

✓ К-14038

П304439

ВЕСТНИК

ХАРЬКОВСКОГО
УНИВЕРСИТЕТА

№ 226

1982г

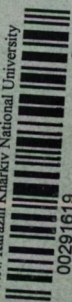
НОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ВОЗРАСТНОЙ
ФИЗИОЛОГИИ И БИОХИМИИ, ПРИРОДЕ
ГЕТЕРОЗИСА И ЭКОЛОГИИ ЖИВОТНЫХ

1 р. 10 к.



Вестн. Харьк. ун-та, 1982, № 226, 1—103+10.

V.N. Karazin Kharkiv National University



00291619

0

МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО
СПЕЦИАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ УССР

ВЕСТНИК
ХАРЬКОВСКОГО
УНИВЕРСИТЕТА

№ 226

НОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ВОЗРАСТНОЙ
ФИЗИОЛОГИИ И БИОХИМИИ, ПРИРОДЕ
ГЕТЕРОЗИСА И ЭКОЛОГИИ ЖИВОТНЫХ

Основан в 1964 г.

ХАРЬКОВ
ИЗДАТЕЛЬСТВО ПРИ ХАРЬКОВСКОМ
ГОСУДАРСТВЕННОМ УНИВЕРСИТЕТЕ
ИЗДАТЕЛЬСКОГО ОБЪЕДИНЕНИЯ «ВИЩА ШКОЛА»

1982

Новые исследования по возрастной физиологии и биохимии, природе гетерозиса и экологии животных. — Вестн. Харьк. ун-та, № 226. — Харьков: Вища школа. Изд-во при Харьк. ун-те, 1982, с. 103+10.

В вестнике представлены результаты исследований кафедр биологического факультета и отделов НИИ биологии Харьковского государственного университета по физиологии, биохимии, генетике и зоологии. Рассмотрены проблемы возрастной физиологии, биохимии и биологии, проблемы гетерозиса и зоологии.

Для преподавателей вузов, научных работников, аспирантов, изучающих проблемы современной биологии.

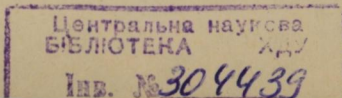
Списки лит. в конце статей.

Редакционная коллегия: В. Н. Никитин (отв. ред.), Н. Г. Шестопалова (зам. отв. ред.), П. А. Калиман (зам. отв. ред.), В. Г. Шахбазов, Е. В. Парина, А. П. Крапивный, В. П. Кудокочев, В. С. Солодовникова (отв. секр.).

Печатается по решению Ученого совета биологического факультета Харьковского государственного университета (протокол № 1 от 5 декабря 1980 года).

Адрес редакционной коллегии: 310077, Харьков-77, пл. Дзержинского, 4, Харьковский государственный университет, биологический факультет, тел. 40-18-50.

Редакция естественнонаучной литературы



УДК 577.1:547.96:591

В. Н. НИКИТИН, акад. АН УССР, д-р биол. наук,
А. И. КЛИМЕНКО, канд. биол. наук, А. Ф. КОЧЕНКОВ,
Л. Я. ПОПОВА, канд. биол. наук, Л. Н. БЛОК, канд. биол. наук,
А. А. КРАСНИЦКАЯ, канд. биол. наук, А. Б. МАЛЫШЕВ, канд.
биол. наук, Г. А. НЕСТЕРЕНКО, канд. биол. наук,
Г. А. АНОХИНА, канд. мед. наук, Н. А. БАБЕНКО

**ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СОСТАВА И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ
АКТИВНОСТИ ЯДЕРНО-ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ СТРУКТУР
КЛЕТОК ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС**

Для исследования брали клетки печени белых крыс линии Вистар в возрасте 1, 3, 12 и 24 месяца в условиях нормы и различных воздействий на организм. Установлено [1], что у интактных животных отношение РНК/ДНК в ядрах и цельной ткани печени максимально в 3-месячном возрасте, а затем уменьшается к старости. Содержание в среднем в одном ядре различных фракций белков, прежде всего богатых аргинином гистонов и негистоновых белков (НГБ), с возрастом увеличивается. Введение животным инсулина в дозе 0,8 ед. на 100 г массы не вызывает изменения в ткани печени и ядрах гепатоцитов концентрации ДНК, а количество РНК и различных фракций белков по сравнению с интактной нормой, принятой

Таблица 1

Возраст- ных, мес.	Р, контроль- опыт	Цельные клетки		Ядра гепатоцитов					
		РНК/ДНК	Общий бе- лок/ДНК	РНК/ДНК	Общий бе- лок/ДНК	Гистоны общие/ДНК	Аргинин-бо- гатые гисто- ны/ДНК	Лизин-бога- тые гисто- ны/ДНК	НГБ/ДНК
1		144	132	147	156	116	93	152	162
	P ₁ мес	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05	<0,05
3		128	134	142	120	90	78	121	122
	P ₃ мес	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05
12		96	107	122	124	102	92	126	123
	P ₁₂ мес	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05
24		94	117	95	117	96	90	116	111
	P ₂₄ мес	>0,05	<0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05

Таблица 2

Возраст крыс, мес.	Время экспозиции включения метки в белки ядер и хроматина печени (имп/мин. мг белка)					
	15 мин.	1 ч	2 ч	6 ч	24 ч	96 ч
Глобулины						
1	606± 45(57)	881± 65(83)	1057± 74(100)	979± 77(93)	793± 46(75)	543± 30(52)
3	664± 39(55)	1107± 80(81)	1209± 82(100)	1206± 83(100)	763± 59(63)	440± 26(36)
24	843± 62(38)	1759± 101(72)	2422± 103(100)	2361± 107(97)	1518± 97(62)	807± 47(33)
Кислые белки ядер						
1	439± 29(49)	654± 47(74)	882± 52(100)	702± 48(79)	482± 33(55)	309± 22(35)
3	442± 20(69)	589± 39(92)	641± 25(100)	515± 19(80)	495± 29(77)	305± 17(47)
24	487± 28(58)	776± 52(93)	833± 34(100)	777± 41(93)	565± 34(67)	264± 18(32)
Кислые белки хроматина						
1	449± 23(46)	713± 57(74)	955± 68(100)	653± 33(67)	475± 32(50)	214± 15(22)
3	812± 48(67)	1207± 84(100)	989± 71(82)	587± 27(49)	540± 30(45)	213± 20(18)
24	694± 37(50)	1140± 65(82)	1377± 93(100)	1061± 79(77)	665± 38(41)	318± 23(23)
Гистоны ядер						
1	2158± 110(45)	3841± 180(80)	4756± 201(100)	4252± 236(89)	3469± 195(73)	2794± 102(59)
3	2084± 104(54)	3508± 120(91)	3825± 160(100)	3821± 128(100)	3368± 108(88)	2890± 131(75)
24	2264± 97(45)	4694± 198(93)	5054± 264(100)	4747± 199(94)	3678± 140(72)	2791± 117(55)
Гистоны хроматина						
1	2489± 120(56)	3491± 163(78)	4443± 187(100)	3851± 114(86)	3028± 111(68)	2436± 116(55)
3	2732± 124(69)	3579± 164(91)	3923± 158(100)	3581± 102(91)	2986± 117(76)	1790± 87(43)
24	2295± 98(39)	4165± 125(72)	5769± 219(100)	4383± 177(76)	3448± 129(59)	2888± 135(55)

Примечание. В скобках показан процент удельной радиоактивности в белках относительно ее максимального значения в каждой возрастной группе.

нами за 100%, значительно изменяется (табл. 1). Так, в ткани печени молодых (1 и 3 месяца) животных увеличивается количество РНК и общего белка. В ядрах клеток печени инъекции инсулина вызывают повышение отношения РНК/ДНК и НГБ/ДНК также и у 12-месячных крыс, а количество лизинбогатого гистона и общего белка — у животных всех исследованных возрастных групп. Таким образом, анаболическое для белков и нуклеиновых кислот действие инсулина, в отличие от действия исследованных ранее препаратов андрогенов [2], полноценно выражено в ядрах клеток печени практически на всех изученных этапах онтогенеза. Выявляются при этом только небольшие возрастные различия. Установлено различное анаболическое действие ранее изученных препаратов тестостерона, андростанозола [2] и инсулина на белково-нуклеиновый «фон», в котором происходит функционирование хроматина. Таким образом, близкий по сути анаболический эффект действия различных по своей природе гормонов осуществляется через разные спектры белково-нуклеинового «фона» ядер и цитозола.

В табл. 2 показан метаболизм глобулиновых, кислых и гистоновых белков ядер и хроматина печени на разных этапах постнатального онтогенеза. Выявлен ряд специфических особенностей обмена этих белков при сопоставлении друг с другом и в возрастном аспекте (табл. 2). Анализируя данные по достижению исследованными белками максимальной радиоактив-

Таблица 3

Время, мин	Возраст крыс, мес.			
	1	3	12	24
Кровь				
1	1741	1190	946	943
3	2238	2545	2682	2496
10	2383	2510	3375	2938
30	1611	1856	2131	2299
60	1290	1376	1782	1771
90	1000	1200	1500	1400
120	642	1134	1360	1182
Печень				
1	1680	1515	1050	800
3	1722	2277	2278	2541
10	2658	3000	3649	3806
30	2377	2630	2801	3198
60	2400	2588	2490	2855
120	1587	1428	1973	1913

ности после введения меченых предшественников в организм подопытных животных и ее последующей убыли вплоть до

окончания эксперимента на четвертые сутки, можно сделать вывод, что из трех классов изученных ядерных белков наиболее пониженным обменом обладают гистоны, затем по интенсивности метаболизма следуют глобулиновые белки. Кислые белки принадлежат к наиболее метаболизируемому классу ядерных белков. В составе хроматина скорость обмена гистонов и особенно кислых белков выше, чем в составе цельных ядер. Значительные возрастные различия в обмене изученных классов белков на уровне цельных ядер и в изолированном хроматиновом комплексе отсутствуют.

Динамика распределения меченых предшественников белков в крови и ткани печени крыс показана в табл. 3. Как видно, величина радиоактивности крови через 1 мин после введения изотопа наиболее высока у неполовозрелых животных и заметно ниже у крыс других возрастов, особенно у взрослых и старых. Это, вероятно, является следствием более интенсивного и быстрого проникновения меченых предшественников белков из брюшной полости в кровь неполовозрелых животных. Однако спустя 3 мин после введения изотопа интенсивность радиоактивности крови кардинально меняется: наиболее низка она у неполовозрелых животных. Возможно, что с возрастом значительно уменьшается степень разбавления кровью метки, проникшей из брюшной полости, вследствие уменьшения в онтогенезе суммарного объема крови в организме относительно массы тела. Кроме того, можно предположить, что с возрастом животных понижается скорость транспорта метки из кровяного русла в ткань, в результате чего уровень радиоактивности крови также должен возрастать. Более вероятным является первое допущение, так как возрастная динамика радиоактивности пула свободных аминокислот в ткани печени аналогична таковой для крови. (В табл. 3 показан уровень радиоактивности C_{pt} после внутрибрюшинного введения C^{14} -гидролизата белков, 10 мС/100 г массы тела). Это позволяет сделать заключение об одинаковой интенсивности проникновения изотопа из крови в ткань печени у животных всех возрастных групп. Постепенное уменьшение с возрастом животных уровня радиоактивности пула свободных аминокислот в печени через 1 мин после введения метки в брюшную полость, вероятно, может быть детерминировано снижением поступления изотопа из брюшной полости в кровь при старении животных.

Таким образом, увеличение с возрастом животных включения меченых предшественников в белки ядер и хроматина печени (если судить по единичному интервалу времени) скорее всего является не результатом усиления в онтогенезе, а следствием более высокой концентрации метки в организме из-за уменьшения общего объема крови относительно массы тела и величины пула свободных аминокислот в клетках печени.

Учитывая, что фосфолипиды играют существенную роль в структуре и функции клеточного ядра, а также то, что в их обмене основное место принадлежит жирным кислотам, мы изучили фосфолипазы (ФЛ) ядер клеток печени, гидролизующие отщепление остатков жирных кислот от молекул фосфолипидов. Показано, что ядра клеток печени крыс изученных возрастных групп обладают ФЛ-активностью, проявляющейся при кислых (4,5) и щелочных (8,9) значениях рН в присутствии ионов Са. В табл. 4 представлены данные о ФЛ-активности при рН 4,5 ядер клеток печени нормальных и тиреоидэктомированных крыс разного возраста, выраженной в ннг жирных кислот на мкг белка. Показано, что она достоверно нарастает у крыс 3-месячного возраста по сравнению с 1-месячными, а затем несколько снижается у 12 и 24-месячных животных, оставаясь, однако, на достаточно высоком уровне.

Таблица 4

Группа крыс	Возраст крыс, мес.			
	1	3	12	24
Фосфолипазная активность ядер клеток печени крыс				
Норма	6,24±1,43	20,90±3,80	12,04±1,87	16,18±1,37
Тиреоидэктомия	33,90±5,94	56,50±4,85	51,65±5,97	32,16±3,19

Примечание: Р ФЛ-активности: норма — тиреоидэктомия <0,001.

После тиреоидэктомии подопытных животных значительно увеличивается ФЛ-активность ядер клеток печени крыс всех изучавшихся возрастов (табл. 4; $P < 0,001$). В то же время достоверно снижается содержание почти всех изучавшихся фракций фосфолипидов (данные для 24-месячных тиреоидэктомированных крыс, выраженные в ннг липидов на мкг белка, приведены в табл. 5).

Таблица 5

Группа крыс	Фракции фосфолипидов ядер клеток печени 24-месячных крыс					
	лизофосфатидил-холин	сфингомиелин	фосфатидилхолин	фосфатидилэтанол-амин	кардиолипин	сумма фосфолипидов
Норма	5,98±0,95	10,30±1,77	103,94±7,58	61,66±7,83	18,46±1,05	200,34
Тиреоидэктомия	5,91±1,63	4,86±1,27*	57,66±6,74*	34,38±3,30*	13,22±1,52*	116,03*

Примечание: *Р-фракций липидов: норма — тиреоидэктомия <0,05.

Значительные изменения фосфолипазной активности и фосфолипидного состава ядер клеток, обнаруженные в печени тиреоидэктомированных животных, позволяют сделать вывод о важной роли фосфолипидов клеточного ядра в регуляции действия тиреоидных гормонов.

Таблица 6

Рибосомы печени крыс разного возраста, мес.	Цитозол печени крыс разного возраста, мес.	Эндогенное включение ^{14}C -фенилаланина		Включение ^{14}C -фенилаланина, стимулированное поли-У	
		Имп/мин/1мг РНК рибосом	n	Имп/мин/1 мг РНК рибосом	n
1	1	2100±568	9	3648±522	8
1	24	1340±377	8	2250±684	8
3	3	2440±521	8	2922±582	7
12	12	1770±474	9	2910±432	8
24	24	1551±377	8	1734±366	8
24	1	2160±444	8	768±364	8

Результаты исследования возрастных изменений активности рибосом и цитозола (два необходимых компонента бесклеточной белоксинтезирующей системы) приведены в табл. 6. При инкубации обработанных дезоксихолатом натрия кратковременно преинкубированных рибосом печени крыс с цитозолом той же печени уровень эндогенного белкового синтеза *in vitro* несколько повышался между 1-м и 3-м месяцами и снижался к старости ($P<0,05$). Такая же закономерность обнаружена нами ранее на непреинкубированных детергентных рибосомах [3]. Перекрестные опыты с рибосомами и цитозолом печени 1- и 24-месячных крыс позволяют заключить, что возрастное снижение уровня эндогенного синтеза белков *in vitro* определяется возрастом животных, от которых получен цитозол. Эти результаты могут быть следствием обеднения цитозола печени старых животных какими-то необходимыми для белкового синтеза компонентами.

Оценка включения в белок ^{14}C -фенилаланина, стимулированного добавлением *in vitro* полиуридиновой кислоты (поли-У), позволяет судить не только о скорости удлинения начатых полипептидных цепей, но и об уровне инициации новых цепей на синтетической экзогенной матрице. Уровень этого включения с возрастом снижается ($P<0,05$). Особенно резкое уменьшение наблюдалось между 12-м и 24-м месяцами. В этом случае возрастная картина зависла, по-видимому, и от цитозола, и от рибосом. При замене «своего» цитозола цитозолом печени старых животных уровень стимулированного поли-У синтеза рибосомами печени 1-месячных крыс уменьшался, как и эндогенный синтез. Неожиданным было резкое снижение стимулированного поли-У синтеза рибосомами печени 24-месячных крыс

при замене «своего» цитозола цитозолом печени молодых животных. Эти данные позволяют предположить, что с возрастом меняется набор каких-то регулирующих факторов цитозола и чувствительность рибосом к ним.

Настоящая статья охватывает часть исследований в области молекулярной биологии старения, проводимых Харьковской школой возрастной физиологии, биохимии и биофизики в 1978—1980 гг. В них удалось установить ряд возрастных особенностей состава и функциональной активности хроматина, ядер, рибосом и цельных клеток печени белых крыс в норме и при экспериментально измененной гормональной ситуации организма.

Список литературы: 1. Коченков А. Ф. О возрастных изменениях макромолекулярного состава ядер клеток печени белых крыс. — Молекулярные и физиологические механизмы возрастного развития. — Киев: Наук. думка, 1975, с. 159—167. 2. Коченков А. Ф. Возрастные особенности изменений макромолекулярного состава ядер клеток печени белых крыс при гормональных воздействиях. — Тезисы VII Всесоюз. симпозиума по структуре и функции клеточного ядра. — Харьков, 1980, с. 88. 3. Блок Л. Н., Красницкая А. А., Анохина Г. А., Никитин В. Н. Синтез белка *in vitro* микросомами и рибосомами печени крыс разного возраста. — В кн.: Молекулярные и физиологические механизмы возрастного развития. — Киев: Наук. думка, 1975, с. 142—148.

Поступила в редколлегию 19.11.80.

УДК 577.3.576.3

А. И. НОВИКОВА, канд. биол. наук, Н. В. МАКОГОН

МЕМБРАННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ГОРМОНАЛЬНОГО ЭФФЕКТА У ЖИВОТНЫХ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Создание и поддержание электрического потенциала является фундаментальным свойством плазматической мембраны и мембран субклеточных структур. Электрические сигналы проводят все виды жизнедеятельности клеток, тканей и органов.

Изменения функционального состояния клеток коррелятивно связаны с изменением мембранного потенциала: действие мембранного потенциала может реализоваться через регуляцию транспорта ионов, направление отдельных потоков субстратов и метаболитов и т. п. Некоторые исследователи считают, что потенциал может быть полифункциональным регулятором активности локализованных в плазматической мембране белков-ферментов [1], показателем гормонального эффекта на уровне клетки [2]. С возрастом наблюдаются заметные изменения уровня катехоламинов в русле крови и их метаболических эффектов на уровне печени. Интересно изучить возрастные особенности действия адреналина на уровне мембранного потенциала покоя главной метаболической мишени адреналина — печени.

Наши исследования проводились на белых крысах линии Вистар трех возрастов: 1, 3 и 24 месяца. Мембранный потенциал (МП) измеряли микроэлектродным методом [3]. Опыты проводили на наркотизированных животных (нембутал 30 мг на 1 кг массы тела). Измеряли *in vivo* на 10-й, 20-й, 30-й, 60-й и 90-й минутах у контрольных и опытных животных после того, как подопытным животным в нижнюю полую вену вводили адреналин в дозе 30 γ /100 г массы тела, контрольным — равный объем растворителя. Полученные результаты обработаны вариационно-статистическим методом.

Влияние адреналина на величину мембранного потенциала клеток печени у животных разного возраста ($M \pm m$, МП—мв) показано в таблице.

Возраст, мес.	Группа животных	Время, мин, $M \pm m$				
		10	20	30	60	90
1	H	42,7 $\pm$ 0,6	42,2 $\pm$ 1,3	41,5 $\pm$ 0,9	40,9 $\pm$ 0,7	33,3 $\pm$ 0,1
	O	31,9 $\pm$ 0,3	36,1 $\pm$ 1,4	39,1 $\pm$ 0,9	42,4 $\pm$ 2,5	43,1 $\pm$ 0,2
	P	p<0,01	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05
3	H	49,5 $\pm$ 0,4	48,7 $\pm$ 0,9	48,1 $\pm$ 1,0	47,0 $\pm$ 0,5	46,3 $\pm$ 0,9
	O	30,0 $\pm$ 0,3	36,4 $\pm$ 0,3	41,0 $\pm$ 0,4	44,0 $\pm$ 0,7	48,0 $\pm$ 0,6
	P	p<0,01	p<0,01	p<0,01	p<0,05	p>0,05
24	H	43,9 $\pm$ 0,4	44,2 $\pm$ 0,9	44,1 $\pm$ 0,3	43,0 $\pm$ 0,7	42,0 $\pm$ 0,6
	O	30,6 $\pm$ 0,7	33,9 $\pm$ 0,6	35,5 $\pm$ 1,1	37,0 $\pm$ 0,5	38,7 $\pm$ 0,3
	P	p<0,05	p<0,01	p<0,01	p<0,05	p<0,05

Примечание: H — норма; O — опыт.

Мембранный потенциал у контрольных животных несколько снижается в условиях длительного опыта, что, по-видимому, связано с нарушением теплового режима ткани и ее увлажнения. Под влиянием адреналина у животных всех возрастов отмечается выраженная деполяризация на 10-й минуте, наибольшая — по абсолютной величине у 3-месячных животных — на 39,3%, у 1-месячных — на 25,4, у 24-месячных — на 30,4%. Во всех возрастных группах вслед за деполяризацией развивается реполяризация. У 1-месячных крыс к 30-й минуте МП у контроля и опыта почти одинаков, но к 90-й минуте у подопытных животных наблюдается гиперполяризация, явление инактивации. У 3-месячных животных к 30-й минуте МП в опыте достигает 85% от контроля и к концу восстанавливается полностью. У 24-месячных животных реполяризация очень замедленная и к 90-й минуте опыта МП не возвращается к норме.

Таким образом, МП отражает возрастные особенности ответа печени на адреналин. Динамика МП у животных разного возраста с большим приближением повторяет динамику гли-

жемии у тех же животных, как показано нами ранее. Это позволяет сделать предположение о том, что МП клеток печени можно рассматривать как показатель метаболической реакции на гормональное действие.

Список литературы: 1. *Остроумов С. А., Воробьев Л. Н.* Мембранный потенциал как возможный полифункциональный регулятор активности мембранных белков. — Науч. докл. Биол. науки, 1976, № 7. с. 22—27. 2. *Зоров Д. Б.* Связь $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФ-азы с транспортом веществ через клеточные мембраны. — Вестн. Моск. ун-та, № 4, Биол. и почвовед., 1974, с. 39. 3. *Костюк П. Г.* Микроэлектродная техника. — Киев: Наук. думка, 1960. — 147 с.

Поступила в редколлегию 25.11.80.

УДК 577.7:578.087.71

Ю. В. БОЯНОВИЧ

ВОЗРАСТНЫЕ СТЕРЕОТАКСИЧЕСКИЕ КООРДИНАТЫ ГИПОТАЛАМУСА КРЫС ЛИНИИ ВИСТАР

В возрастной физиологии в настоящее время большое внимание уделяется изучению гипоталамуса, регулирующего деятельность самых разных вегетативных систем организма [1]. Значительное место в таких исследованиях занимают методы электрофизиологии. Стереотаксические карты, позволяющие прицельно вживлять электроды в различные участки гипоталамуса, разработаны для зрелых животных и не учитывают изменений размеров и конфигурации черепа и головного мозга, происходящих по мере их созревания. Кроме того, в таких картах не учитываются половые различия в размерах черепа и мозга, которые имеют место на определенных этапах развития [2, 3].

Обычно поправочные коэффициенты к стереотаксическим координатам определяются как отношения длины, ширины и высоты черепа или лямбда-бregмального расстояния животных стандартной массы (150—180 г) к соответствующим параметрам размера черепа животного возраста, интересующего исследователя.

Такой метод определения поправочных возрастных коэффициентов обычно дает большую ошибку, так как размеры глубоких мозговых структур при развитии животного могут меняться с иной скоростью и даже в совершенно ином направлении, чем размеры черепа. Поэтому для создания достоверных поправочных коэффициентов более целесообразно произвести гистологические срезы мозга в разных направлениях с непосредственным измерением размеров глубоких структур головного мозга и их расположение относительно точек отсчета на поверхности черепа (например, брегмы).

На большом статистическом материале (288 животных 1-, 3-, 12- и 24-месячного возраста) отдельно для самцов и самок путем тщательных обмеров сагиттальных и фронтальных срезов головного мозга животных с последующей статистической обработкой по методу Стьюдента-Фишера получены стереотаксические карты координат ростральной, каудальной, дорзальной, вентральной и латеральных границ гипоталамической области.

Координаты границ гипоталамической области приведены ниже.

		L_1	m	L_2	m	H_1	m	H_2	m	S	m
Самцы	1	0,76	0,07	2,91	0,08	6,88*	0,09	8,93*	0,09	3,32	0,08
	3	1,13	0,08	3,37	0,08	7,25	0,07	9,34	0,08	3,60	0,08
	12	1,39	0,14	3,87*	0,15	7,78	0,12	10,17	0,12	3,92	0,16
	24	1,63	0,09	3,97*	0,08	8,40*	0,08	10,71	0,08	4,36*	0,10
Самки	1	0,64	0,09	2,65	0,15	7,26*	0,13	9,22*	0,10	3,32	0,08
	3	0,99	0,06	3,34	0,06	7,33	0,06	9,38	0,07	3,63	0,09
	12	1,26	0,10	3,52*	0,08	7,96	0,07	10,20	0,06	3,90	0,10
	24	1,49	0,08	4,35*	0,12	8,04*	0,09	10,62	0,10	4,72*	0,14

Обозначения: L_1 , L_2 — кратчайшие расстояния от вертикальной фронтальной плоскости, проходящей через брегму перпендикулярно к плоскости, касательной к поверхности черепа в точке брегмы, до ростральной L_1 и каудальной L_2 границ гипоталамуса; H_1 , H_2 — расстояние от плоскости, касательной к поверхности черепа в точке брегмы до дорзальной H_1 и вентральной H_2 границ гипоталамуса; S — ширина гипоталамуса, измеренная во фронтальных срезах, проходящих через наиболее широкий участок гипоталамуса.

Здесь даны также значения средней ошибки репрезентативности m . Осуществлена статистическая обработка различий между приведенными параметрами для самцов и для самок. Отмечены значения, оказавшиеся статистически достоверно различными (уровень достоверности — 95%) у самцов и самок.

Список литературы: 1. Баклаведжян О. Г. Гипоталамус. — Общая и частная физиология нервной системы. — Л.: Наука, 1969, с. 362—386. 2. Groot I. — The rat forebrain in stereotaxic coordinates. *Verhandelingen der Koninklijke Nederlandse Akademie Van Wetenschappen, afd. natuurkunde*. — Tweede reeks, Amsterdam, 1959, 521/4. p. 1—40. 3. Fířková E., Mařala I. — Stereotaxie podkorových struktur mozku krysy, kralíka a kocky. — *Státní zdravotnické nakladatelství*. — Praha, 1960.

Поступила в редколлегию 29.10.80.

УДК 577.171:577.112

В. А. МАЛЕЕВ

СТАБИЛИЗАЦИЯ АДРЕНАЛИНОМ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Адреналин активизирует в печени ряд энергозависимых процессов и связанных с ними ферментов. Важнейшим по физиологическому значению является глюконеогенез. В его гормо-

нальной регуляции непосредственное участие принимают митохондрии, что определяется поставкой ЩУК (шавелевоуксусной кислоты) и богатых энергией соединений. Транспорт пирувата в митохондрии, его карбоксилирование в ЩУК стимулируются адреналином [1—3]. Показано, что повышение отношения АТФ/АДФ в митохондриях способствует активации пируват карбоксилазы. Предполагается, что повышение концентрации ионов Mg^{++} в митохондриях является важным условием гормонального контроля глюконеогенеза.

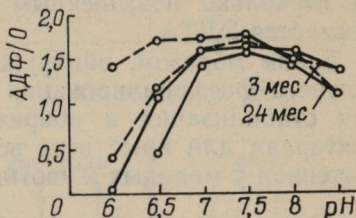
Несмотря на то что окончательный молекулярный механизм гормональной стимуляции глюконеогенеза на уровне митондрий не установлен, нет сомнения, что повышение окислительного фосфорилирования в митохондриях является важным моментом в действии адреналина как на этот процесс, так и в реализации его физиологического действия на метаболизм печени в целом.

Мы изучали действие адреналина на окислительное фосфорилирование в митохондриях печени крыс в широком интервале РН в среде с Mg^{++} , с ЭДТА и без них.

Для опыта брали крыс в возрасте 1, 3, 12 и 24 месяца. Адреналин вводили из расчета 50 мкг на 100 г массы внутривенно. Митохондрии выделяли по общепринятой методике в сахарозной среде. Окислительное фосфорилирование изучали полярографическим методом в интервале РН от 6 до 8,5.

В результате опыта обнаружено, что при закислении среды инкубации происходит более резкое падение показателей окислительного фосфорилирования, чем при защелачивании. На рисунке показаны возрастные особенности регуляции адреналином окислительного фосфорилирования при разных РН среды инкубации митохондрий (— — — — адреналин; — норма). Снижение дыхательного контроля и отношения АДФ/О в кислой среде значительно сдерживается адреналином. Падение этих показателей в кислой среде было более резким у старых животных, а стабилизирующее действие адреналина сильнее выражено у 1- и 3-месячных животных (рисунок). Скорость дыхания в 4-м состоянии увеличивается при закислении среды и при РН6 становится близкой к таковой при полном разобщении в митохондриях контрольных животных, т. е. дыхательный контроль отсутствует. Митохондрии адреналиновых крыс обладают способностью выхода в 4-е состояние после истощения АДФ в этих условиях.

Причиной более резкого падения сопряженности окислительного фосфорилирования в кислой среде является неорганический



фосфат, так как он повышает уровень нефосфорилирующего окисления. Магний в значительной мере сдерживает снижение показателей в кислой среде и сглаживает гормональные различия. ЭДТА практически полностью снимает различия в сопряженности митохондрий в кислой среде, вызванное как адреналином, так и возрастом. Потребление кислорода остается несколько повышенным у адреналиновых животных и не снимается ЭДТА.

Таким образом, обнаружена не только стимуляция окислительного фосфорилирования адреналином, но и его значительная стабилизация к повреждающему действию фосфата, характерная для крыс всех возрастных групп, однако более выраженная у молодых животных.

Список литературы: 1. Haynes R. C. Mechanism of hormonal control of gluconeogenesis. — *Metabolism*, 1976, 25, N 11, p. 1361—1363. 2. Titheradge M. A. and Core H. G. Hormonal regulation of liver mitochondria pyruvate carrier. — *FEBS LETTERS*, 1976, 71, N 2, p. 73—78. 3. Titheradge M. A. and Core H. G. Hormonal regulation of liver mitochondrial pyruvate carrier in relation to gluconeogenesis and lipogenesis. — *FEBS LETTERS*, 1976, 71, N 1, p. 73—78.

Поступила в редколлегию 21.11.80.

УДК 591.1.15

Е. С. ГРИНЧЕНКО, канд. биол. наук, Р. К. МАКОВОЗ, канд. биол. наук, А. ГАБИРИЯ, Р. ФЛЕТЧЕР

НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЖИРОВОГО ОБМЕНА В ОРГАНИЗМЕ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ КАЛОРИЙНО НЕДОСТАТОЧНОМ ПИТАНИИ

Длительное применение калорийно недостаточной диеты оказывает регулирующее влияние на процессы метаболизма, формируя адаптационные изменения в обмене веществ, способствующие продлению жизни. Так как экспериментальная диета ограничена содержанием углеводно-жировых компонентов, представляет интерес изучить некоторые стороны жирового обмена у крыс в условиях пролонгирования жизни.

Исследования проводились на самцах белых крыс линии Вистар в возрасте 3, 12 и 24 месяца, содержащихся на периодическом калорийно недостаточном питании (опыт) и на обычном лабораторном рационе (контроль). Свободные жирные кислоты (СЖК) в плазме крови и в экстрактах липидов из печени определяли методом Данкомба [1]. Общие липиды в плазме крови находили по цветной реакции с сульфифосфованиловым реактивом, β -липопротеиды — турбидиметрическим методом (по Бурштейну и Самай) [2]. Нагрузки глюкозой производили из расчета 100 мг на 100 г массы тела, нагрузки инсулином — 0,8 ед. на 100 г массы тела.

У крыс в условиях экспериментальной диеты содержание в плазме крови общих липидов ниже, чем у контрольных животных, и заметно увеличивается лишь к 3,5—4 годам, тогда как в норме концентрация общих липидов повышается к 24 месяцам. Уровень β -липопротеидов, являющихся одной из основных форм транспорта липидов, также увеличивается во второй половине онтогенеза (таблица).

Возраст, мес.	Общие липиды в плазме, мг %		СЖК в плазме, мкм/мл		СЖК в печени, мкм/г					
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль			опыт		
					без нагрузки	инсулин, 30 мин	инсулин, 150 мин	без нагрузки	инсулин, 30 мин	инсулин, 150 мин
1	156 ± 13		0,878 $\pm 0,041$	—	28,4 $\pm 4,7$	28,1 $\pm 3,8$	41,6 $\pm 4,2$	—	—	—
3	168 ± 14	153 ± 13	0,832 $\pm 0,063$	0,598 $\pm 0,083$	28,6 $\pm 5,6$	39,1 $\pm 4,6$	39,4 $\pm 3,8$	29,8 $\pm 4,8$	34,7 $\pm 5,1$	24,6 $\pm 3,8$
12	169 ± 12	150 ± 11	0,608 $\pm 0,043$	0,559 $\pm 0,072$	30,5 $\pm 5,8$	41,0 $\pm 5,7$	22,3 $\pm 4,1$	28,0 $\pm 5,4$	33,2 $\pm 4,7$	23,3 $\pm 4,6$
24	188 ± 11	163 ± 16	0,670 $\pm 0,039$	0,605 $\pm 0,080$	33,5 $\pm 4,1$	38,0 $\pm 3,6$	24,8 $\pm 4,2$	26,3 $\pm 4,3$	29,6 $\pm 5,6$	23,5 $\pm 5,1$
45		234								
48	—	± 3	—	—	—	—	—	—	—	—

Примечание. $P < 0,01$ при сравнении: а) уровня общих липидов в плазме внутри опыта (3—24 мес., 12—24 мес., 24—48 мес.); б) содержания СЖК в плазме крови внутри контроля (1—12 мес., 3—12 мес.); в) содержания СЖК в печени при нагрузках инсулином 30 мин и 150 мин внутри контроля (1 мес., 12 мес., 24 мес.).

Повышенное содержание СЖК при голодании является компенсаторным процессом расходования запасных жиров, обеспечивающих дальнейшую жизнедеятельность организма.

Как показали наши предыдущие исследования [3], у подопытных крыс, голодавших в течение 20—24 ч., содержание СЖК в плазме крови незначительно отличается от содержания их у контрольных животных, имея лишь тенденцию к снижению. У крыс всех изученных возрастов не прослеживалась корреляция между массой тела животного и концентрацией СЖК и общих липидов в плазме крови. Уровень СЖК в плазме крови при непродолжительном голодании зависит, скорее всего, от скорости метаболических процессов, а не от количества запасного жира. Так, согласно нашим исследованиям [3] и данным Жуковой А. С. [4], у старых животных (24 мес.) после 1 и 2 суток голодания концентрация СЖК в плазме крови повышается

меньше, чем у молодых. При изучении содержания СЖК в печени было показано, что у крыс, получавших экспериментальную диету, концентрация свободных жирных кислот достоверно не отличается от таковой у контрольных животных и не имеет возрастных различий. У 24-месячных крыс этой группы количество СЖК меньше, чем в контроле.

В ответ на нагрузки глюкозой и инсулином концентрация СЖК в печени контрольных крыс всех изученных возрастных групп повышается в течение первого часа, затем, через 2,5 ч снижается у животных 12- и 24-месячных. В печени крыс в условиях пролонгирования жизни содержание СЖК под влиянием кратковременных (30 мин) нагрузок глюкозой и инсулином имеет тенденцию к повышению, а через 2,5 ч незначительно снижается во всех возрастных группах.

Результаты наших исследований свидетельствуют о том, что калорийно недостаточная диета с ограниченным содержанием углеводов не снижает адаптационные возможности организма подопытных крыс, обеспечивая оптимальный уровень энергетических веществ.

Список литературы: 1. *Руководство по лабораторным занятиям по биологической химии*/Под. ред. Т. Т. Березова. — М.: Медицина, 1976. — 320 с. 2. Колб В. Г., Камышников В. С. Клиническая биохимия. — Минск: Беларусь, 1976, с. 152—171. 3. *Возрастные особенности влияния инсулина на показатели углеводно-жирового обмена у белых крыс при экспериментальном продлении жизни*/Е. С. Гринченко, Р. К. Маковоз, О. А. Коноваленко и др. Актуальные проблемы возрастной физиологии, биохимии и биофизики. — Киев: Наук. думка, 1979, с. 207—213. 4. Жукова А. С. Возрастные особенности мобилизации жира из адипозной ткани при голодании. — Адаптационные процессы в организме при старении. — Минск: Наука и техника, 1977, с. 45—51.

Поступила в редколлегию 17.11.80.

УДК 591.1.15

О. А. КОНОВАЛЕНКО

ОСОБЕННОСТИ ВЫВЕДЕНИЯ ИММУНОРЕАКТИВНОГО ИНСУЛИНА С МОЧОЙ У БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ПРОЛОНГИРОВАНИИ ЖИЗНИ

Ранее [1—3] было показано, что при старении происходят инволюционные изменения в функционировании инсулярного аппарата поджелудочной железы. Периодическое калорийно недостаточное питание как фактор, отдаляющий процессы старения, существенно влияет на деятельность инсулярного аппарата и способствует сохранению его активности на высоком уровне [3]. При этом, вероятно, затрагивается и такое важное звено обмена инсулина, как экскреция его с мочой.

Исследования проводили на белых крысах-самцах линии Вистар возрастом 3, 12, 24 месяца, которые с одномесечного возраста получали питание, полноценное по содержанию белка,

минеральных веществ и витаминов, но с низкой калорийностью (за счет ограничения углеводных и жировых компонентов). Для сбора мочи каждую крысу помещали в обменную клетку без пищи и воды.

Концентрацию иммунореактивного инсулина (ИРИ) в моче определяли радиоиндикационным методом с помощью наборов фирмы CEA—IRE—SORIN.

У животных в условиях пролонгирования жизни концентрация ИРИ в моче максимальна в 3 месяца, к 12 месяцам она снижается в 3,5 раза и остается примерно на этом уровне у 24-месячных крыс. Такая же закономерность обнаружена при определении количества ИРИ, выделенного с мочой за сутки: наибольшее значение этого показателя в 3 месяца, к 1 году он снижается и в дальнейшем стабилизируется.

При расчете ИРИ, выделившегося с мочой за сутки, на 100 г массы тела, обнаружено, что больше всего инсулина выводится у 3-месячных животных. К 12 месяцам относительная его экскреция уменьшается почти в 5 раз, к 24 месяцам происходит дальнейшее ее снижение (таблица).

№ п/п	Исследованный показатель	Возраст, мес.		
		3	12	24
1	Концентрация ИРИ в моче, мк ед/мл	34±5 n=9	10±2 n=16	10±3 n=16
2	Суточная экскреция ИРИ, мк ед	165±22 n=9	43±7 n=16	45±9 n=16
3	Относительная экскреция ИРИ с мочой за сутки, мк ед/100 г массы тела	235±27 n=9	48±4 n=16	38±3 n=16

Примечание. $P < 0,01$ при сравнении: 3—12 мес., 3—24 мес. (для 1, 2, 3); $p < 0,05$ при сравнении: 12—24 мес. (для 3); n — число опытов.

В норме [3] концентрация ИРИ в моче и суточное выведение этого гормона увеличивается с возрастом. К старости растет и относительная (на 100 г массы тела) его экскреция. Очевидно, это связано с нарушением в стареющем организме некоторых механизмов, ответственных за включение инсулина в процессы метаболизма, что в конечном итоге приводит в норме к возникновению относительного дефицита гормона в старости.

Экспериментальная диета, способствующая продлению жизни, приводит со временем к перестройке обменных процессов, в том числе и обмена инсулина. На первых этапах ее применения (в 3-месячном возрасте) ограниченное содержание углеводов при достаточно высоком синтезе инсулина приводит к возникновению как бы избытка этого гормона и усиленной экскреции его с мочой. В дальнейшем происходит адаптация к

условиям калорийно недостаточного питания и максимальное использование эндогенного гормона, что выражается и в уменьшении его экскреции с мочой во второй половине онтогенеза. Это наряду с достаточно высоким содержанием ИРИ в поджелудочной железе и крови [2] приводит к оптимальной обеспеченности организма подопытных животных инсулином и способствует полноценному вовлечению его в обменные процессы.

Список литературы: 1. *Effect of age on glucose oxidation by isolated rat islets.* — *Diabetologia*, 1980, 18, № 1, p. 69—71. 2. Никитин В. Н., Маковоз Р. К., Гринченко Е. С. и др. Иммунореактивный инсулин крови и поджелудочной железы крыс разного возраста в норме и при пролонгировании жизни. — В кн.: Актуальные проблемы возрастной физиологии, биохимии и биофизики. — Киев: Наук. думка, 1979, с. 223—229. 3. *Экскреция иммунореактивного инсулина с мочой в онтогенезе белых крыс*/Никитин В. Н., Маковоз Р. К., Гринченко Е. С. и др. — В кн.: Физиология, биохимия и биофизика возрастного развития. — Киев: Наук. думка, 1980, с. 173—177.

Поступила в редколлегию 13.11.80.

УДК 557.1+577.1.08

Л. А. УТЕВСКАЯ, Е. Э. ПЕРСКИЙ

ПРОСТОЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММАРНОГО И СВОБОДНОГО ОКСИПРОЛИНА В МОЧЕ

Величина суточной экскреции суммарного (свободного и пептидосвязанного) оксипролина является полезным диагностическим, а часто и прогностическим тестом при заболеваниях, характеризующихся нарушениями обмена коллагена. При ряде патологий (почечные заболевания, гиперпаратиреоз и др.) дополнительным тестом может служить уровень экскреции свободного оксипролина [1]. В клинической практике, несмотря на большое количество предложенных методов, определение суммарного оксипролина мочи наталкивается на ряд методических трудностей; определение же свободного оксипролина вообще проводится крайне редко. В настоящей работе описана простая методика определения суммарного и свободного оксипролина мочи, удобная для проведения серийных анализов в клинике. Эта методика основана на широко применяемом методе Стегемана в позднейшей модификации Стегемана и Сталдера [2], в которую нами был внесен ряд изменений. К ним в первую очередь относятся удаление белка из мочи при определении свободного оксипролина, нейтрализация гидролизата вместо удаления соляной кислоты выпариванием в вакууме, уменьшение времени гидролиза, изменение состава окисляющей смеси, в частности замена дефицитного хлорамина Т на хлорамин В. Кроме того, в этой модификации не проводится громоздкая операция удаления пигментов из мочи и ее гидролизатов с помощью колоночной хроматографии либо обработкой абсорбентами.

Определение оксипролина. Реактивы. Для определения оксипролина готовят два основных реактива. Реактив 1, окисляющий свободный оксипролин до пиррола, представляет собой 0,5 М раствор хлорамина Б. 1,25 г хлорамина Б растворяют в 10 мл H_2O , добавляют 25 мл *n*-пропанола, 10 мл этанола, 50 мл буфера рН 6 и доводят объем H_2O до 100 мл. Приготовление буфера: 50 г лимонной кислоты, 12 мл 96%-ной уксусной кислоты, 120 г ацетата натрия тригидрата, 34 г NaOH растворяют в H_2O и доводят объем до 1000 мл.

Реактив 2 — раствор *n*-диметиламинобензальдегида, который, конденсируясь с пирролом, дает окрашенное соединение с максимумом поглощения около 550 нм. Для приготовления раствора 15 г *n*-диметиламинобензальдегида растворяют в 50 мл *n*-пропанола, добавляют 26 мл 60%-ной хлорной кислоты и доводят объем *n*-пропанолом до 100 мл. При приготовлении реактивов вместо *n*-пропанола можно использовать равное количество изопропанола.

Ход определения. Суточную мочу очищают от механических примесей фильтрованием через бумажный фильтр. Для удаления белка мочу подкисляют концентрированной уксусной кислотой до рН 4—5 и кипятят на водяной бане в течение 15 мин. Выпавший белок отделяют центрифугированием (15 мин при 8000 об/мин). Супернатант нейтрализуют 10 н NaOH, выпавшие соли отделяют повторным центрифугированием. Если определяют только общий оксипролин, очистку от белка можно не проводить.

Гидролиз проводят в стеклянных запаянных ампулах с равным количеством 12 н HCl при 130°C в течение 3 часов. Гидролизат нейтрализуют растворами NaOH (10 н, 1 н, 0,1 н), добавляя в пробу 1—2 капли 0,5%-ного раствора фенолфталеина. Нейтрализованный гидролизат доводят до определенного объема дистиллированной водой и фильтруют через бумажный фильтр. 2 мл исследуемого раствора (гидролизата или мочи) смешивают с 1 мл раствора 1. Смесь тщательно перемешивают и оставляют на 20 мин при комнатной температуре. Затем добавляют 1 мл раствора 2, перемешивают и нагревают при 60°C в течение 15 мин.

Окрашенные пробы охлаждают до комнатной температуры и фотометрируют со светофильтром, имеющим максимум пропускания 550 нм против контрольных проб, содержащих 2 мл мочи или ее гидролизата и 2 мл дистиллированной воды. При этом ошибка, связанная с наличием пигментов, полностью снимается. Зависимость оптической плотности от концентрации соответствует закону Ламберта—Бера в пределах концентрации оксипролина в пробе 0,5—6 мкг.

С помощью описанной модификации была измерена суточная экскреция оксипролина у 25 здоровых мужчин в возрасте от 21 до 60 лет и у 40 белых крыс-самцов линии Вистар в возрасте

3 месяца. Средние величины суточной экскреции суммарного и свободного оксипролина у людей составили $34,6 \pm 3,4$ и $2,6 \pm 0,6$ мг, а у крыс соответственно $0,962 \pm 0,074$ и $0,109 \pm 0,070$ мг/кг массы тела, что хорошо согласуется с данными, полученными другими методами [3].

Список литературы: 1. Adams E., Frank L. Metabolism of proline and the hydroxyprolines. — Ann. Rev. Biochem., 1980, 49, p. 1005—1061. 2. Stegemann H., Stalder K. Determination of hydroxyproline. — Clin. Chim. Acta, 1967, 18, № 2, p. 267—273. 3. Kuttan R., Radhakrishnan A. N. Biochemistry of the hydroxyprolines. — Adv. Enzymol., 1973, 37, p. 273—347.

Поступила в редколлегию 24.11.80.

УДК 591.577

А. В. ПАРАНИЧ, Г. П. ТУРЧИНА

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ α -ТОКОФЕРОЛА В ПЛАЗМЕ КРОВИ БЕЛЫХ КРЫС В НОРМЕ

Известно, что с возрастом происходит ухудшение свойств мембран клетки из-за перекисного окисления их липидов.

α -Токоферол (α -ТФ) или витамин Е, являясь природным антиоксидантом, входит в состав мембран клеток. Исходя из этого, мы изучали изменение содержания α -ТФ в плазме крови крыс в онтогенезе и (как модель изменения свойств мембран клеток) степень спонтанного гемолиза эритроцитов, наиболее чувствительных к дефициту α -ТФ.

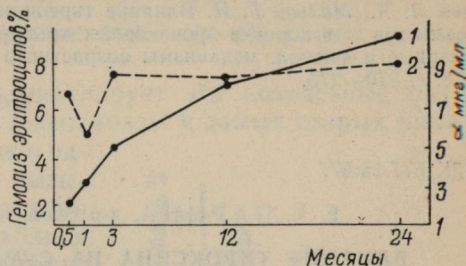
Исследования проводили на крысах-самцах линии Вистар 0,5-, 1-, 3-, 12- и 24-месячного возраста, содержащихся на обычном лабораторном рационе. За 18—20 ч до начала опыта животные не получали воды и пищи. Крыс декапитировали, собирали кровь в гепаринизированные пробирки, из которых часть брали для определения степени спонтанного гемолиза эритроцитов, а из остальной части получали плазму, в которой находили витамин Е. Содержание α -ТФ определяли методом Emmerie—Engel в модификации Bieri G., Prival E. [1]. Степень спонтанного гемолиза эритроцитов устанавливали по Jager F. [2]. Результаты исследований обрабатывали статистически по Стьюденту и методом пар [3].

Полученные данные о степени спонтанного гемолиза эритроцитов, % (1) и содержании α -токоферола в плазме крови, мкг/мл (2) в онтогенезе белых крыс приведены на рисунке и ниже.

Эти результаты свидетельствуют о нормальной устойчивости эритроцитов к гемолизу у животных 0,5-, 1-, 3-месячного возраста, где этот показатель не превышает 5%. У животных 12- и 24-месячного возраста проявляется склонность к повышенному спонтанному гемолизу эритроцитов, которая достигает 7,2

и 7,6% соответственно. Этот тест может косвенно характеризовать обеспеченность организма витамином Е [2].

Данные о содержании α -ТФ в плазме крови свидетельствуют о проявляющейся с возрастом тенденции к увеличению концентрации α -ТФ в плазме крови и согласуются с данными литературы [2, 4, 5]. Причем в раннем онтогенезе (1 мес.) наблюдается резкое падение содержания α -ТФ, связанное с периодом адаптации организма к условиям постнатального развития. Это подтверждают выводы Л. М. Двинской [6] о чувствительности молодого организма в первые недели жизни к дефициту витамина Е. При его недостатке значительно замедляется рост, снижается концентрация α -ТФ в сыворотке крови, однако содержание его в тканях, в частности в мозге, поддерживается на постоянном уровне. В наших исследованиях не было выявлено клинических признаков Е-авитаминоза, а изменение концентрации α -ТФ в плазме крови оказалось чувствительным тестом обеспеченности организма животных этим витамином.



Возраст, мес.	0,5	1	3	12	24
Гемолитическая эритроцитозность	2,34±0,63	2,84±1,01	4,32±0,87	7,02±1,93	7,60±2,57
Число опытов	3	5	7	7	7
α -Токоферол	3,24±2,20	6,12±2,16	8,48±0,71	8,08±1,27	8,85±0,99
Число опытов	6	8	11	12	13
β -Липопротейды	—	5,4 ± 0,5	5,3 ± 0,6	9,0 ± 1,6	11,0 ± 3,9
Число опытов	—	10	5	5	5

С возрастом снижается активность щитовидной железы, повышается уровень фосфолипидов в сыворотке крови [7] и, в частности, β -липопротеидов (см. выше), ответственных за транспорт α -ТФ в организм. Вследствие этого повышается также концентрация витамина Е. Однако увеличение концентрации α -ТФ в сыворотке крови не свидетельствует об обеспеченности организма этим витамином. Это подтверждают также наши данные о тенденции к повышенному гемолизу эритроцитов с возрастом.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что с возрастом концентрация α -ТФ в плазме крови крыс увеличивается за счет повышения уровня β -липопротеидов. Степень спонтанного гемолиза эритроцитов свидетельствует о нормальной устойчивости эритроцитов у животных 0,5-, 1- и 3-месячного возраста и склонности к повышенному гемолизу у животных старших возрастных групп.

Список литературы: 1. Bierid T. G., Prival E. L. — Proc. Exp. Biol. Med., 1965, 120, 2, p. 554—557. 2. Экспериментальная витаминология. Под ред. Ю. М. Островского. — Минск: Наука и техника, 1969. — 35 с. 3. Сошн Е. Ф., Виноградова Р. П. Основи біохімічних методів дослідження. — Київ: Вища школа, 1975. — 40 с. 4. Yang N. Y. J., Desai F. D. — Journ. Nutrition, 1977, 107, № 8, p. 1410—1417. 5. Yang N. Y. J., Desai F. D. — Journ. Nutrition, 1977, 107, № 8, p. 1418—1426. 6. Двинская Л. М. Биологически активные вещества в животноводстве. — Боровск, Науч. тр., 1976, 15, с. 98—109. 7. Попова Л. Я., Малыш Г. И. Влияние тиреоидных гормонов на содержание фосфолипидов в сыворотке крови белых крыс разного возраста. — В кн.: Молекулярные и физиол. механизмы возрастного развития. — Киев: Наук. думка, 1975, с. 270—275.

Поступила в редакцию 13.11.80.

УДК 577.15:577

Е. В. ПАРИНА, д-р биол. наук, Н. А. ШОНО

ВЛИЯНИЕ ТИРОКСИНА НА СУММАРНУЮ АКТИВНОСТЬ И СООТНОШЕНИЕ ИЗОФЕРМЕНТОВ ГЕКСОКИНАЗЫ С НИЗКОЙ К_м В ПЕЧЕНИ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Изучение регуляции гексокиназной активности в печени крыс разного возраста показало, что введение тироксина в малых дозах вызывает индукцию синтеза фермента во все возрастные периоды. Эта индукция в наибольшей степени выражена у неполовозрелых крыс. Учитывая, что ее эффект в тот или иной период онтогенеза может зависеть от условий действия индуцирующего агента, в данной работе исследовали активность гексокиназы после введения тироксина в дозе 50 мкг на 100 г массы животного ежедневно в течение 9 дней, поскольку в этом случае отмечалась усиленная мобилизация энергетических ресурсов, а также активация некоторых ферментов энергетического обмена, более выраженные у годовалых и двухгодовалых крыс [1]. В задачу работы входило изучение в данных условиях активности гексокиназы в печени, отражающей суммарную активность изоферментов с низкой К_м, а также влияния введения тироксина на соотношение суммарной активности термоллабильных изоферментов гексокиназы (ГК II и ГК III) и активности термостабильной ГК I.

Использовали крыс линии Вистар в возрасте 1, 3, 12 и 24 месяца. Тироксин вводили внутривентриально в дозе 50 мкг на 100 г массы животного на протяжении 9 суток, и на 10-е сутки животных брали в опыт. Контрольным животным вводили физиологический раствор. Активность гексокиназы определяли в безъядерном гомогенате печени крыс в присутствии дегидрогеназы глюкозо-6-фосфата по приросту НАДФН₂ [2]. Количество белка определяли методом Лоури. Статистическую обработку данных проводили методом Стьюдента-Фишера.

Результаты, полученные на контрольных животных, показали снижение активности фермента с возрастом. Введение тирок-

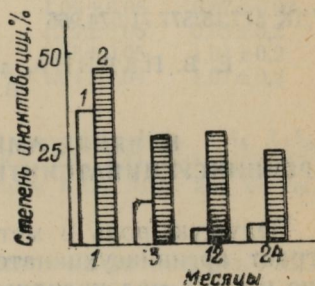
Условия опыта	Возраст, мес.			
	1	3	12	24
Норма (а)	4,86±0,2	2,54±0,43	2,73±0,25	2,61±0,35
Введение тироксина (б)	6,33±0,57	3,84±0,33	4,73±0,64	5,05±0,11
% к норме	130	151	173	194

Примечание: $P < 0,05$ при сравнении: 3 мес. (а—б); 12 мес. (а—б); 24 мес. (а—б).

сина в значительной степени нивелирует эти возрастные различия, увеличивая активность гексокиназы у самых старых крыс почти в 2 раза, в то время как в одномесячном возрасте гормон вызывает лишь небольшое статистически незначимое повышение. В таблице приведена активность гексокиназы в печени крыс разного возраста в норме и после введения тироксина (в нмоль НАДФН₂/мг белка/1 мин).

Изменяя уровень общей активности гексокиназы, тироксин также влияет на соотношение ее изоферментов в печени. О соотношении изотимов судили по разной устойчивости их к нагреванию при температуре 50°С в течение 30 мин. Условия тепловой инактивации подбирали экспериментально на основании литературных данных [3]. В этих условиях активность термоллабильных изоферментов ГК II и ГК III значительно падает, активность же ГК I почти не изменяется. Поэтому степень падения гексокиназной активности после нагревания отражает содержание термоллабильных изоферментов в ткани. Как следует из рисунка, степень инактивации (1 — в норме) с возрастом значительно снижается уже в три месяца и еще более в возрасте 1 и 2 лет, что свидетельствует о соответствующей доле ГК II и ГК III в печени в данный период онтогенеза. Введение тироксина (2) приводит к статистически достоверному увеличению степени тепловой инактивации у 3-, 12- и 24-месячных крыс. Следовательно, гормон повышает содержание термоллабильных изоферментов гексокиназы. Наиболее четко эта индукция проявляется в поздние периоды онтогенеза, когда исходный уровень активности этих изоферментов наиболее низкий.

Сопоставляя данные о степени тепловой инактивации с общей активностью фермента, можно заключить, что индукция гексокиназы тироксином обеспечивается частично за счет усиления активности ГК II и ГК III и, очевидно, в некоторой степени — за счет ГК I. В дальнейшем представляет интерес выяснить, с каким из термоллабильных изоферментов (ГК II или ГК III) в основном связаны наблюдаемые изменения.



Список литературы: 1. Лемешко В. В., Калиман П. А. Возрастные особенности действия тироксина на дыхание и окислительное фосфорилирование при окислении сукцината и АТФ-азную активность митохондрий печени крыс. — В кн.: Физиология, биохимия и биофизика возрастного развития. — Киев: Наук. думка, 1980, с. 126—136. 2. Парина Е. В., Либенсон С. В., Шоно Н. А. Регуляция активности гексокиназы инсулином в мышцах и мозге крыс разного возраста. — В кн.: Актуальные проблемы возрастной физиологии, биохимии и биофизики. — Киев: Наук. думка, 1979, с. 78—85. 3. Ильин В. С., Плесков В. М., Разумовская Н. И. Очистка и свойства изозимов гексокиназы в нормальных, тендотомированных, денервированных и эмбриональных мышцах кролика. — Биохимия, 1970, 35, № 2, с. 312—318.

Поступила в редколлегию 19.11.80.

УДК 577.15:577.71:574.965

Е. В. ПАРИНА, д-р биол. наук, В. М. ФИЛАТОВА,
В. С. ЩЕРБАКОВА

ВЛИЯНИЕ АМИНОКИСЛОТ НА АКТИВНОСТЬ АРГИНИНСУКЦИНАТСИНТЕАЗЫ ПЕЧЕНИ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Ведущую роль в метаболическом цикле Кребса-Гензелейта играет аргининсукцинатсинтетаза (АСС). Однако существование разных молекулярных форм этого фермента остается невыясненным. О существовании нескольких форм АСС уже шла речь [1], но их происхождение, свойства и соотношение в тканях в зависимости от разных факторов не изучены. Выяснить наличие форм ферментов, характеризующихся различиями в свойствах, можно с помощью отношения их к метаболитам, оказывающим угнетающее или активирующее действие на активность фермента. В связи с этим целесообразно исследовать влияние отдельных аминокислот, которые, согласно имеющимся данным, ингибируют или активируют активность отдельных ферментов цикла или синтез мочевины в целом [2].

Исследования проводили на печени белых крыс линии Вистар 1-, 3-, 12- и 24-месячного возраста. В серии опытов, посвященной изучению влияния аминокислот — аргинина, лейцина, орнитина и триптофана на активность АСС *in vitro*, последнюю определяли после инкубации с добавлением в инкубационную среду L-аргинина, L-орнитина, L-лейцина, L-триптофана. Указанные аминокислоты добавляли в количестве 1, 3, 5 мМ в инкубационную среду. Источником АСС служил экстракт, полученный путем центрифугирования при 1500 об/мин, $t=2^{\circ}$ в течение 20 мин гомогената печени в 0,1%-ном растворе цетилтриметиламмонийбромид (СТВ). Активность АСС определяли методом Виксома и др. [3], цветную реакцию на цитруллин с диацетилмоноксимом — по Элоди [4]. Активность фермента относили к 1 мг белка. Статистическую обработку полученных данных вели по Стьюденту-Фишеру.

Название аминокис- лот	Концент- рация амино- кислот	Возраст, мес.			
		1	3	12	24
Контроль	К	1,14±0,02	1,18±0,01	1,17±0,01	1,06±0,04
	A ₁ 1 мМ	0,95±0,03	1,06±0,06	0,95±0,06	1,00±0,04
Аргинин	A ₃ 3 мМ	0,87±0,03	0,98±0,07	0,91±0,03	0,86±0,02
	A ₅ 5 мМ	0,68±0,04	0,79±0,07	0,81±0,04	0,74±0,02
Орнитин	O ₁ 1 мМ	1,05±0,03	1,02±0,08	1,19±0,03	1,09±0,07
	O ₃ 3 мМ	0,93±0,03	0,93±0,08	1,06±0,03	0,93±0,05
	O ₅ 5 мМ	0,80±0,03	0,83±0,08	0,94±0,07	0,76±0,03
	L ₁ 1 мМ	1,07±0,04	1,07±0,06	1,15±0,07	1,02±0,05
Лейцин	L ₃ 3 мМ	1,09±0,05	1,04±0,05	1,10±0,07	0,97±0,04
	L ₅ 5 мМ	1,06±0,04	1,04±0,07	1,09±0,06	0,97±0,03
	T ₁ 1 мМ	0,79±0,02	1,13±0,04	1,29±0,05	0,95±0,2
Триптофан	T ₃ 3 мМ	0,73±0,05	1,13±0,07	1,08±0,05	1,04±0,2
	T ₅ 5 мМ	0,66±0,08	0,98±0,02	1,04±0,04	1,07±0,2

Примечание. $P < 0,05$ при сравнении: для 1 мес. K A₁, K A₃, K A₅, A₃A₅, K O₅, K O₁, K O₃, K T₁, K T₃, K T₅; для 3 мес. K A₃, K A₅, A₅O₁, K O₁, K O₃, K O₅, K L₃, K L₅, K T₅; для 12 мес. K A₁, K A₃, K A₅, A₅O₅, K O₅, A₃O₃; для 24 мес. K A₁, K A₃, K A₅, K O₃, K O₅, A₃O₅, A₅O₅.

В таблице показано влияние аминокислот на активность АСС в печени крыс разного возраста (в мкмольях цитруллина на 1 мг белка).

Как видно, активность АСС у 1-месячных крыс наиболее существенно снижается при добавлении аргинина и триптофана. При добавлении уже 1 мМ аминокислот она начинает уменьшаться и продолжает падать с увеличением их концентраций. Орнитин слабо подавляет активность АСС, но отмечается та же тенденция ее изменений в зависимости от концентрации аминокислот. Лейцин почти не влияет на АСС, у 3-месячных животных наблюдается такой же характер действия аргинина и орнитина, с той лишь разницей, что действие аргинина слабее, лейцина — более отчетливо. Ингибирующее же действие триптофана проявляется лишь при высоких его концентрациях. У годовалых крыс действие аргинина сходно с описанным выше у 1-месячных крыс. Вместе с тем у них фермент характеризуется меньшей чувствительностью к орнитину. При добавлении 5 мМ орнитина активность фермента снижается в меньшей степени, чем в предыдущих возрастных группах. Лейцин не влияет на активность АСС печени годовалых крыс, подобно тому, как это имеет место у неполовозрелых животных. Триптофан не вызывает значимого снижения активности фермента, более того, при наименьшей его концентрации — 1 мМ наблюдается тенденция к повышению активности. Активность АСС печени 24-месячных крыс аналогична активности фермента других возрастных групп: уменьшается с возрастанием концентраций добавляемых аминокислот, обнаруживая большое сходство в степени угнетения

АСС у 3-месячных крыс под действием аргинина с ферментом годовалых крыс при действии аргинина и лейцина. Триптофан не влияет на активность АСС.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что аргинин и орнитин при концентрациях 3 и 5 мМ вызывают достоверное угнетение активности АСС печени крыс всех возрастных групп. Лейцин тех же концентраций не влияет на активность АСС печени 1-, 12- и 24-месячных крыс, но достоверно снижает ее у 3-месячных. При сходстве действия указанных выше аминокислот в разные возрастные периоды наблюдаются существенные различия во влиянии триптофана на активность АСС у 1-месячных крыс, а также у годовалых. Судя по этим данным, можно предположить, что в печени 1-месячных крыс присутствует форма (или формы) АСС, более чувствительная к действию триптофана. Кроме того, можно отметить большую чувствительность АСС 1-месячных крыс к аргинину и орнитину. Повышается ее чувствительность к лейцину у 3-месячных животных. АСС печени этой же возрастной группы более других чувствительна к действию орнитина. Эти данные согласуются с представлениями о наличии нескольких форм АСС в печени.

Список литературы: 1. *Takade S., Kusumi T.* Studies of rat liver argininosuccinate synthetase. The presence of three forms, and their physicochemical, catalytic and immunochemical properties. — *Biochem.*, 1979, **86**, № 5, p. 1353—1359. 2. *Takada S., Saheki T., Igarasehi G.* Studies on rat liver argininosuccinate synthetase. — *Biochem.*, 1979, **85**, № 5, p. 1309—1314. 3. *Wixom R. L., Reddy M. K., Cohen P. P.* A concerned response of the enzymes of urea biosynthesis during thyroxine — induced metamorphosis of *Rane catesbeiana*. — *Biol. Chem.*, 1972, **247**, № 11, p. 3684—3692. 4. *Kakác B., Vejtelek Z. L.* — *Handbuch der Kolorimetrie*. — *Iene*, 1966, Bd. 3, S. 83—85.

Поступила в редколлегия 19.11.80.

УДК 577.7:577.17+577

Д. ОРАВЦОВА, Е. А. ЛОКОШКО, П. А. КАЛИМАН

ВЛИЯНИЕ АКТИНОМИЦИНА Д НА ИНДУКЦИЮ ТИРОКСИНОМ И ИНСУЛИНОМ ЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ К ОЛИГОМИЦИНУ АТФ-АЗНОЙ АКТИВНОСТИ МИТОХОНДРИИ ПЕЧЕНИ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Ранее было показано, что гормональный контроль АТФ-азной активности митохондрий (чувствительной к олигомицину) в печени и сердце крыс заключается в индукции синтеза белков, ответственных за данную активность [1, 2]. Синтез фермента осуществляется при участии как цитоплазматической, так и митохондриальной белоксинтезирующих систем, о чем говорят результаты ингибиторного анализа. Однако вклад цитоплазматической и митохондриальной белоксинтезирующих систем в индукцию АТФ-азы тироксином и инсулином неодинаков. Так, циклогексимид и хлорамфеникол полностью блокируют прирост активности фермента после введения тироксина. При совместном введении инсулина и циклогексимида прирост АТФ-азной активности снижается, однако остается выше, чем у конт-

Таблица 1

Возраст, мес.	Контроль	T_4	$T_4 + \text{АмД}$	АмД	$K - T_4$	$K - (T_4 + \text{АмД})$	$T_4 - (T_4 + \text{АмД})$	$K - \text{АмД}$
3	$6,6 \pm 0,27$ (7)	$8,3 \pm 0,18$ (8)	$6,9 \pm 0,35$ (8)	$6,4 \pm 0,28$ (3)	$+1,3 \pm 0,24$ $p < 0,01$		$-1,4 \pm 0,25$ $p < 0,001$	
24	$5,7 \pm 0,21$ (5)	$6,7 \pm 0,51$ (8)	$4,1 \pm 0,43$ (4)	$4,6 \pm 0,41$ (5)	$+1,0 \pm 0,37$ $p < 0,05$	$-1,7 \pm 0,48$ $p < 0,05$	$-3,1 \pm 0,73$ $p < 0,01$	$-1,7 \pm 0,27$ $p < 0,01$

Примечание. Активность фермента в мКатал/1 кг белка; в скобках — количество опытов.

Таблица 2

Возраст, мес.	Контроль	И	И + АмД	АмД	$K - И$	$K - (И + \text{АмД})$	$И - (И + \text{АмД})$	$K - \text{АмД}$
3	$5,3 \pm 0,11$ (4)	$8,1 \pm 0,25$ (4)	$5,3 \pm 0,56$ (6)	$5,1 \pm 0,70$ (6)	$+2,8 \pm 0,31$ $p < 0,01$		$-2,7 \pm 0,41$ $p < 0,01$	
24	$5,5 \pm 0,39$ (4)	$6,6 \pm 0,37$ (4)	$4,2 \pm 0,36$ (5)	$3,4 \pm 0,31$ (4)	$+1,1 \pm 0,05$ $p < 0,01$	$-1,3 \pm 0,20$ $p < 0,01$	$-2,4 \pm 0,18$ $p < 0,001$	$-2,0 \pm 0,24$ $p < 0,01$

рольных животных. Хлорамфеникол практически не влияет на индукцию инсулином АТФ-азы. Это свидетельствует о различных механизмах повышения АТФ-азной активности указанными гормонами.

В связи с этим возникает вопрос о роли транскрипционных механизмов и механизмов стабилизации матрицы в индукции АТФ-азы тироксином и инсулином. Мы изучали влияние актиномицина Д (ингибитор транскрипции и фактор, влияющий на стабилизацию м-РНК) на индукцию АТФ-азной активности тироксином и инсулином.

Исследования проведены на крысах линии Вистар возраста 3 и 24 мес. Животные были разделены на следующие группы: интактные животные, которым вводили тироксин (T_4), животные, которым вводили инсулин (дозы и схема введения гормонов, как описано ранее [3]), животные, которым одновременно с T_4 вводили актиномицин Д (50 мкг/100 г массы тела), животные, которым с первыми двумя инъекциями инсулина вводили актиномицин Д (в однократной дозе 50 мкг/100 г массы тела) и животные, которым вводили только актиномицин Д однократно или дважды.

Выделение митохондрий, определение АТФ-азной активности и белка произведено согласно [1—3]. Результаты экспериментов обработаны статистически [4]. Анализ различий внутри каждой возрастной группы проводился методом парных сравнений, а между разными возрастами — методом несвязанных выборок.

В табл. 1 показано влияние актиномицина Д (АмД) и совместного его введения с тироксином (T_4) на АТФ-азную активность митохондрий печени крыс разного возраста. Введение тироксина сопровождается повышением АТФ-азной активности как у молодых (3 мес.), так и старых (24 мес.) крыс. Актиномицин Д, введенный одновременно с T_4 , блокировал прирост АТФ-азной активности у молодых животных, а у старых крыс АТФ-азная активность при этом оказалась даже ниже, чем у интактных животных. Введение только актиномицина Д не оказало влияния на базальный уровень АТФ-азной активности у молодых крыс и снизило ферментативную активность у старых животных.

Аналогичное явление наблюдается и в случае введения актиномицина Д одновременно с инсулином (табл. 2). Введение инсулина сопровождается повышением АТФ-азной активности. Одновременное введение с инсулином актиномицина Д блокирует прирост активности фермента у 3-месячных животных и снижает ниже базального уровня у старых крыс. Так же, как и в предыдущей группе крыс, введение одного актиномицина Д хотя и двукратное, не сопровождалось снижением базальной АТФ-азной активности у молодых животных и привело к снижению ферментативной активности у старых крыс.

На основании полученных результатов можно сделать заключение, что как тироксин, так и инсулин оказывают стимулирующее действие на АТФ-азную активность митохондрий печени крыс путем включения транскрипционных механизмов синтеза белка и механизмов стабилизации м-РНК. У старых животных механизмы стабилизации м-РНК нарушены, что и сопровождается снижением АТФ-азной активности при введении только антибиотика или антибиотика совместно с гормоном (индуктором).

Список литературы: 1. Новикова Н. М., Оравцова Д. Возрастные особенности влияния инсулина и тироксина на активность олигомицинчувствительной АТФ-азы митохондрий печени белых крыс. — Актуальные проблемы возрастной физиологии, биохимии и биофизики. — Киев: Наук. думка, 1979, с. 102—107. 2. Калиман П. А., Оравцова Д., Чернова Л. А., Новикова Н. М. Возрастные особенности активности и индукции тироксином АТФ-синтетазы митохондрий сердца и печени крыс. — Вестн. Харьк. ун-та, № 195, Проблемы онтогенеза, гетерозиса и экологии животных, 1980, с. 30—32. 3. Оравцова Д. Особенности влияния тироксина и инсулина на активность олигомицинчувствительной АТФ-азы митохондрий печени и сердца крыс. — Физиология, биохимия, и биофизика возрастного развития. — Киев: Наук. думка, 1980, с. 140—144. 4. Бейли Н. Статистические методы в биологии. — М.: Мир, 1965. 271 с.

Поступила в редколлегию 05.11.80.

УДК 577.151.51+577.117.3

П. А. КАЛИМАН, д-р биол. наук, В. И. ПАДАЛКО, И. В. БЕЛОВЕЦКАЯ, Д. С. РАЙНХАРД, Д. Р. ПАРА

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ АКТИВНОСТИ КЛЮЧЕВЫХ ФЕРМЕНТОВ СИНТЕЗА И РАСПАДА ГЕМА, ТРИПТОФАН-2, 3-ДИОКСИГЕНАЗЫ И СОДЕРЖАНИЯ ЦИТОХРОМА P_{450} В ПЕЧЕНИ КРЫС В НОРМЕ И В УСЛОВИЯХ СТИМУЛЯЦИИ СИНТЕЗА И РАСПАДА ГЕМА

Роль простетической группы в регуляции синтеза апофермента и образовании холофермента охарактеризована на примере синтеза гемоглобина в ретикулоцитах кролика [1]. Однако влияние гема на синтез других апопротеинов и образование гемопротеидов изучено недостаточно. Работы по изучению роли гема в регуляции гемопротеидов при развитии и старении организма практически отсутствуют.

Приведем данные изучения ключевых ферментов синтеза и распада гема — δ -аминолевулинат-синтазы (КФ 2, 3, 1, 37) и гем-оксигеназы (КФ 1, 14, 99, 3) соответственно, а также триптофан-2, 3-диоксигеназы (КФ 1, 13, 11, 11) и содержания цитохрома P_{450} в печени крыс в процессе постнатального онтогенеза и в условиях введения животным фенобарбитала, стимулирующего синтез гема, и введения хлорида кобальта, ускоряющего распад гема.

Работа выполнена на крысах линии Вистар возраста 2 дня, 1, 3 и 24 мес. Фенобарбитал вводили внутривентрально в дозе 80 мг/кг массы тела, а хлорид кобальта подкожно в дозе 30 мг/кг. Животных забивали через 24 ч после введения.

Активность δ -аминолевулинат-синтазы определяли в гомогенатах печени по образованию δ -аминолевулиновой кислоты, гем-оксигеназы — по образованию билирубина, триптофан-2-3-оксигеназы — по образованию кинуренина, а содержание цитохрома P_{450} — по поглощению комплекса восстановленного P_{450} с окисью углерода при 450 нм [2]. Белок определяли по методу Миллера [3].

Таблица 1

Условия опыта	Возраст животных			
	2 дня	1 мес.	3 мес.	24 мес.
Контроль	$0,132 \pm 0,008$	$0,130 \pm 0,010$	$0,125 \pm 0,009$	$0,134 \pm 0,007$
Фенобарбитал	$0,123 \pm 0,010$	$0,353 \pm 0,022$ $p < 0,001$	$0,270 \pm 0,043$ $p < 0,001$	$0,226 \pm 0,017$ $p < 0,001$
Хлорид кобальта	$0,209 \pm 0,008$ $p < 0,01$	$0,239 \pm 0,028$ $p < 0,001$	$0,162 \pm 0,008$ $p < 0,05$	$0,212 \pm 0,034$ $p < 0,001$

Данные δ -аминолевулинат-синтазной активности в печени крыс разного возраста в норме и после введения фенобарбитала и хлорида кобальта приведены в табл. 1. Согласно этим данным активность фермента не изменяется в процессе постнатального онтогенеза. Введение животным фенобарбитала сопровождается повышением аминолевулинат-синтазной активности у животных всех возрастных групп, кроме 2-дневных. Введение хлорида кобальта также сопровождается повышением данной ферментативной активности, в том числе и у 2-дневных животных.

Таблица 2

Условия опыта	Возраст животных			
	2 дня	1 мес.	3 мес.	24 мес.
Контроль	$0,291 \pm 0,055$	$0,135 \pm 0,005$	$0,193 \pm 0,032$	$0,182 \pm 0,006$
Фенобарбитал	$0,469 \pm 0,096$	$0,159 \pm 0,019$	$0,189 \pm 0,009$	$0,145 \pm 0,007$ $p < 0,05$
Хлорид кобальта	$0,627 \pm 0,06$ $p < 0,01$	$0,350 \pm 0,027$ $p < 0,001$	$0,862 \pm 0,118$ $p < 0,001$	$1,103 \pm 0,135$ $p < 0,001$

Данные гем-оксигеназной активности печени крыс разного возраста в тех же условиях приведены в табл. 2. Отмечена высокая гем-оксигеназная активность в печени 2-дневных животных, далее она снижается к 1 мес., повышается к 3-у и остается на этом же уровне у старых крыс. Фенобарбитал не оказал

ущественного влияния на гем-оксигеназную активность и только у старых животных (24 мес.) активность фермента снижалась. Введение хлорида кобальта сопровождается резким повышением гем-оксигеназной активности, причем наиболее оно выражено у старых животных.

Таблица 3

Условия опыта	Возраст животных			
	2 дня	1 мес.	3 мес.	24 мес.
Контроль	0,40±0,08	0,90±0,09	1,51±0,21	2,21±0,13
Фенобарбитал	0,56±0,49	1,77±0,16 $p<0,01$	2,18±0,26 $p<0,05$	2,97±0,32 $p<0,05$
Хлорид кобальта	0,25±0,066	0,64±0,08 $p<0,05$	1,07±0,056 $p<0,05$	1,17±0,10 $p<0,05$

В табл. 3 приведены данные содержания цитохрома P_{450} в печени крыс разного возраста в тех же условиях. Установлено, что уровень цитохрома P_{450} у 2-дневных крыс вдвое ниже, чем у 1-месячных животных. В дальнейшем содержание цитохрома P_{450} повышается у 3- и 24-месячных животных. Введение фенобарбитала не влияет на содержание цитохрома P_{450} в печени 2-дневных животных и повышает его уровень у крыс всех остальных возрастных групп. Максимальный прирост содержания P_{450} наблюдается у 1-месячных крыс. При введении хлорида кобальта содержание цитохрома P_{450} снижается у старых животных максимально.

Таблица 4

Возраст	Холофермент			Общая активность		
	контроль	фенобарбитал	хлорид кобальта	контроль	фенобарбитал	хлорид кобальта
2 дня	3,18±0,58	1,66±0,15 $p<0,05$	1,75±0,29 $p<0,05$	3,53±0,65	2,20±0,36	2,63±0,37
1 мес.	8,49±1,09	8,14±1,46	5,49±0,84	19,62±2,20	26,54±4,50	18,43±2,93
3 мес.	7,06±0,78	7,05±1,43	3,81±0,75 $p<0,05$	19,33±1,64	24,62±2,80	30,75±3,04 $p<0,05$
24 мес.	7,33±0,08	8,61±1,30	4,20±0,60 $p<0,05$	23,00±1,48	25,61±2,30	43,70±7,60 $p<0,05$

Данные триптофан-2, 3-диоксигеназной активности приведены в табл. 4. Как видим, уровень холофермента и общей активности повышается у 1-месячных животных по сравнению с 2-дневными и остается на этом уровне до 24-месячного возраста.

Обращает на себя внимание также тот факт, что у новорожденных крыс отсутствует прирост активности фермента в присутствии избытка гема, тогда как у взрослых животных всех возрастных групп общая активность фермента значительно выше, чем активность холофермента. Это свидетельствует о том, что у новорожденных животных отсутствует свободный апофермент триптофан-2, 3-диоксигеназы, тогда как при дальнейшем развитии животных он имеется в избытке. Введение животным фенобарбитала не сопровождается изменениями холофермента или общей активности триптофан-2, 3-диоксигеназы, за исключением снижения уровня холофермента у 2-дневных крыс. При введении хлорида кобальта наблюдается снижение уровня холофермента практически у крыс всех возрастных групп и повышение общей активности фермента у 3- и 24-месячных крыс.

Таким образом, отмечена корреляция между скоростью синтеза и распада гема и содержанием цитохрома P_{450} в печени крыс разного возраста. Повышение активности ключевого фермента синтеза гема- δ -аминолевулинат-синтазы в печени крыс после введения фенобарбитала сопровождается повышением уровня цитохрома P_{450} . Повышение гем-оксигеназной активности (ключевого фермента распада гема) после введения животным хлорида кобальта приводит к снижению уровня цитохрома P_{450} . В регуляции активности гем-зависимого фермента — триптофан-2, 3-диоксигеназы путем изменения скорости синтеза и распада гема существуют более сложные взаимоотношения. Только при ускорении распада гема после введения животным хлорида кобальта наблюдается снижение уровня холофермента. При ускорении синтеза гема фенобарбиталом триптофан-2, 3-диоксигеназная активность не изменяется. В этом отношении наши данные не согласуются с литературными данными о координированном синтезе гема и апофермента при образовании триптофанпирролазы в печени крыс. Следует также отметить противоречивость данных литературы о влиянии гема на синтез апопротеинов и образование гемопротеинов, ассоциированных с цитоплазматическими мембранами.

Список литературы: 1. *Ochoa S., Haro C. de.* Regulation of protein synthesis in eukariotes. — *Ann. Rev. Biochem.* 1979, 48, p. 549—580. 2. *Калиман П. А., Падалко В. И.* Активность ключевых ферментов синтеза и распада гема и содержание цитохромов b_5 и P_{450} в печени крыс. — *Биохимия*, 1981, 46, вып. 5, с. 12—14. 3. *Miller G L.* Protein determination for large number of samples. — *Anal. Chem.*, 1959, 31, № 5, p. 964—966.

Поступила в редколлегию 05.11.80.

УДК 577.7:577.158

Ю. В. НИКИТЧЕНКО

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ АНТИОКСИДАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ АДРЕНАЛИНА НА ФЕРМЕНТАТИВНОЕ ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ МИКРОСОМ ПЕЧЕНИ КРЫС

Одним из проявлений действия адреналина на живой организм является его влияние на процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ), которое выражается косвенно (через активацию липазы [1]) и непосредственно (на свободнорадикальный

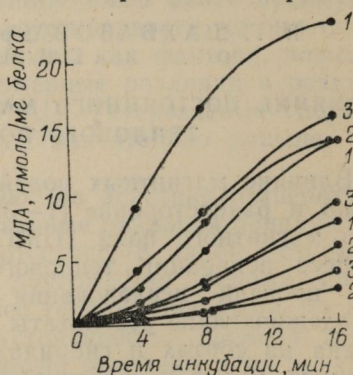
процесс самого переокисления [2, 3]). Мы исследовали возрастные особенности действия адреналина на ферментативное ПОЛ в микросомах печени крыс. Ранее в нашей лаборатории было показано, что интенсивность НАДФН-зависимого ПОЛ в микросомах печени уменьшается при старении организма [4].

Опыты проводили с микросомальной фракцией печени самцов крыс линии Вистар 3-, 12- и 24-месячного возраста. Крыс лишали корма за 12—16 часов до опыта. Микросомы выделяли согласно [4], суспендировали в среде: 125 мМ КСl, 25 мМ трис-НСl-буфер, рН 7,4. Выделенные микросомы инкубировали в среде следующего состава: 100 мМ трис-НСl-буфер, рН 7,4, 1 мМ НАДФН, 12 мкМ соль Мора, 4 мМ АДФ при 37°С, непрерывно барботируя воздух и отбирая пробы через определенные промежутки времени для определения малонового диальдегида (МДА). В опытных пробах в среду инкубации дополнительно добавляли адреналин в концентрации 45 мкМ или 90 мкМ. Концентрация микросомального белка составляла 0,35 мг на 1 мл среды. МДА и белок определяли так, как описано в [4].

Накопление МДА при ПОЛ микросом в норме было максимальным у 3-месячных крыс, значительно снижалось к 12 месяцам и оставалось практически на том же уровне у 24-месячных животных (на рисунке кривые 1, 2, 3 соответственно). Если ПОЛ оценивать по времени накопления 5 наномоль МДА на 1 мг белка микросом, то полученные результаты для 3-, 12- и 24-месячных крыс в норме будут составлять 2,1, 5,8 и 4,6 мин соответственно. Эта тенденция в изменении скорости ПОЛ микросом соответствует результатам, полученным в нашей лаборатории [4], и объясняется снижением активности НАДФН-зависимой цепи переноса электронов микросом с возрастом.

Добавление адреналина в среду инкубации в концентрации 45 мкМ вызывало ингибирование накопления МДА и появление выраженного латентного периода. Увеличение концентрации адреналина в среде инкубации до 90 мкМ увеличивало ингибирование накопления МДА и величину латентного периода во всех возрастных группах животных. Время накопления 5 наномоль МДА для 3-, 12- и 24-месячных животных составило: в слу-

чае 45 мкМ адреналина (на рисунке кривые 1', 2', 3' соответственно) — 7,6, 14,4, 10,6 мин, а при 90 мкМ адреналина (на рисунке кривые 1'', 2'', 3'') — 11,8, 21,8, 17,8 мин. Время накопления МДА увеличивалось в этом случае по сравнению с нормой



соответственно для 3-, 12- и 24-месячных крыс в 3,62, 2,48, 2,30 раз при 45 мкМ адреналина и в 5,62, 3,76, 3,87 раз — при 90 мкМ. Из полученных результатов следует, что адреналин в большей степени ингибирует ПОЛ микросом 3-месячных животных, чем 12- и 24-месячных (рисунок).

Известно, что адреналин, окисляясь НАДФН-зависимой цепью переноса электронов микросом, ингибирует ферментативное ПОЛ [3]. Результаты проведенных опытов свидетельствуют о том, что степень влияния адреналина на процесс ПОЛ в микросомах печени зависит от возраста животного, что, возможно, отражает возрастные особенности окисления гормона микросомальной системой переноса электронов.

Список литературы: 1. Влияние некоторых гормонов на интенсивность реакции свободнорадикального окисления липидов в эксперименте/В. Ю. Куликов, В. П. Казначеев, В. П. Стюхляев и др. — Бюл. эксперимен. биол. и мед., 1978, 86, № 11, с. 531—533. 2. Гукасов В. М., Федоров В. К. Влияние гормонов на процесс перекисного окисления липидов биологических мембран. — Роль изменений структуры мембран в клеточной патологии. Тр. 2-го Моск. мед. ин-та, 1977, 72, вып. 1, с. 8—52. 3. Vemura T., Chiesara F., Cova D. Interaction of epinephrine metabolites with the liver microsomal electron transport system. — Mol. Pharmacol, 1977, 13, № 2, p. 196—215. 4. Лемешко В. В., Калиман П. А., Никитченко Ю. В. Возрастные особенности перекисного окисления липидов печени крыс при старении организма. — Докл. АН УССР, 1981, № 2, с. 79—81.

Поступила в редколлегию 17.11.80.

ГЕНЕТИКА И ЦИТОЛОГИЯ

УДК 575.222.78.162

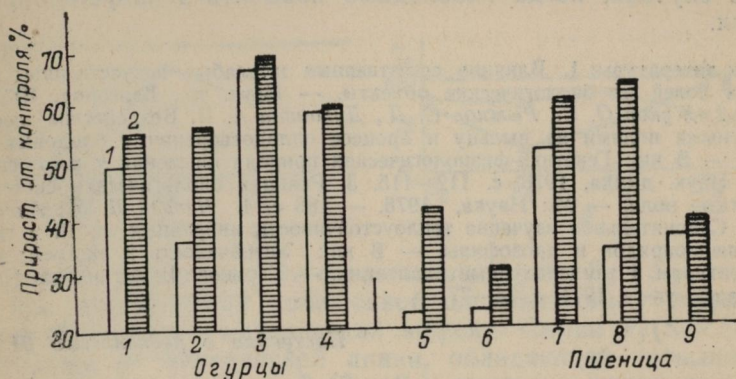
В. Г. ШАХБАЗОВ, д-р биол. наук, Л. М. ЧЕПЕЛЬ,
Г. В. МОРОЗОВА

ВЛИЯНИЕ ПОСТОЯННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА РЕПАРАЦИЮ ТЕПЛОВОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ СЕМЯН

Влияние магнитных полей на организм растений изучается давно и разносторонне [1—3]. Однако использование постоянного магнитного поля (ПМП) как фактора, стимулирующего процесс репарации теплового повреждения, является новым. Мы провели исследования в этом направлении и получили обнадеживающие результаты [4]. Следующая серия опытов проведена на сортах и гибридах огурцов и сортах пшеницы. На пшенице, кроме контрастности сортов по урожайности, изучали также значение срока хранения семян.

Цель исследований — выяснение возможности снизить повреждающее действие высокой экстремальной температуры путем обработки семян после прогрева в магнитном поле (МП).

в течение суток. Воздушно-сухие семена прогревали в водном термостате при температурах 50,5 и 55° С, подобранных для изучаемых культур. Проращивали семена на влажных фильтрах в чашках Петри. О влиянии температуры и МП судили по



проценту прорастания и приросту проростков. Результаты опытов представлены на гистограмме (рисунок):

- | | |
|-------------------------------|--------------------------------|
| 1 — Посредник, урожай 1976 г. | 6 — Лютеценс, 1977 г. |
| 2 — Рустем, 1976 г. | 7 — Мироновская, 1977 г. |
| 3 — F_1 (Успех), 1976 г. | 8—9 — Безостая-1 (8 — 1977 г.; |
| 4 — F_1 (713×Неж.), 1976 г. | 9 — 1980 г.). |
| 5 — Ульяновка, 1977 г. | |

Обнаружены различия в теплоустойчивости и в реакции на пост-температурное действие ПМП сортов и гибридов огурцов. Эти данные подтверждают показанные нами ранее преимущества гетерозисных гибридов по теплоустойчивости, но они также показывают существенное влияние поля как фактора, повышающего теплоустойчивость и закономерные различия в реакции сортов и гибридов на действие ПМП. Гетерозисные гибриды огурцов реагируют на действие МП значительно меньше, чем сорта.

Разные сорта пшеницы реагируют на действие температуры и ПМП также по-разному. Существенные различия обнаружены между сортами Ульяновка и Лютеценс, с одной стороны, и Мироновская и Безостая-1 — с другой. Два первых сорта (менее урожайные) оказались менее теплоустойчивыми, но МП значительно повысило их теплоустойчивость. Семена сорта Безостая-1 разных лет урожая заметно отличаются по реакции на ПМП. Более сильная реакция отмечена у относительно менее жизнеспособных семян.

Полученные данные свидетельствуют о том, что энергия МП может стимулировать процесс репарации температурного повреждения в клетках зародышей семян. О природе влияния

ПМП на процессы репарации пока нельзя сказать ничего определенного. Однако полученные результаты могут быть использованы для изучения природы репарации температурного повреждения, кроме того, могут иметь практическое значение в тех случаях, когда необходимо повысить теплоустойчивость клеток.

Список литературы: 1. Влияние естественных и слабых искусственных магнитных полей на биологические объекты. — Науч. тр., Белгород, 1973. — 173 с. 2. Жуков О. С., Рыжков С. Д., Духанина А. П. Воздействие электромагнитными полями на пыльцу и процесс оплодотворения у плодовых растений. — В кн.: Генетико-физиологическая природа опыления у растений. — Киев: Наук. думка, 1978, с. 112—115. 3. Реакции биологических систем на магнитные поля. — М.: Наука, 1978. — 188 с. 4. Чепель Л. М., Алексеев В. М. Сравнительное изучение теплоустойчивости инбредных линий и гибридов шелкопрядов и дрозофилы. — В кн.: Устойчивость к экстремальным температурам и температурные адаптации. — Харьков: Вища школа, Изд-во при Харьк. ун-те, 1971, с. 74—77.

Поступила в редколлегию 01.12.80.

УДК 575.18.595

А. В. НЕКРАСОВА, А. Ю. ИОНЦЕВА

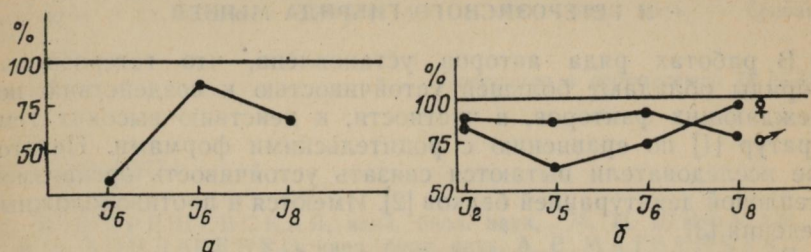
ХАРАКТЕР НАСЛЕДОВАНИЯ ЭФФЕКТА ВОЗРАСТА РОДИТЕЛЬСКОГО ПОКОЛЕНИЯ У ДРОЗОФИЛЫ

При изучении влияния возраста родительского поколения у *D. melanogaster* установлено, что старение родительских особей снижает жизнеспособность потомков по ряду показателей [1]. Особый интерес представляет генетическая природа этого явления.

Чтобы изучить некоторые генетические закономерности влияния старения родительского поколения, взяли две сублинии дрозофилы S_1 и S_2 , отличающиеся возрастом родительского поколения. Сублинии происходили из одной семьи инбредной линии дикого типа Swedish и велись путем скрещивания sibсов в течение 8 поколений. Возраст родительских особей в контрольной линии S_1 — 2 суток, в опытной S_2 — 20 суток. Изучены теплоустойчивость и плодовитость этих линий. Плодовитость самок оценивали по количеству куколок и куколочных экзвивиев на семью через 18 суток после скрещивания. Теплоустойчивость определяли по проценту живых особей через 18 ч после температурной обработки при 40,5° в течение 20 мин.

Анализ полученных данных показал, что мухи сублинии S_2 , поддерживаемой скрещиванием старых особей, характеризуются пониженной теплоустойчивостью и плодовитостью. На рисунке показано проявление плодовитости (а) и теплоустойчивости (б) в ряду последовательных поколений линии в процентах к контролю — линии S_1 . Различия в теплоустойчивости между лини-

ями выражены в меньшей степени, чем в плодовитости. Не обнаружено снижения абсолютных величин этих признаков в ряду последовательных генераций линии S_2 . Ранее был показан наследственный характер изменений некоторых признаков, вызванных старением родителей [2]. Анализ гибридов, полученных



от прямого и реципрокного скрещивания линии S_1 и S_2 , показал, что при наследовании пониженной плодовитости у гибридных самок проявляется материнский эффект. Самки $F_1(S_1 \times S_2)$ не отличались от материнской линии, обладающей повышенной плодовитостью, а самки $F_1(S_2 \times S_1)$ проявили такую пониженную плодовитость, как и самки линии S_2 .

Вариант скрещивания	Плодовитость
Линия S_1	$121,6 \pm 11,2$
Линия S_2	$94,9 \pm 8,2$
$F_1(S_1 \times S_2)$	$115,7 \pm 8,7$
$F_1(S_2 \times S_1)$	$87,1 \pm 4,0$

Аналогичным образом наследуется и теплоустойчивость. Проведенные эксперименты указывают на важную роль цитоплазматических структур при влиянии старения родительского поколения на проявление жизнеспособности потомства.

Список литературы: 1. Шахбазов В. Г., Некрасова А. В., Лапта Г. Е. Влияние возраста родительского поколения *D. melanogaster* на жизнеспособность потомства и на взаимодействие гомологичных хромосом. — Вестн. Харьк. ун-та, № 195, 1980, с. 42—44. 2. Некрасова А. В. Влияние возраста родителей на некоторые характеристики жизнеспособности двух поколений дрозофилы. — Вестн. Харьк. ун-та, № 87, 1972, с. 54—56.

Поступила в редколлегию 01.12.80.

В. М. КОРНИЕНКО, канд. биол. наук

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА АУТОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ГОМОГЕНАТОВ ПЕЧЕНИ РОДИТЕЛЬСКИХ ФОРМ И ГЕТЕРОЗИСНОГО ГИБРИДА МЫШЕЙ

В работах ряда авторов установлено, что гетерозисные гибриды обладают большей устойчивостью к воздействию повреждающих факторов, в частности, к действию высоких температур [1] по сравнению с родительскими формами. Некоторые исследователи пытаются связать устойчивость организмов с тепловой денатурацией белков [2]. Имеются и противоположные сведения [3].

В связи с этим в настоящей статье было проведено сравнительное определение влияния температуры на активность тканевых протеиназ в гомогенатах печени исходных форм мышей C57BL (материнская форма), AKR (отцовская форма) и гетерозисного гибрида.

Гомогенаты подвергали в течение 5 мин воздействию температуры 37, 50, 53, 56° С, затем инкубировали в течение 1 ч при температуре 37° С в кислой и щелочной средах. Об активности протеиназ судили по приросту тирозина в трихлоруксусном центрифугате, который определяли с помощью реактива Фолина. Данные выражали в процентах, принимая за 100% аутолитическую активность гомогенатов, обработанных при температуре 37° С. Влияние температуры на аутолитическую активность го-

могенатов печени исходных форм и гетерозисного гибрида (данные в процентах) приведено ниже.

pH	t°С	C57BL	F ₁	AKR	F ₁	P
4,0	37	100	100	100	100	—
	50	92	87	79	85	>0,05
	53	61	68	65	73	>0,05
	56	40	41	51	55	>0,05
7,4	37	100	100	100	100	—
	50	80	78	80	95	>0,05
	53	67	61	66	71	>0,05
	56	46	40	47	51	>0,05

Как видно, статистически достоверной разницы в степени угнетения активности протеиназ под воздействием повышенных температур не обнаружено. Эти данные указывают на то, что повышенная тепловая устойчивость гибридов может быть не связана с теп-

ловой денатурацией отдельных белков, в том числе ферментов.

По-видимому, тепловое воздействие оказывает менее выраженное влияние на разбаланс обмена веществ гетерозисных организмов.

Список литературы: 1. Шахбазов В. Г. Физико-химические и цитофизиологические факторы, определяющие эффект гетерозиса. — Молекулярно-генетические основы гетерозиса. — Тез. докл. Респ. симпозиума. — Симферополь, 1980. — 67 с. 2. Браун А. Д., Невсетаева Н. М., Фиженко Н. В. О связи между теплоустойчивостью клеток и тканей к повреждению и способность белков к денатурации. — Клетка и температура среды. — М.: Наука, 1964. — 229 с. 3. Багиян Э. М. Сравнительная характеристика миокина некоторых видов птиц и их гибридов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Ереван, 1970. — 9 с.

Поступила в редколлегию 18.11.80.

УДК 591.481.1:577.1

Ц. М. ШЕРЕШЕВСКАЯ, канд. биол. наук, М. И. ШИФМАН,
В. А. БОНДАРЕНКО, канд. биол. наук, А. Е. МАТВЕЙЧУК

ИЗУЧЕНИЕ УРОВНЯ СЕКРЕЦИИ НОРАДРЕНАЛИНА И РОЛИ МИКРОТРУБОЧЕК В СИНАПСОМАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА ИНБРЕДНЫХ И ГИБРИДНЫХ КРЫС

Рассмотрим механизм секреции нейромедиаторов, являющихся одним из важнейших звеньев в интегративной деятельности мозга [1].

Мы изучали процессы секреции и обратного захвата нейромедиатора — норадреналина синапсом головного мозга инбредных и гибридных крыс.

В опытах использовали 7—9-месячных крыс линий Вистар и Август и их гибриды первого поколения. Выделение фракции синапсом, инкубацию синапсом для определения обратного захвата и секреции норадреналина проводили по модифициро-

Животные	Захват ³ H-норадреналина имп/мин/мг белка $\bar{x} \pm x$	Секреция ³ H-норадреналина имп/мин/мг белка $\bar{x} \pm x$	Ингибирование секреции винбластином имп/мин/мг белка $\bar{x} \pm x$	Ингибирование секреции колхицином имп/мин/мг белка $\bar{x} \pm x$	P
Вистар	21530	9436	6894	2867	<0,001
Гибрид (♀Вистар × ♂Август)	27934	19726	13765	5844	
Август	16863	8342	4559	4080	<0,001

ванной методике Nicklas. et [2]. Белок определяли по Лоури в модификации Миллера [3]. Полученные результаты подвергали статистической обработке по Стьюденту.

В таблице представлены результаты изучения секреции норадреналина (индуцированной 60 мМ KCl) в синапсосах головного мозга крыс линий Вистар и Август и их гибридов. Секреция медиатора выражалась по отношению к ^3H -норадреналину, захваченному из среды инкубации при помощи системы обратного захвата. Хорошо видно, что гибриды первого поколения секретируют больше медиатора, чем родительские формы ($P < 0,001$). Это может быть результатом влияния двух различных по своей природе факторов. Во-первых, более высокая секреция медиатора у гибридов первого поколения может быть обусловлена повышенным содержанием норадреналина во фракции синаптических пузырьков, готовых к секреции.

Мы изучали секрецию медиатора, предварительно захваченного системой обратного захвата. Как известно, система обратного захвата тесно сопряжена с работой $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{АТФ-азы}$. $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{АТФ-аза}$ — олигомерный белок, и в случае гибридов F_1 могла произойти межаллельная комплементация, в результате чего функциональные свойства $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{АТФ-азы}$ изменились и, следовательно, система обратного захвата медиаторов стала более активной. Следовательно, если наше предположение верно, то система обратного захвата норадреналина в синапсосах из мозга гибридных крыс должна работать эффективнее, чем система обратного захвата синапсом из мозга крыс родительских линий. Действительно, было показано, что синапсосы из мозга гибридов связывают при инкубации больше ^3H -норадреналина, чем синапсосы из мозга родительских форм ($P < 0,001$). Количество импульсов за 1 мин на 1 мг белка составило у гибридов по сравнению с линией Вистар 129,7%, а по сравнению с линией Август — 165,7%.

Увеличение уровня секреции норадреналина синапсосами из мозга гибридных крыс может быть также связано с повышением эффективности работы механизмов секреции, в частности, экзоцитоза. Проверая это предположение, мы исследовали действие винбалстина и колхицина на процесс секреции, так как известно, что системы микротрубочек и микрофиламентов участвуют в секреции медиаторов. В таблице представлены результаты этих экспериментов. При сравнении данных видно, что в действии винбалстина и колхицина не наблюдается значимых межлинейных различий. Следовательно, за различия между линиями Август, Вистар и их гибридами в тесте с индуцированной KCl секрецией норадреналина ответственны какие-то другие биохимические механизмы.

Таким образом, секреция и обратный захват норадреналина синапсосами головного мозга у гибридов значительно выше, чем у исходных форм, а действие антитубулинов (винбалстина

и колхицина) на процесс секреции не обнаруживает межлинейных различий.

Список литературы: 1. Глебов Р. Н., Крыжановский Г. Н. Функциональная биохимия синапсов. — М.: Медицина, 1978. — 180 с. 2. Nicklas W. S., Pushkin S., Berl S. Effect of vinblastine and colchicine on uptake and release of putative transmitters by synaptosomes and on brain actomyosin protein. — J. Neurochem., 1973, 20, № 1, p. 109—123. 3. Miller G. L. Protein determination of large numbers of samples. — Analyt. Chem., 1959, 31, N 5, p. 964—966.

Поступила в редколлегию 17.11.80.

УДК 576.312:58.035

Ю. Г. ШКОРБАТОВ

ВЛИЯНИЕ ВИДИМОГО СВЕТА НА СОСТОЯНИЕ ХРОМАТИНА И ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КЛЕТОЧНЫХ ЯДЕР

В качестве объекта исследований использовали проростки гороха (*Pisum sativum*) сорта Рамонский-77. Семена гороха проращивали в темноте при температуре 26° в течение 6—7 дней. Облучали красным светом (КС, $\lambda_{эф}$ = 660 нм, $E = 1,5 \cdot 10^{-3}$ Вт/см²), дальним красным светом (ДКС, $\lambda_{эф}$ = 730 нм, $E = 8,9 \cdot 10^{-3}$ Вт/см²) или рассеянным солнечным светом. Исследования проводили на клетках эпидермиса проростков, взятых на расстоянии 1 см от верхушки, через 24 ч после облучения. Были использованы следующие методы.

1. Микроэлектрофоретические исследования выделенных из клеток ядер проводили в плоской электрофоретической ячейке в среде: 0,25 М сахараза, 3 мМ CaCl₂, 5 мМ трис-HCl, pH-7,2, удельное сопротивление $\rho = 950$ ом·см при 24°. Электрофоретическую подвижность (ЭФП) рассчитывали по формуле $U = v/E$, где v — скорость движения частицы, мкм/с, E — напряженность поля, в/см.

2. Цитофотометрию окрашенных по Фельгену ядер проводили фотографическим методом с помощью сканирующего микрофотометра ИФО-451. Гидролиз препаратов эпидермиса проводили в 5N HCl в течение 20 мин при температуре 25°, окрашивание в реактиве Шиффа — в течение 1 ч.

3. Кариометрические исследования проводили по фотонегативам окрашенных по Фельгену препаратов, объем ядер рассчитывали с помощью формулы: $V = \frac{\pi}{6} d_1 d_2^2$, где d_1 , d_2 — большой и малый диаметры ядра.

Исследование ЭФП ядер, выделенных из клеток гороха, показало, что ядра проростков, облучавшихся в течение 2 суток

КС по 2 ч в сутки, характеризуются меньшими значениями ЭФП по сравнению с ядрами проростков, выращенных в тем-

Таблица 1

Облучение	Количество ядер	ЭФП, $\frac{\text{мкм} \cdot \text{см}}{\text{в} \cdot \text{с}}$
Контроль	212	$0,80 \pm 0,01$
КС, 2 ч/сут., 2 сут.	209	$0,73 \pm 0,01$
Контроль	113	$0,80 \pm 0,02$
Дневной свет, 2 сут.	107	$0,72 \pm 0,01$

ноте. Снижение ЭФП ядер наблюдалось и при облучении проростков в течение 2 суток рассеянным солнечным светом в условиях естественного светового дня (табл. 1).

Известно, что в ряде случаев величина ЭФП клеточных ядер

животных повышается при активации биосинтетических процессов в ядре и снижается при их ингибировании [1, 2]. Для растений подобные данные были получены путем использования метода внутриклеточного микроэлектрофореза [3]. Считая, что ЭФП клеточных ядер коррелирует с их биосинтетической активностью, можно интерпретировать снижение ЭФП изолированных клеточных ядер после облучения КС как проявление их частичной инактивации.

Таблица 2

Облучение	Количество ядер	Содержание ДНК, усл. ед.	Объем ядра, мкм^3	Содержание ДНК/объем, усл. ед.
Контроль	94	$139 \pm 4,6$	990 ± 49	$155,0 \pm 5,0$
КС, 1 ч/сут.	116	$151 \pm 4,0$	840 ± 28	$182,0 \pm 5,0$
КС, 1 ч, ДКС, 1 ч	113	$157 \pm 5,4$	1146 ± 61	$168,7 \pm 5,4$

При исследовании окрашенных по Фельгену ядер гороха наблюдали снижение среднего объема ядер и повышение количества Фельген-ДНК на единицу объема ядра после облучения КС (табл. 2). Последовательное облучение КС и ДКС приводило к некоторому повышению среднего объема ядер и не вызывало достоверного повышения содержания Фельген-ДНК на единицу объема ядра, т. е. ДКС частично нейтрализует действие КС, что характерно для фитохромзависимых реакций. Как известно, конденсация хроматина вызывает неспецифическую репрессию генетической активности. Наблюдаемая после облучения КС конденсация хроматина также свидетельствует о частичной инактивации ядер.

Учитывая полученные ранее методом внутриклеточного микроэлектрофореза данные о снижении ЭФП хроматина в ядрах после облучения КС [4], можно сделать вывод, что после облу-

чения проростков КС происходят параллельные процессы снижения ЭФП (а значит, и заряда) ядер и хроматина, а также конденсации хроматина. Это дает основания предполагать, что в результате облучения КС происходит частичная репрессия генетической активности клеточных ядер.

Список литературы: 1. *Maekawa A.* Electrophoretic mobility of isolated nuclei from rat ascites hepatoma cells and normal liver cells. — *Nagoya Medical Journ.* 1967, 13, № 4, p. 216—231. 2. *Kishimoto S., Lieberman I.* Nuclear membranes of cultured mammalian cells in the period preceding DNA synthesis. — *The Journal of Cell Biology*, 1965, 25, № 1, p. 103—107. 3. *Шахбазов В. Г., Пона Н. Е., Атраментова Л. А.* Связь электрокинетических свойств клеточных ядер с интенсивностью роста и уровнем естественного и индуцированного мутагенеза. — *Цитология и генетика*, 1976, 10, № 3, с. 258—261. 4. *Шкорбатов Ю. Г., Шахбазов В. Г.* О влиянии видимого света на электрокинетические свойства хроматина в ядре растительной клетки. — *Биофизика*, 1979, 22, № 5, с. 948. Деп. ВИНТИ, № 2335—79.

Поступила в редколлегию 05.11.80.

УДК 575.125:576.353

Н. Г. ШЕСТОПАЛОВА, д-р биол. наук,
Н. В. КОЛЕСНИКОВА

ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ИНТЕРФАЗЫ И МИТОТИЧЕСКОГО ЦИКЛА В КЛЕТКАХ ГИБРИДОВ С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ ПРОЯВЛЕНИЯ ГЕТЕРОЗИСА

Важнейшим звеном митотического режима клеток является митотический цикл, продолжительность которого отражает изменение интенсивности метаболизма клетки и является существенным показателем ее жизнедеятельности.

Время генерации клеток определяли в клетках исходных форм и гибридов гороха [1], сорго-суданкового гибрида и лука [2], цитрусовых [3] и некоторых животных [4]. В указанных работах обнаружено сокращение митотического цикла у гетерозисных организмов по сравнению с родительскими формами.

Данные о сравнительном изучении скорости клеточных делений гибридов с разной степенью проявления гетерозиса практически отсутствуют.

Наша задача заключалась в определении продолжительности интерфазы, митоза и всего митотического цикла в клетках мериستمатических корней проростков в зависимости от гетерозисного эффекта.

В опытах использовали четыре гибрида и пять исходных форм люцерны. Выбор таких объектов объясняется тем, что гибридные растения отличаются по степени гетерозиса, а их корни являются удобными цитологическими объектами.

Длительность интерфазы, митотического цикла определяли кол-хициновым методом.

Семена всех форм растений представлены сотрудницей Всесоюзного института кормов им. Вильямса Т. А. Трофимовой.

По данным института, где были получены и изучены гибриды по таким показателям, как высота и облиственность растений, урожай сена и семян, зимостойкость, содержание азота и фосфора в листьях, гибрид $\Omega \times A$ Айнсфорд признан высокогетерозисным, а три остальные — $\Omega \times A$ Ташкентская, Гамма — Айнсфорд и $\Gamma \times D$ Дединовская — негетерозисными или слабогетерозисными. Данные цитологических исследований проростков хорошо согласуются с данными института.

Исходные формы и гибриды	Интерфаза		Митотический цикл	
	Минуты	Достоверность разницы, % P_1-F_1 и P_2-F_1	Минуты	Достоверность разницы, % P_1-F_1 и P_2-F_1
P_1 (Омега)	$626 \pm 32,3$	99,9	$708 \pm 22,6$	99,9
P_2 (Айнсфорд)	$359 \pm 14,5$	99,9	$450 \pm 18,8$	99,9
F_1 ($\Omega \times A$)	$287 \pm 8,2$	—	$360 \pm 16,2$	—
P_1 (Омега)	$626 \pm 32,3$	99,9	$708 \pm 22,6$	99,9
P_2 (Ташкентская)	$275 \pm 11,8$	99,9	$362 \pm 12,1$	99,9
F_1 ($\Omega \times T$)	$833 \pm 25,4$	—	$934 \pm 42,8$	—
P_1 (Гамма)	$852 \pm 19,7$	99,5	$953 \pm 27,6$	90,0
P_2 (Айнсфорд)	$359 \pm 14,5$	99,9	$450 \pm 18,8$	99,9
F_1 ($\Gamma \times A$)	$783 \pm 13,4$	—	$884 \pm 20,8$	—
P_1 (Гамма)	$852 \pm 19,7$	99,9	$953 \pm 27,6$	99,9
P_2 (Дединовская)	$464 \pm 15,9$	85,4	$568 \pm 15,3$	91,7
F_1 ($\Gamma \times D$)	$451 \pm 14,2$	—	$547 \pm 17,4$	—

Как следует из таблицы, длительность митотического цикла в клетках изучаемых растений при температуре $22-23^\circ C$ находится в пределах от 6 до 15,5 ч. На митоз уходит время от 1 ч 13 мин до 1 ч. 43 мин; у растений с коротким митотическим циклом менее продолжительным оказался и митоз. Самое короткое время генерации клеток отмечено у исходной формы Ташкентская-721, которая превосходит остальные растения и по интенсивности роста. Продолжительность интерфазы и митотического цикла в клетках высокогетерозисного гибрида $\Omega \times A$ на 1,5 и 5,5 ч меньше, чем у родительских форм, и в 1,5—2 раза короче, нежели у гибридов $\Omega \times T$, $\Gamma \times A$ и $\Gamma \times D$.

Гибрид $\Omega \times T$ по длительности цикла превосходит исходные формы; $\Gamma \times A$ близок к родительской форме с более продолжительным циклом, а гибрид $\Gamma \times D$ приближается к сорту с коротким митотическим циклом.

Данные цитологического анализа согласуются с результатами учета длины корней и свидетельствуют о том, что гибрид ОХА по степени гетерозиса значительно превосходит остальные гибриды. Важной особенностью клеточных делений при гетерозисе является сокращение длительности интерфазы и митотического цикла, что, по-видимому, обусловлено изменениями в регуляции активности генов.

Список литературы: 1. Шумный В. К. Исследование действия генов в связи с проблемой гетерозиса у растений, — Автореф. ... дис. д-ра биол. наук. — Новосибирск, 1973. — 52с. 2. Шестопалова Н. Г. Цитофизиологические проявления эффекта гетерозиса в норме и после действия физических факторов. Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — Харьков, 1975. — 53 с. 3. Shatti W., Benbadis M. Le cycle cellulaire dans les meristemes radiculaires de trois especes d'agrumes, Citrus limon, Citrus reticulata, Citrus sinensisx Poncirus trifoliata. — С. г. Acad. Sci. 1976, № 10, p. 1005—1007. 4. Мусина А. А., Пругова Л. С., Мурзамадиев А. М. Роль генерационного времени в камбиальных клетках волосяного фолликула в детерминации скорости роста волокна у овец. — Тезисы VII Всесоюз. симп. по структ. и функц. клеточного ядра. — Харьков, 1980. — 116 с.

Поступила в редколлегию 19.11.80.

УДК 575.123: 576.353

Т. И. НЕМИЛОСТИВАЯ

СУТОЧНЫЙ РИТМ МИТОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК ЛИСТЬЕВ ГИБРИДНОГО ПОДСОЛНЕЧНИКА И ЕГО ИСХОДНЫХ ФОРМ

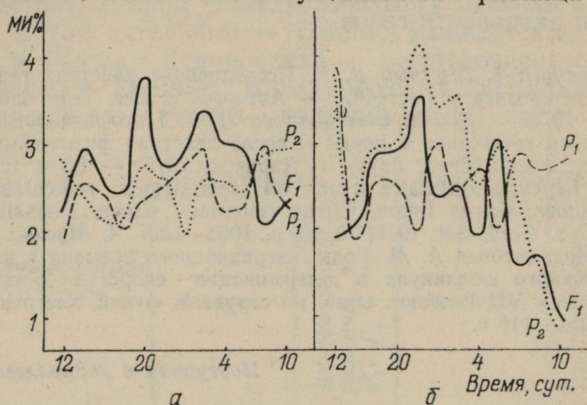
Важной особенностью митотического режима клеточной популяции является суточная периодичность деления клеток [1—3]. Циркадные ритмы митозов в связи с явлением гетерозиса у растений изучались нами в клетках корневой меристемы лука [4]. Выявлены подъемы количества делящихся клеток в утренние и ночные часы суток и спады в дневное время. Максимальные значения митотического индекса были обнаружены в меристеме высокогетерозисного гибрида.

Наша цель — определить митотический индекс в клетках листьев подсолнечника на начальных этапах роста в зависимости от времени суток. Изучали два гибрида (714×231 , $4 - 6 \times 29/1 - 2$) и их исходные формы. Семена получены в Укр. НИИ растениеводства, селекции и генетики. Первые листья от 8—10 растений фиксировали через каждые два часа в течение суток. Приготовление и анализ препаратов проводили по общепринятым методам.

Результаты опытов представлены на рисунке (а, б). Видно, что в течение суток наблюдаются подъемы и спады митотической активности у гибридов и исходных форм. Максимальное количество делящихся клеток приходится на утренние часы

и первую половину дня, а также на период от 22 до 24 часов. Второй пик митозов в вечернее время более сильный, чем в утреннее.

По уровню митотической активности в клетках листьев гибрид 714×231 превосходит исходные формы почти на все сроки фиксации, но наиболее существенная разница наблюда-



ется в период максимального подъема. Так, в 20 ч митотический индекс гибрида в 1,3—1,4 раза выше, чем у линий. В период снижения митотической активности (16—18 ч) разница между гибридом и линиями не достоверна (рисунок, позиция а).

У гибрида $4-6 \times 29/1-2$ наблюдается два четко выраженных пика митотической активности, которые приходятся на вечерние (20 ч) и утренние (4 ч) часы. Подъемы митотического индекса материнской формы совпадают с максимальными значениями гибрида. В клетках второй линии вечерний максимум митозов на кривой сдвинут вправо на 2 ч. Среднесуточное значение митотической активности самое высокое у линии $29/1-2$ и минимальное — у второй родительской формы (рисунок, позиция б).

Сравнение пролиферативной активности в меристеме первичных корешков этих же форм подсолнечника с интенсивностью деления клеток в листьях показывает, что в последнем случае она в два и более раза ниже, чем в корнях. Преимущество гетерозисных растений по уровню митотической активности четко выражено при ее определении в меристеме корней проростков. Различие между гибридами и исходными формами, а также между гибридами с различным гетерозисным эффектом по изучаемому показателю в листьях несущественно.

Исследование ритмов в течение онтогенеза показало, что с возрастом растений интенсивность деления клеток в листьях снижается и становится менее выраженной.

Список литературы: 1. Рыбаков В. Н., Романов Ю. А., Тимофеев А. В. Кинетика клеточных популяций суточного ритма пролиферативной активности в эпителии пищевода мышей. — Цитология, 1979, № 4, с. 401—407. 2. Доброхотов В. Н. О значении закономерностей суточной периодичности клеточного размножения. — Вестн. АМН СССР, 1963, № 7, с. 50—62. 3. Немилостивая Т. И., Головина Л. Н. — Материалы конференции ученых-ботаников, 1979, с. 81.

Поступила в редакцию 21.11.80.

УДК 575.125.576.35:3

Н. Д. МАЙСТРЕНКО, Н. Г. ШЕСТОПАЛОВА, д-р биол. наук

ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ МИТОТИЧЕСКОГО ЦИКЛА В КЛЕТКАХ СОРГО-СУДАНКОВОГО ГИБРИДА И ЕГО ИСХОДНЫХ ФОРМ

В литературе имеются данные о влиянии радиации на митотический цикл [1, 2], однако исследования в этом плане в связи с явлением гетерозиса практически отсутствуют. Основное внимание мы обращали на клетки, которые при прорастании семян вступают в митоз первыми. Такой подход оправдан потому, что более четкие различия между гетерозисными гибридами и исходными формами наблюдаются на самых ранних этапах роста [3], кроме того, проявление реакции гибридов в этот период онтогенеза изучено недостаточно.

Объектами исследования служили: сахарное сорго, белое развесистое, суданская трава (линия № 7) и сорго-суданковый гибрид Одесский-55. Облучали воздушно-сухие семена в дозах 500 и 1000 рентген на установке УРС-55 (напряжение 35 квт, сила тока 10 ма). Основным критерием чувствительности было изменение продолжительности интерфазы и митотического цикла (МЦ) клеток меристемы корешков. Первая фиксация соответствовала началу первого митоза, вторая — через 48 ч после первой фиксации. Длительность МЦ определяли колхициновым методом. Изменение продолжительности интерфазы и митотического цикла в клетках корневой меристемы проростков сорго-суданкового гибрида и его исходных форм при прорастании облученных семян показаны ниже.

Исходные формы и гибрид	K	500	K— —500 P	1000	t	
					K—1000 P	500— 1000 P

Интерфаза (в минутах)

P_1	677	481	3,84	657	1,87	1,98
P_2	599	465	4,79	536	0,36	3,97
F_1	438	429	0,19	595	4,87	5,11

Митотический цикл

P_1	772	526	3,75	726	2,72	1,78
P_2	654	507	6,13	576	0,97	5,28
F_1	505	462	1,48	664	5,42	5,52

Видно, что клетки исходных форм в контроле имеют гораздо большую продолжительность цикла деления, чем гибрид. В ме-

ристеме проростков семян, облученных в дозе 500 р, длительность интерфазы и митотического цикла сократилась у сорго и суданки и не изменилась у гибрида. С увеличением дозы (1000 р) исходные формы не отличались от контроля, в то время как гетерозисные растения оказались более чувствительными и превысили контроль более, чем на 30%. Однако такие изменения нестабильны. Исследования материала, зафиксированного через двое суток после первой фиксации (когда длина корешков была 20—25 мм), обнаружили менее существенные отклонения от нормы у сорго и гибрида и показали значительное удлинение времени генерации клеток суданской травы.

Таким образом, по изменению длительности первых митотических циклов в начале пострadiaционного периода и с повышением дозы облучения большую чувствительность проявили гибрид и суданская трава, для которых характерны высокие уровни митотической активности и темпы роста в контрольных вариантах, что согласуется с данными, полученными ранее при изучении гибридов кукурузы и других растений [3, 4].

Список литературы: 1. *Clowes F. A. L.* The duration of the G₁-phase of the mitotic cycle and its relation to radiosensitivity. — *New Phytol.*, 1965, **64**, № 2, p. 355—359. 2. *Гудков И. Н., Гродзинский Д. М.* Роль асинхронности клеточных делений и гетерогенности меристемы в радиоустойчивости растений. — *Механизмы радиоустойчивости растений*. — Киев: Наук. думка, 1976, с. 110—138. 3. *Шестопалова Н. Г.* Цитофизиологические проявления эффекта гетерозиса в норме и после воздействия физических факторов: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — Харьков, 1975. — 312 с. 4. *Гордей И. А.* Количественная оценка первичной поражаемости и пострadiaционного восстановления у растений. — Тезисы IV Науч. конф. молодых ученых по совр. пробл. биол. — Минск, 1970, с. 91—93.

Поступила в редколлегию 05.12.80.

УДК 575.118:575

З. Т. НИКОЛЬЧЕНКО

ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ В ПРОЯВЛЕНИИ ГЕТЕРОЗИСА ПО ТЕПЛОУСТОЙЧИВОСТИ У *DROSOPHILA MELANOGASTER* MG.

Результаты многочисленных исследований, проведенных на разных объектах, показали, что эффект гетерозиса и у растений, и у животных сопровождается повышением теплоустойчивости [1]. Кроме того, обнаружены половые различия в теплоустойчивости [2]. Поскольку гетерозис является одним из важных следствий полового размножения, представляет интерес выяснить роль пола в его проявлении. Литературные данные по этому вопросу фрагментарны и противоречивы [3].

Исследования проводили на инбредных линиях дрозофилы с разным поколением тесного инбридинга: Курган (К)-60, Ростовская-86 (Р₈₆)-73, Мерефянская (М)-49, Домодедовская-18 (Д₁₈)-117, Кантон-С (К-С)-23, Магарац (Маг)-40 и межлиней-

ных реципрокных гибридах: $K \times P_{86}$, $P_{86} \times K$, $M \times D_{18}$, $D_{18} \times M$, $K-C \times Mag$, $Mag \times K-C$. Теплоустойчивость учитывали по проценту имаго, выживших через 18 ч после 20-минутного прогрева в водном термостате при температуре 40° С.

Материал	Пол	n	$\bar{X} \pm S_x$	$F - P_1$	P	$F - P_2$	P
$K(P_1)$	ж	400	72,2±2,2	—	—	—	—
То же	м	400	56,2±2,5	—	—	—	—
$P_{86}(P_2)$	ж	400	58,7±2,5	—	—	—	—
То же	м	400	44,5±2,5	—	—	—	—
$K \times P_{86}$	ж	400	68,2±2,3	-4,0±3,2	>0,05	9,5±3,4	<0,001
То же	м	400	62,5±2,4	6,3±3,5	>0,05	18,0±3,5	<0,001
$P_{86} \times K$	ж	400	76,5±2,1	4,3±3,1	>0,05	17,8±3,2	<0,001
То же	м	400	67,5±2,3	11,3±3,4	<0,001	23,0±3,4	<0,001
$M(P_1)$	ж	400	66,2±2,4	—	—	—	—
То же	м	400	61,7±2,4	—	—	—	—
$D_{18}(P_2)$	ж	400	43,0±2,5	—	—	—	—
То же	м	400	38,5±2,4	—	—	—	—
$M \times D_{18}$	ж	400	73,5±2,2	7,3±3,2	<0,05	30,5±3,3	<0,001
То же	м	400	57,2±2,5	-4,5±3,5	>0,05	18,7±3,5	<0,001
$D_{18} \times M$	ж	400	72,7±2,2	6,5±3,2	<0,05	29,7±3,3	<0,001
То же	м	400	66,0±2,4	4,3±3,4	>0,05	27,5±3,4	<0,001
$K-C(P_1)$	ж	400	65,5±2,4	—	—	—	—
То же	м	400	58,2±2,5	—	—	—	—
$Mag(P_2)$	ж	400	77,2±2,1	—	—	—	—
То же	м	400	69,7±2,3	—	—	—	—
$K-C \times Mag$	ж	400	88,0±1,6	22,5±2,9	<0,001	10,8±2,6	<0,001
То же	м	400	75,2±2,1	17,0±3,3	<0,001	5,5±3,1	>0,05
$Mag \times K-C$	ж	400	91,5±1,4	26,0±2,7	<0,001	14,3±2,5	<0,001
То же	м	400	81,2±1,9	23,0±3,1	<0,001	11,5±3,0	>0,001

Полученные данные (см. выше) подтверждают обнаруженную нами ранее большую теплоустойчивость самок дрозофилы по сравнению с самцами [2]. Такая направленность различий сохраняется у разных по генотипу форм — у линий и у гибридов. Что касается эффекта гетерозиса, то последний проявляется в большинстве случаев, но у самок и самцов по-разному. Исключение составляет гибрид $K \times P_{86}$, занимающий промежуточное положение. Промежуточное положение занимает и гибрид $M \times D_{18}$, но только по самцам, а по самкам он гетерозисный. Статистически значимый эффект гетерозиса по самкам зарегистрирован также у гибридов $D_{18} \times M$ и $K-C \times Mag$, по самцам — лишь у гибрида $P_{86} \times K$. Гибрид $Mag \times K-C$ гетерозисный и по самкам, и по самцам, но у самок эффект гетерозиса выражен в большей степени.

Исходя из наших исследований есть основание полагать, что проявление эффекта гетерозиса в значительной степени зависит от пола и комбинационной способности.

Список литературы: 1. Шахбазов В. Г. Гетерозис и теплоустойчивость. — Бюлл. МОИП, 1966, 71, № 3, с. 126—199. 2. Сало З. Т., Шахбазов В. Г., Нехаенко Р. Я. Пол и теплоустойчивость у дрозофилы и тутового шелкопряда. — Устойчивость к экстремальным температурам и температурные адаптации. — Харьков, Изд-во Харьк. ун-та, 1971, с. 54—58. 3. Kidwell J. F. Sex and heterosis in *Drosophila melanogaster*. — *Canad. J. Genet. and Cytol.*, 1963, 5, № 1, p. 50—56.

Поступила в редколлегию 18.11.80.

УДК 575.125

В. Ф. ЧЕШКО

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ГЕТЕРОЗИСА В МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКЕ

Среди генетических феноменов гетерозис занимает особое положение вследствие своего практического значения и сложности генетического анализа. Цель настоящего сообщения — обзор развития представлений о природе гетерозиса в биохимической и молекулярной генетике. Изучение гибридной силы на молекулярном уровне должно было выяснить, каковы те промежуточные звенья в цепи от гена к признаку, которые приводят к формированию гетерозисного фенотипа.

К концу 40-х началу 50-х годов благодаря работам Дж. Бидла, Э. Татума и др. было сформулировано основное положение биохимической генетики: «Один ген — один фермент». Создались условия для синтеза физиолого-биохимических и генетических аспектов гетерозиса.

Генетическим фундаментом, на котором возникли различные варианты современной молекулярно-биологической концепции гибридной силы, послужила теория генетического баланса. В работах 50-х годов рассматривается проблема гетерозиса с точки зрения физиологии действия гена. Имеются в виду гипотезы «биохимического обогащения» крупного английского ученого Дж. Б. С. Холдейна [6], «гибридного белка» М. Ирвина [8] и «физиологического баланса» («сбалансированного метаболизма») Дж. Рендела [9].

Холдейн предположил, что благоприятные последствия скрещивания можно объяснить расширением набора ферментов, катализирующих одни и те же реакции, но слегка различающихся по своим свойствам. Сам автор гипотезы признавал, что в то время она носила чисто умозрительный характер.

Приблизительно в это же время было сформулировано предположение, получившее название гипотезы гибридного белка. Американский исследователь М. Ирвин обнаружил существование у некоторых межвидовых гибридов голубей антигенов, отсутствующих у обоих родителей. Определенная аналогия между появлением «гибридных антигенов» и возникновением

«гибридной силы» навели автора на мысль о сходстве механизмов, лежащих в основе обоих этих явлений. Впрочем, обосновать эту догадку экспериментально ему не удалось.

Первые подтверждения гипотезы «гибридного белка» появились в результате исследований механизмов межallelельной комплементации у аскомицетов. Оказалось справедливым предположение профессора микробиологии Бирмингемского университета Давида Кэтчсайда [4], предусматривающее образование гибридного белка, состоящего из нескольких полипептидных цепей, кодируемых различными аллелями.

Развитие методов аналитической биохимии в 60-х годах способствовало проведению многочисленных исследований изоферментных систем, в ходе которых неоднократно описывалось появление гибридных белков у растений и животных [10]. Тем не менее, к 70-м годам были описаны только единичные примеры превосходства гетеромультимерных молекул. Итак, в биохимической генетике стала складываться система теоретических воззрений, рассматривающих гетерозис как следствие комплементации между полипептидными цепями.

Третье направление в биохимико-генетическом подходе к проблеме гетерозиса, получившее название «сбалансированного метаболизма», сформировалось в результате изучения кинетики ферментативного катализа. В соответствии с концепцией сбалансированного метаболизма цепь биохимических реакций напоминает конвейерное производство на автомобильном заводе [7]. Слишком низкая и слишком высокая активность ферментов в метаболической системе будут снижать ее эффективность, поскольку скорость всего процесса ограничивается скоростью наиболее медленной его стадии. Таким образом, если гетерозисные гибриды будут обладать средней активностью ферментов, это обеспечит оптимальные условия функционирования биохимических процессов.

К этой концепции оказывается близкой и гипотеза, развиваемая в последнее время советским исследователем В. Г. Конаревым [1]. По его мнению, возникновение более сбалансированных генотипов при гетерозисе связано с различиями в генетической структуре (качественном составе) и количестве генных повторов в функционирующих участках генома родительских линий.

В методологическом плане достоинством рассматриваемых гипотез является то, что они предпринимают попытку преодолеть определенную односторонность существовавших до этого представлений о природе гетерозиса, перебросив мост между генотипом и фенотипом и выйдя тем самым за пределы логического круга.

До настоящего времени, однако, не удалось выявить однозначной корреляции между разнообразием спектров белков и продуктивностью гибридов. Применение методов анализа изо-

ферментов для прогнозирования и диагностики гетерозисных комбинаций оказалось относительно безуспешным [2, 5]. В последнее время все большее значение приобретает комплексный подход к проблеме гетерозиса. Например, советский исследователь В. Г. Шахбазов [3] связывает такие проявления гетерозиса, как повышение содержания рибонуклеиновых кислот, увеличение ядрышко-ядерного отношения и рост неспецифической устойчивости к повреждающим воздействиям, с изменением биоэлектрических параметров клеточных ядер гетерозисных гибридов.

Очевидно, последняя глава в истории развития теоретических представлений о природе гетерозиса еще не написана.

Список литературы: 1. Конарев В. Г., Ахметов Р. Р., Гилязетдинов Ш. Я. Некоторые предпосылки к изучению молекулярно-генетической природы гетерозиса. — Сельскохозяйственная биология, 1971, 6, № 5, с. 653—662. 2. Теплова Е. А., Федоров П. С. Молекулярно-биохимические основы селекций гибридной кукурузы. — Физиолого-биохимические и биофизические основы гетерозиса сельскохозяйственных растений. — Тезисы. Фрунзе, 1976, с. 9. 3. Шахбазов В. Г. О физико-химических механизмах инбредной депрессии и гетерозиса. — Генетика, 1974, 10, № 4, с. 153—164. 4. Catheside D. G., Overton A. Complementation between alleles in heterocaryons. — Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 1958, 23, p. 137—143. 5. Gonella J. A., Peterson P. A. Isozyme relatedness of inbred lines of maize and performance of their hybrids. — Maydica, 1978, 23, № 1, p. 55—61. 6. Haldane J. B. S. The biochemistry of genetics. — London, 1954, 2 impression, 1956, p. 121—122. 7. Hageman R. H., Leng E. R., Dudley S. W. A biochemical approach to corn breeding. — Advan. Agron., 1967, 19, p. 45—86. 8. Irwin M. R. Specificity of gene effect. — Heterosis. — Ames, Iowa, 1952, p. 245—255. 9. Rendel J. M. Heterosis. — Amer. Nat., 1953, 87, № 834, p. 129—138. 10. Schwartz D. Genetic studies on mutant enzymes in maize: Synthesis of hybrid enzymes by heterozygotes. — Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1960, 46, № 9, p. 1210—1215.

Поступила в редколлегию 18.11.80.