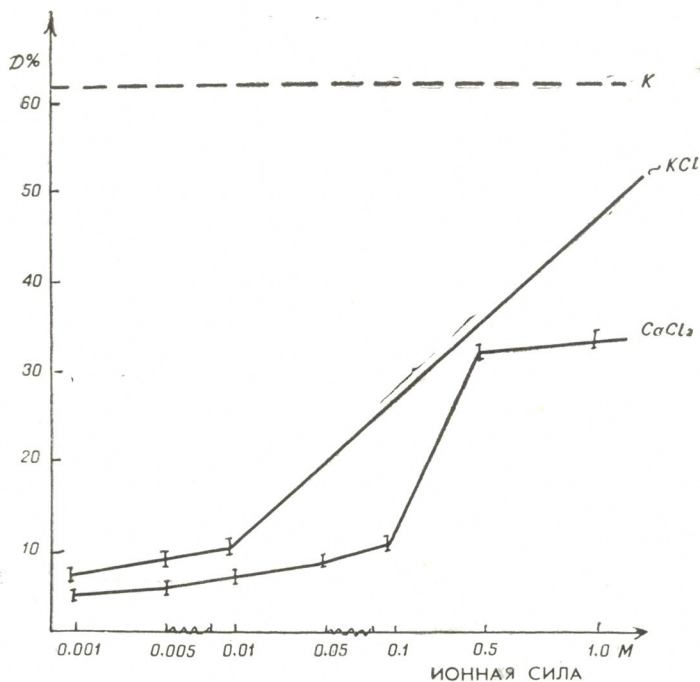


Рис. 3. Изменение активности катепсинов лизосом при действии KCl и $CaCl_2$ различной ионной силы

Штофеля, которые показали, что связывание ферментов с мембранами лизосом подавляется при увеличении ионной силы [5]. Возможно, что кислая фосфатаза связывается с анионными группами мембраны лизосом электростатическими силами и увеличение ионной силы раствора уменьшает ее связывающую способность с поверхностью мембраны.

Ионы Ca^{2+} промотируют образование агрегатов мембранных белков [1], что, возможно, приводит к перекрыванию активных центров фермента и подавлению его активности. Это тем более кажется обоснованным, что двухвалентные катионы способны образовывать солевые мостики между полярными группами липидов и белков мембран [8].

Рис. 3 указывает на изменение активности катепсинов лизосом в присутствии KCl и $CaCl_2$ различной ионной силы. Катепсины являются

растворимыми ферментами и находятся в матриксе лизосом. Поэтому, изучение активности этого фермента дает возможность судить об изменении проницаемости мембран лизосом. Здесь так же, как и в случае кислой фосфатазы, наблюдается однонаправленность действия ионов K^+ и Ca^{2+} . Оба иона с увеличением ионной силы вызывают увеличение активности катепсинов. Возможно, что как нейтрализация зарядов биополимеров мембран, так и их агрегация вызывает один и тот же эффект — увеличение проницаемости мембран лизосом, что приводит к активации катепсинов.

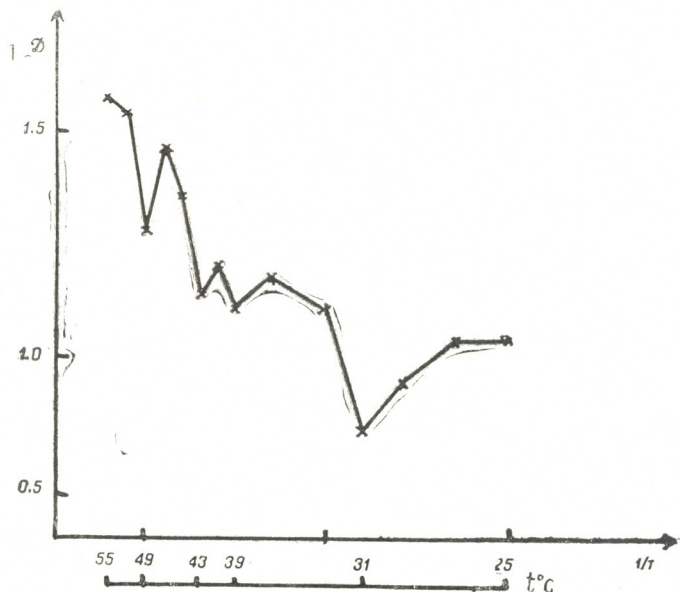


Рис. 4. Изменение активности кислой фосфатазы лизосом в зависимости от температуры

Кроме влияния одно- и двухвалентных катионов на активность ферментов лизосом, изучали также изменение активности кислой фосфатазы в зависимости от температуры (рис. 4). Изучение активности фермента в координатах Аррениуса дает возможность сопоставить переход жидко-кристаллической структуры мембран лизосом в жидкую с функцией кислой фосфатазы, т. е. фазовые переходы дают возможность связать структуру и функцию мембран. На рис. 4 показано, что в активности кислой фосфатазы в координатах Аррениуса наблюдаются изломы при t 31, 39, 43 и $49^{\circ}C$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Carrawaj K. L., Triplett R. B. 9th Int. Congr. Biochem., Stockholm, 268, 1973.
2. Fleischer B., Fleischer S. Biomembranes, New York—London, 2, 79—94, 1971.
3. Furin B. J. Cell Biol., 43A, 35—42, 1967.
4. Giannetto R., De Duve C. Biochem. J., 59, 3, 433—447, 1959.
5. Henning R., Stoifel W. 9th Int. Congr. Biochem., Stockholm, 287, 1973.
6. Kirschmann C., Levy I., Vries A. Biochim. Biophys. Acta, 330, 2, 167—172, 1973.

7. Reynolds J. A. Ann. N. Y. Acad. Sci., **195**, 75—85, 1972.
8. Rottem S., Stein O., Razin S. Arch. Biochem. Biophys., **125**, 46—52, 1968.
9. Sawant P. L., Shibko S., Kumta U. S., Tappel A. L. Biochim. Biophys. Acta, **85**, 82—92, 1964.
10. Stoffel W., Heimann G., Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem., **355**, 6, 651—659, 1974.

ერთ- და ორვალენტიანი კათიონებისა და ტემპერატურის გავლენის შესწავლა ლიზოსომური მემბრანის ფერმენტულ აქტივობაზე

თ. დარჩია, მ. ცარციძე, ბ. ლომსაძე

თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

რ ე ზ ი მ ე

შეისწავლება ერთ- და ორვალენტიანი კათიონებისა და ტემპერატურის გავლენა ლიზოსომური მემბრანის მყავა ფოსფატაზის ფერმენტულ აქტივობაზე. აღმოჩნდა, რომ ამ ფერმენტის აქტივობა მემბრანაში მცირდება როგორც ერთვალენტიანი (K), ასევე ორვალენტიანი (Ca) იონების მოქმედების შედეგად. ფერმენტული აქტივობის არენიუსის მრუდის გარდატეხის წერტილები ძეგს 31, 39, 43 და 49°C-ზე. ცდებმა გვიჩვენეს, რომ მყავა ფოსფატაზა მემბრანის ზედაპირზეა ლოკალიზებული და წარმოადგენს ლიზოსომური მემბრანის პერიფერიულ ცილას.

THE EFFECT OF TEMPERATURE AND MONO- AND DIVALENT CATIONS ON THE ENZYMIC ACTIVITY OF LYSOSOMAL MEMBRANE

T. C. DARCHIA, M. A. TSARTSIDZE, B. A. LOMSADZE

State University, Tbilisi, USSR

Summary

The effect of mono- and divalent cations and of temperature on acid phosphatase enzymatic activity in lysosomal membranes has been studied. The enzymatic activity in membranes was shown to decrease by the action of both mono- (K) and divalent (Ca) ions. Arrhenius curve had inflection points at 31, 39, 43 and 49°C. The data obtained suggest that acid phosphatase is localized on the membrane surface and it is a peripheral protein of lysosomal membrane.

УДК 612.017.11

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

О НАСЛЕДСТВЕННОМ ТРАНЗИТОРНОМ Т-КЛЕТОЧНОМ ДЕФИЦИТЕ У ВЗРОСЛОГО ЧЕЛОВЕКА

Ш. С. Мачавариани, В. В. Меунаргия, Т. С. Соселия, З. С. Хеладзе,
Т. Г. Нацвлишвили

Тбилисский государственный медицинский институт, НИИ гематологии и переливания крови им. Г. М. Мухадзе МЗ ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 12.11.1976

В последние годы возрос интерес к изучению трансплантационного иммунитета, клеточной основой которого являются Т-лимфоциты [3]. Накоплены убедительные данные, свидетельствующие о функциональной гетерогенности Т-клеток. Можно выделить несколько классов Т-клеток: клетки «памяти», вспомогательные, эффекторные, супрессорные [4, 6, 9, 15].


Характер и сила иммунного ответа обусловлены факторами, которые формируются в ряде последовательных этапов развития Т- и В-клеток из единой стволовой кроветворной клетки костномозгового происхождения [1]. Нарушение созревания Т-лимфоцитов с последующим Т-клеточным дефицитом может привести к нежелательным изменениям в иммунологическом статусе [7]. Т-клеточный дефицит имеет стойкий характер и обычно проявляется в детском и юношеском возрасте [5, 12, 14].

Мы наблюдали случай транзиторного Т-клеточного дефицита у 38-летнего мужчины, который, страдал генерализованным аллергическим дерматитом мультипотентного медикаментозного происхождения.

В ходе исследований идентифицировались Т-лимфоциты (Ерок, то есть спонтанные розетки с эритроцитами барана, где рок — розеткообразующие клетки) и В-лимфоциты (ЕАСрок, где ЕАС — «эритроциты — антитела — комплемент») — по общепринятой методике розеткообразования [10] в незначительной модификации, активные Ерок — по методу Wuybran [17], иммуноглобулины сыворотки крови (IgG, IgA, IgM) — по методу радиальной иммунодиффузии в геле [13].

Некоторые факторы клеточного и гуморального иммунитета больного характеризовались следующими показателями: Ерок — 8%, активный Ерок — 0,1%, ЕАСрок — 7%, реакция бласттрансформации на ФГА — отрицательная, фагоцитарный индекс — 6,3 (перевариваемость — 0), иммуноглобулины сыворотки крови — в пределах нормы: IgG — 1265 мг%, IgA — 370 мг%, IgM — 130 мг%; реакция Уанье была положительна с преднизолоном (+++), гидрокортизоном (++), пенициллином (+++), стрептомицином (+), новокаином (+++), фурацилином (++), витамином С (++), витамином В₆ (+).

При генетическом исследовании было установлено, что бабушку пробанда со стороны отца оперировали по поводу язвенной болезни желудка, отец практически здоров, а из сибсов отца одна страдает атспической формой бронхиальной астмы, две другие оперированы по



поводу острого аппендицита и один из-за язвенной болезни желудка последующим развитием пептической язвы и рецидивирующего кровотечения (возможно, аутоиммунного происхождения). Мать пробанда болеет псориазом и оперирована по поводу острого аппендицита; относительно ее родственников достоверных данных нет. Из двух сибсов пробанда обе были оперированы по поводу острого аппендицита, а одна страдает себорейной формой экземы, причем из двух ее детей у одного отмечается частая ангина, а у другого — периодические высыпания неясного происхождения. Из трех сыновей пробанда один страдает атопической формой бронхиальной астмы, остальные практически здоровы.

По мере улучшения состояния больного количественные и функциональные показатели Т-клеточного иммунитета у него нормализовались: Ерок — 45%, ЕАС — 8%, активный Ерок — 30%, реакция бласттрансформации на ФГА — резко положительная, фагоцитарный индекс — 6,2 (перевариваемость — 10/4).

Было выяснено, что с раннего детского возраста для больного были характерны частые и затяжные течения инфекционных болезней, гриппа, ангины, вялое заживление ран, периодическое появление приступообразного зуда с отдельными высыпаниями, склонность к пищевой и медикаментозной аллергии. В зрелом возрасте у него трехкратно развивалась тяжелая картина генерализованного аллергического дерматита как следствие лечения некоторыми медикаментозными средствами (антибиотики, новокаин, фурацилин, преднизолон и др.). Во всех случаях применении медикаментов предшествовал операционный стресс.

Из близких родственников пробанда у матери и старшей сестры (страдающих соответственно псориазом и себорейной формой экземы) постоянно отмечались низкие показатели Т-розеткообразующих клеток; у его старшего (13-летнего) сына, страдающего атопической формой бронхиальной астмы, показатели Т-розеткообразующих клеток были в пределах нормы (обследование проводилось в фазе длительной ремиссии).

Описанный нами переходящий Т-лимфоцитарный дефицит имеет, по видимому, генетическое происхождение и наследуется по аутосомно-рецессивному типу; следует полагать, что генетически детерминированные тонкие изменения в аутосомах приводят по линии неизвестных нам механизмов к неполноценности Т-системы иммунитета. Вероятно, наследственная неполноценность этой системы, выражающаяся в периодическом нарушении созревания Т-лимфоцитов с последующим кратковременным транзиторным Т-клеточным дефицитом, обуславливала у пробанда описанные нами патологические явления, тем более, что по данным литературы [8], а также по нашим неопубликованным данным, аллергические состояния, включая и дерматит, характеризуются подавлением Т-лимфоцитарного аппарата, причиной которого могут быть наследственные или другие факторы.

Идентификация этого синдрома с известными синдромами наследственного дефицита Т-клеточного иммунитета [5, 12, 14] не представляется возможной, так как наследственные Т-клеточные иммунодефицитные заболевания, согласно положениям указанных работ, проявляются обычно в детском и юношеском возрасте и имеют стойкий характер, а в данном случае иммунодефицитное состояние ярко проявилось у взрослого и имело транзиторный характер. Видимо, эти тонкие генетические изменения не охватывают такого значительного участка генома (*ir*-генов) и не приводят к такому стойкому и тяжелому иммунодефициту, как при других наследственных синдромах недостаточности Т-системы иммунитета.

Таким образом, представляется весьма вероятным, что Т-клеточный дефицит, охватывающий разные субпопуляции Т-лимфоцитов, может привести к разного рода нарушениям нормального функционирования иммунологической системы, включая аутоиммунные заболевания и состояния аллергии [16]. Следует заметить, что недавно был описан случай алергизирующего действия полимиксина-В на фоне искусственного Т-клеточного дефицита [11]. По данным ряда авторов, генетический контроль специфического иммунного ответа ко многим антигенам экспрессируются исключительно на Т-клетках [2]. Кроме того, не исключена и возможность супрессорных действий алергенов и других неспецифических стрессорных раздражителей на Т-клеточную систему на фоне ее наследственной неполноценности.

ლიტერატურა

1. Abdow N. I., Richter M. *Immunol.*, **12**, 202—270, 1970.
2. Betchol K. B., Wegmann T. G., Freed H., Grumet F. C., Chesebro B. H., Herzenberg L. A., Medevitt H. O. *Cell. Immunol.*, **13**, 28—32, 1974.
3. Burnet F. *Immunological surveillance*, New York, Pergamon Press, 1970.
4. Cantor H., Asofsky R. I. *Exp. Med.*, **135**, 764—779, 1972.
5. Di George A. In: *The National Foundation*, New York, **4**, 116—121, 1968.
6. Gershon R. R., Kohen P., Hencin R., Liebhaver S. A. *Immunology*, **108**, 586—591, 1972.
7. Good R. *Harvey Lect. Ser—67*, N. Y.—London, 1—107, 1973.
8. Grieco M. N. J. *Allergy and Clin. Immunol.*, **55**, 99—100, 1975.
9. Howard I. S. J. *Exp. Med.*, **135**, 185—199, 1972.
10. Jondal M., Holm G., Wigrell H. J. *Exp. Med.*, **136**, 297—300, 1972.
11. Laskin J. D., Grace W. R., Sell K. W. J. *Allergy and Clin. Immunol.*, **55**, 103—106, 1975.
12. Lous-Bar D. *Confin. neurol.*, (Bassel), **4**, 92, 1971.
13. Mancini G., Carbonara A. O., Heremans I. F. *Immunochemistry*, **2**, 235, 1965.
14. Neselof C., Jamet M., Lortholary P., Labrune B., Lamy M. *Archs. Pediatr.*, **21**, 87, 1964.
15. Speent J., Basten A. *Cell Immunol.*, **7**, 40—59, 1973.
16. Stutman O. J. *Immunol.*, **109**, 602, 1972.
17. Wybran J., Fudenberg H. H. *J. Clin. Invest.*, **52**, 4026—4033, 1973.

იმუნოციტების T-სისტემის მემკვიდრული ტრანზიტორული დეფიციტის შესახებ მოზრდილ ადამიანში

შ. მაზაპარიანი, ვ. მუშნარბა, თ. სოსოლია, ზ. ხელაძე, თ. ნაცვლიშვილი

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო ინსტიტუტი, საქართველოს სსრ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს გ. მუხაძის სახელობის პედატოლოგიისა და სისხლის გადასხმის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

განხილულია ლიმფოციტების მემკვიდრული ხასიათის ტრანზიტორული დეფიციტის შემთხვევა, რომელიც დეტერმინირებული იყო აუტოსომურ რეცესიული ტიპით.

იმის გამო, რომ აღნიშნული იმუნოდეფიციტი მკვეთრად გამოქვავდა მოზრდილ ასაკში და ატარებდა ტრანზიტორულ ხასიათს, იგი განსხვავდება სხვა

მემკვიდრული ხასიათის იმუნოდეფიციტური სინდრომებისაგან, რომლებიც ჩვეულებრივ ბავშვთა ასაკში ვლინდებიან და მუდმივ ხასიათს ატარებენ, შესაძლოა ამ შემთხვევაში დაზიანება მოიცავს გენომის (*ir*-გენების) გაცილებით მცირე მონაკვეთს, ვიდრე სხვა მემკვიდრული იმუნოდეფიციტური სინდრომების დროს.

CONCERNING HEREDITARY TRANSIENT DEFICIENCY OF THE T-SYSTEM IN ADULT MEN

Sh. S. MACHAVARIANI, V. V. MEUNARGIA, T. S. SOSELIA,
Z. S. KHELADZE, T. G. NATSVLISHVILI

Tbilisi State Medical Institute, Ministry of Health of Georgian SSR, G. M. Mukhadze
Scientific Research Institute of Hematology and Blood-Transfusion, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

Hereditary deficiency of T-lymphocytes in 38 years old male is reported.

While the above mentioned immunodeficiency is sharply expressed in adult and has transient character it will be differentiated from the other immunodeficiency syndroms, the latter being usually manifested in children. Probably smaller part of the genome (*ir*-genes) is damaged in this case in comparison with the other hereditary immunodeficiency syndromes.



К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

1. В журнале печатаются не опубликованные в других изданиях, завершённые, оригинальные работы экспериментального и теоретического характера по утвержденным редколлегией разделам биологии, обзорные статьи, написанные по заказу редколлегии, а также краткие сообщения и рецензии. Периодически в журнале будет помещаться краткая хроника о проведенных в республике научно-организационных мероприятиях.

2. **Объем рукописи экспериментальных и итоговых работ**, включая таблицы, рисунки, подписи к рисункам, список литературы и резюме на грузинском и английском языках (не более одной страницы машинописи на каждом языке), не должен превышать 12 страниц машинописного текста, напечатанного через 2 интервала и полем 3 см с левой стороны. К рукописи может быть приложено не более 5 рисунков. **Объем обзорной статьи**—24 страницы, **краткого сообщения** со списком литературы и кратким резюме на английском языке (не более 6 строк)—до 4 страниц машинописи. Краткие сообщения можно иллюстрировать 1—2 рисунками.

Резюме на английском и грузинском языках, список литературы, таблицы и подписи к рисункам должны быть представлены на отдельных листах.

3. **Рукопись** (в двух экземплярах) должна быть тщательно проверена, иметь направление учреждения и заключение экспертной комиссии в двух экземплярах. На первой странице слева приводятся индексы статьи (УДК) по таблицам Универсальной десятичной классификации, справа — раздел биологии, затем название статьи, инициалы и фамилии авторов, название учреждения, где выполнена работа, и **краткая аннотация** (не более 0,5 стр.).

Статья должна быть подписана авторами. В конце статьи необходимо указать полностью имя, отчество и фамилии авторов, домашний и служебный адреса, телефоны.

4. **Введение** должно содержать краткое изложение сути рассматриваемой проблемы и задачи исследования. Описание методики должно быть кратким, но позволяющим читателю самостоятельно оценить соответствие техники и методических приемов, использованных при выполнении работы. Описание результатов и их обсуждение должны ограничиваться рассмотрением и оценкой важнейших фактов, полученных в экспериментах. В конце статьи выводов печатать не следует.

5. К статье и краткому сообщению следует приложить **реферат** на русском языке для реферативного журнала СССР (не более 1000 знаков), оформленный следующим образом: УДК, раздел биологии, инициалы и фамилии авторов, заглавие, название журнала. В конце реферата следует указать количество таблиц, рисунков, библиографические сведения. После реферата слева в квадратных скобках нужно указать научное учреждение, в котором выполнена работа. Реферат должен быть подписан автором.

6. **Иллюстрации** — четкие фотографии на глянцевой бумаге и рисованные графики на кальке или белой чертежной бумаге — следует представлять в двух экземплярах (в надписанном конверте). Надписи на иллюстрациях должны быть выполнены карандашом. На обороте иллюстрации следует обозначить карандашом ее номер, фамилию автора и сокращенное название статьи, а в случае необходимости отметить верхний и нижний край.

7. **Фамилии цитируемых авторов** следует давать в транскрипции, соответствующей тексту статьи и в оригинальной — в списке литературы. **Список литературы** составляется по алфавиту. В начале списка необходимо приводить литературу грузинским или русским шрифтом, а затем латинским. После порядкового номера (в тексте статьи он ставится в квадратные скобки) следует давать фамилию и инициалы авторов, название издания, затем: для **периодических** изданий — том, страницы (от и до), год; для **непериодических** — название издательства, место, год издания и страницы.

8. Рукописи, оформленные без соблюдения указанных правил, а также не соответствующие профилю журнала, возвращаются автору. Все рукописи проходят рецензирование.

9. Публикация статей производится в порядке очередности их поступления, за исключением работ, заказанных редакцией.

10. **Корректуры** статей даются авторам для проверки, правки и визирования. Изменения и дополнения в тексте корректур не допускаются, за исключением исправления ошибок и спечатак. Выправленные корректуры возвращаются в редакцию в трехдневный срок. При задержке корректур редакция публикует статьи по первоначальным текстам.

11. Редакция оставляет за собой право сокращать и исправлять тексты статей.

12. Авторы получают бесплатно 12 отдельных оттисков.

Утверждено Президиумом Академии наук ГССР 14.II.1974 г.

f 128/137



Цена 70 коп.

76 204