

К-14038

П307353



ХАРЬКОВСКОГО
УНИВЕРСИТЕТА

262'84

МЕХАНИЗМЫ ОНТОГЕНЕЗА,
ЭВОЛЮЦИИ И ГЕТЕРОЗИСА

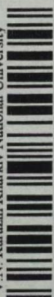
»ВИЩА ШКОЛА«

1 р. 10 к.

Вестн. Харьк. ун-та, 1984, № 262, 1—120.

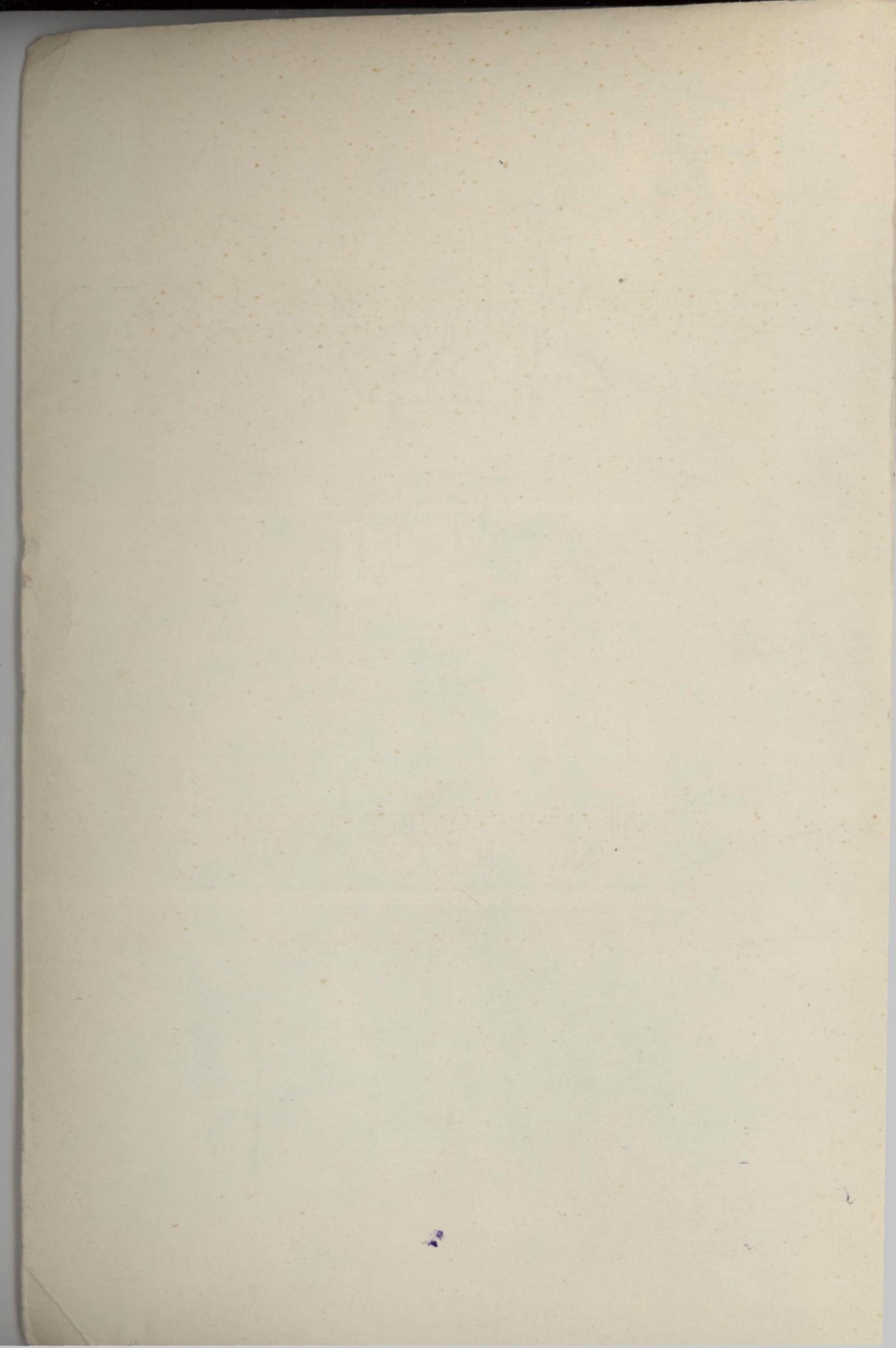


V.N. Karazin Kharkiv National University



00278668

9



МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО
СПЕЦИАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ УССР



ХАРЬКОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

№ 262

МЕХАНИЗМЫ ОНТОГЕНЕЗА,
ЭВОЛЮЦИИ И ГЕТЕРОЗИСА

Основан в 1964 г.

ХАРЬКОВ
ИЗДАТЕЛЬСТВО ПРИ ХАРЬКОВСКОМ ГОСУДАРСТВЕННОМ
УНИВЕРСИТЕТЕ
ИЗДАТЕЛЬСКОГО ОБЪЕДИНЕНИЯ «ВИЩА ШКОЛА»
1984

УДК 577.322:577

Вестник Харьковского университета. — Х.: Вища шк. Изд-во при Харьк. ун-те, 1984. — № 262. Механизмы онтогенеза, эволюции и гетерозиса. 120 с.

В вестнике представлены результаты исследований кафедр биологического факультета, отделов НИИ биологии и Музея природы Харьковского государственного университета по физиологии и биохимии животных, генетике, цитологии и зоологии. Рассмотрены проблемы возрастной физиологии, биохимии и биофизики, проблемы экологии и эволюции онтогенетического развития животных и гетерозиса.

Для преподавателей вузов, научных работников, аспирантов.

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

Печатается по решению Ученого совета биологического факультета Харьковского государственного университета (протокол № 11 от 17 декабря 1982 г.).

Адрес редакционной коллегии: 310077, Харьков-77, пл. Дзержинского, 4, Харьковский государственный университет, биологический факультет, тел. 40-18-50, 40-18-70, 40-14-55.

Редакция естественнонаучной литературы

В 2005000000-085
М226(04)-84

© Харьковский
государственный
университет
1984

К-14038

Центральна наукова
бібліотека ХДУ
№ 207252

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. Н. БЛОК, канд. биол. наук, *А. А. КРАСНИЦКАЯ*,
канд. биол. наук, *А. Б. МАЛЫШЕВ*, канд. биол. наук,
Л. Я. ПОПОВА, канд. биол. наук, *М. Я. ШЕВЦОВА*,
канд. биол. наук, *Н. А. БАБЕНКО*, *Б. В. КУЛАЧЕНКО*,
Л. В. МАМОН

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СОСТАВА ХРОМАТИНА, ЯДЕР И ЦИТОПЛАЗМЫ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС

Выдвинутое в 1954 г. [1] положение о роли изменений в составе генетического аппарата клетки как одном из ведущих факторов индивидуального развития получило в настоящее время экспериментальное подтверждение. Однако многие особенности возрастных изменений функциональной активности и состава хроматина, других ядерно-цитоплазматических структур еще недостаточно изучены, а имеющиеся данные не всегда однозначны. В статье представлены данные изучения возрастной специфики матричной активности и состава хроматина, ядер гепатоцитов и ткани печени белых крыс линии Вистар в возрасте 1, 3, 12 и 24 мес.

Известно, что у эукариотов РНК синтезируется в клеточном ядре в виде гигантских предшественников, которые затем распадаются, превращаясь в мРНК и рРНК. В процессе их созревания принимают участие РНК-азы. Предполагается, что (по крайней мере, частично) процессинг пре-мРНК и пре-рРНК осуществляется в составе хроматина. Представляет интерес изучить матричный синтез м- и рРНК и РНК-азную активность фракций хроматина в норме и в условиях периодического калорийно-недостаточного питания, являющегося эффективным фактором увеличения продолжительности жизни лабораторных животных.

Установлено, что конденсированный хроматин обладает очень низкой матричной активностью на протяжении всей жизни животных как в условиях нормы, так и в условиях сдерживающего рост питания. Результаты исследования матричной активности диффузного хроматина в процентном отношении к ее уровню (у одномесечных интактных животных) представлены в табл. 1 и свидетельствуют о значительном снижении синтеза

Таблица 1

Группа животных	Интактные белые крысы				Условия калорийно-недостаточного питания		
	1	3	12	24	3	12	24
мРНК	100	73±8	66±7	50±6	107±12	114±15	101±9
рРНК	100	69±8	47±6	68±7	86±10	92±12	99±8

обеих форм РНК у интактных крыс в период жизни от 1 до 3 мес.

В дальнейшем онтогенезе уровень матричного синтеза рРНК не изменяется, а мРНК продолжает снижаться. В условиях периодической низкокалорийной диеты синтез обеих форм РНК в диффузном хроматине у животных всех возрастных групп остается на уровне одомесячных интактных животных. Это свидетельствует о высоких потенциальных возможностях синтеза нуклеиновых кислот и белков клетками печени крыс с пролонгированной жизнью.

Таблица 2

Возраст, мес	1	3	12	24
Конденсированный хроматин	0,016	0,016	0,018	0,019
Диффузный хроматин	0,032	0,027	0,026	0,031

Исследование РНК-азной активности (рН 7,8) показало отсутствие в норме существенных возрастных изменений в обеих фракциях хроматина (табл. 2, $\Delta E/\text{мин} \cdot \text{мг}$ белка), причем для диффузного хроматина они в 1,5—2 раза выше, чем для конденсированного.

Сопоставляя возрастную динамику синтеза РНК хроматинном печени интактных крыс и активность РНК-аз в этих условиях, можно сделать вывод о том, что особенности синтеза РНК в процессе постнатального развития животных детерминированы не только активностью РНК-аз в хроматине, но и другими факторами регуляции функции генома.

Ранее нами были выявлены возрастные особенности нуклеиново-белково-липидного состава хроматина печени белых крыс в условиях нормы [2]. Изучение влияния инъекций препарата протамин-цинк-инсулина (0,8 ед. в течение 2,5 суток на 100 г массы животного) позволило установить, что количество ДНК в хроматине подопытных крыс при этом остается на уровне ин-

Таблица 3

Возраст, мес	РНК/ДНК	Гистоны/ДНК	НГБ/ДНК	Гистоны/ НГБ
1	128*	113	119*	95
3	123*	92	125*	74*
12	103	88	112	79*
24	110	96	115*	83*

* P нормы — введение инсулина $\leq 0,05$.

тактной нормы. Практически не изменяется и количество суммарных гистонов. Приведенные в табл. 3 данные (выраженные в процентном отношении к величине аналогичных показателей в условиях интактной нормы) свидетельствуют о том, что при инъекциях инсулина наибольшие изменения количественного состава присущи прежде всего таким компонентам хроматина, как РНК и негистоновые белки (НГБ), отношение которых к ДНК возрастает.

Эти изменения выявляют заметную возрастную специфику и присущи прежде всего хроматину молодых (1 и 3 мес) животных ($P < 0,05$). У зрелых (12 мес) крыс инсулин не вызывает достоверных изменений РНК/ДНК и НГБ/ДНК, а у старых (24 мес) животных повышение количества РНК ($P > 0,05$) и НГБ ($P = 0,05$) не столь значительно. Следует отметить, что инсулин вызывает изменения в соотношении важнейших белков хроматина: отношение гистоны/НГБ у 3-, 12- и 24-месячных подопытных животных уменьшается (особенно в возрасте 3 мес). Установлены некоторые изменения количественных соотношений, различных по своей структурной и функциональной роли фракций гистонов (Н2а, Н2в, Н3, Н4 и Н1).

Сопоставление полученных данных с результатами воздействия препаратов экзогенного инсулина на количественные изменения нуклеиновых кислот и белков в составе изолированных ядер и ткани печени на разных этапах онтогенеза [3] позволяет сделать вывод о том, что состав хроматина, как и следовало предположить, более стабилен при гормональных воздействиях, чем состав тотальных ядер и ткани печени. Только количественными изменениями в его составе, очевидно, нельзя объяснить тот широкий спектр воздействий на печень, который оказывает гормон (в частности, изменение транскрипции ДНК и биосинтеза РНК и белков). Возможно, инсулин вызывает изменения прочности связей и конформации макромолекул в составе хроматина, что также является одним из факторов, влияющих на повышение уровня биосинтетических процессов в печени.

В последнее время большое внимание уделяется группе высокоподвижных НГБ-хроматина — НМС-белков в связи

с предполагаемой их регуляторной ролью в процессе функционирования генома. Установлена их способность взаимодействовать с ДНК в областях ее активной транскрипции, связь с пролиферативной активностью тканей и повышенное родство к одонитиевой ДНК. Показана стабилизирующая ДНК роль НМС-белков в бессолевой среде и ее дестабилизация в солевой среде. Предполагается их участие в регуляции процесса транскрипции ДНК вследствие взаимодействия с гистонами.

В связи с этим возникла необходимость изучить динамику изменения количества НМС-белков на разных этапах онтогенеза. Их экстракцию из печени проводили 0,75 М раствором HClO_4 . В качестве ингибиторов протеаз применяли 0,05 М раствор NaHSO_3 . Суммарные НМС-белки и гистон Н1 разделяли методом дискэлектрофореза в 15%-ном полиакриламидном геле (ПААГ) (буфер мочевины — уксусная кислота, pH 4,3) и сканировали на денситометре БИАН-17. Данные о возрастных изменениях содержания различных фракций НМС-белков и гистона Н1 в ткани печени в процентном отношении к общему количеству анализируемого белка представлены в табл. 4.

Таблица 4

Возраст, мес	Фракции исследуемых белков					НМС 1+ + НМС 2	НМС
	НМС 1	НМС 2	НМС 14	НМС 17	Н 1	НМС 14+ + НМС 17	Н 1
1	11,7	6,4	10,3	7,1	34,2	1,04	1,04
3	14,3	10,8	9,8	5,8	54,0	1,61	0,75
24	5,2	5,9	10,6	9,1	62,6	0,56	0,49

Установлено, что соотношение высокоподвижных НГБ и гистона Н1 в ткани печени с возрастом понижается за счет преимущественного накопления лизинбогатых гистонов Н1. Фракции белков НМС 1 и НМС 2 обнаруживают сходную возрастную динамику: их количество увеличивается к периоду наступления половой зрелости животных (3 мес) и уменьшается к старости. Содержание белков фракции НМС 14 с возрастом практически не изменяется, тогда как фракции НМС 17 — уменьшается к 3-месячному возрасту, а затем сильно нарастает к старости. Установленное изменение содержания НГБ/НМС и гистонов Н1 может значительно сказываться на функциональных и структурных свойствах хроматинового комплекса при старении организма.

Большое внимание уделяется роли липидов в функционировании клеточных ядер, которые являются не только обязательными компонентами их мембран, но и постоянной составной частью нативного хроматина. Предполагается участие фосфолипидов (ФЛ) в репликации ДНК и регуляции ее матричной ак-

тивности [4]. Процесс синтеза ДНК сопровождается не только стимуляцией синтеза ФЛ, но и изменением количественных соотношений их фракций и состава жирных кислот (ЖК). Все это определяет необходимость изучения строения отдельных ФЛ и прежде всего состава ЖК, как их самого подвижного компонента.

Таблица 5

Жирные кислоты	Возраст, мес	
	3	24
14:0	0,54±0,08	0,52±0,02
15:0	0,55±0,14	0,46±0,02
16:0	16,66±0,11	19,94±0,27*
16:1	3,59±0,13	4,50±0,15*
17:0	1,20±0,14	1,14±0,07
17:1	0,88±0,06	0,88±0,04
18:0 изо	0,82±0,08	0,97±0,15
18:0	14,79±0,57	11,32±0,15*
18:1	15,42±0,68	17,49±0,11*
18:2	13,10±0,94	15,40±0,22*
20:0	1,46±0,19	1,25±0,11
20:1	1,15±0,23	0,87±0,11
20:3	2,76±0,29	1,95±0,19
20:4	20,76±0,02	18,12±0,46*
23:0	1,35±0,19	1,22±0,13
24:0	1,28±0,56	0,54±0,11
22:4	2,12±0,27	0,61±0,12*
22:5	1,87±0,31	0,87±0,14*
22:6	6,43±0,08	7,24±0,46
20—24	39,13	32,67
Насыщенные	38,65	37,36
Моноеновые	20,04	23,74
Полиеновые	46,54	44,19

* Р ЖК липидов ядер клеток печени 24—3-месячных крыс <0,05.

Установлено, что в липидах ядер клеток печени как молодых (3 мес), так и старых (24 мес) животных в наибольших количествах содержатся пальмитиновая (16:0), стеариновая (18:0), олеиновая (18:1), линолевая (18:2) и арахидоновая (20:4) ЖК (табл. 5, процент содержания отдельных ЖК к их общей сумме). По мере старения организма содержание пальмитиновой кислоты увеличивается, а стеариновой и 22-метилтрикозановой кислоты уменьшается. Однако общее количество насыщенных ЖК с возрастом не изменяется, а моноеновых кислот — увеличивается (от 20 до 23%) за счет повышения содержания в липидах ядер пальмитоолеиновой (16:1) и олеиновой (18:1) кислот. Относительное количество полиеновых кислот в липидах ядер печени с возрастом снижается, что определяется достоверным падением в них уровня триеновых, тетраеновых и пентаеновых кислот при увеличении содержания линолевой кислоты в ядрах печени старых животных.

Известно, что обмен линолевой кислоты в клетках животного организма идет по двум главным путям: элонгации и десатурации. Гормональные воздействия, непосредственно влияющие на активность клеточного генома, стимулируют десатурационный путь ее обмена. В то же время разнообразные воздействия на организм животных, повышающие уровень синтеза и накопления полиеновых ЖК в мембранах различных тканей и хроматине клеток печени, вызывают интенсификацию процессов синтеза РНК, ДНК, повышая матричную активность хроматина.

Установленные в наших исследованиях изменения относительного количества полиеновых ЖК наряду с увеличением линолевой кислоты в ядрах клеток печени старых животных могут в какой-то мере быть связаны со снижением синтетических возможностей хроматина в процессе индивидуального развития и коррелирующим с ним нарушением пути использования линолевой кислоты для синтеза полиеновых ЖК.

Как показано ранее [5], возрастное снижение синтеза белка в бесклеточной системе из печени крыс в значительной степени зависит от цитозольных компонентов инкубационной смеси. Очевидно, этому соответствуют возрастные изменения состава цитозоля. Белковый состав цитозоля печени исследовали методом электрофореза в ПААГ с последующей денситометрией окрашенных гелей. Положение полос на электрофореграмме выражали в виде отношения (в процентах) расстояния, пройденного полосой, к расстоянию, пройденному фронтом вещества. При электрофорезе цельных цитозолей не обнаружено четких возрастных различий белкового состава. После их фракционирования методом гельфильтрации на Сефадексе С-100 с последующим электрофоретическим анализом полученных фракций обнаружена хроматографическая фракция, белковый состав которой заметно менялся с возрастом. По положению на кривой элюции она соответствует описанной в литературе [6] фракции, влияющей на скорость синтеза и процессинга РНК в опытах на изолированных ядрах мозга мышей и называемой нами, по аналогии с [6], фракцией «5». Количество полос на электрофореграмме у крыс разного возраста одинаково, но относительная интенсивность окраски различна.

При работе с 16,5%-ными гелями у молодых животных более яркой оказалась полоса, занимающая на электрофореграмме положение 30—35%, а у старых — три полосы в области 60—70%. Сходные данные получены при работе с 11%-ными гелями для цитозолей печени крыс всех исследованных возрастов (положение исследованных полос в этом случае соответствовало 36—40 и 65—85%): белковый состав описываемой нами фракции изменяется в течение всего постнатального периода. Соотношение высоты пиков 30—35 и 60—70% (ПААГ 16,5%) и 36—40 и 65—85% (ПААГ 11%) приведено в табл. 6. На 20-й

час после частичной гепатэктомии — воздействия, очень сильно меняющего белковый синтез печени, изменений в белковом составе фракции «5» не наблюдалось, что позволяет считать обнаруженные изменения специфически возрастными.

Таблица 6

ПААГ, %	Возраст, мес	$M \pm m$	n	P_{24-1}
16,5	1	$1,48 \pm 0,10$	10	<0,001
	24	$0,78 \pm 0,08$	8	
	1	$1,67 \pm 0,06$	6	
	3	$1,04 \pm 0,01$	4	
11,0	12	$0,89 \pm 0,08$	3	<0,01
	24	$0,75 \pm 0,05$	5	

Здесь описана часть исследований в области молекулярной биологии старения, проводимой в Харьковском университете в 1980—1982 гг. С их помощью удалось выявить ряд возрастных особенностей состава и биосинтетических возможностей печени белых крыс в норме и при экспериментальных воздействиях на организм.

Список литературы: 1. Никитин В. Н. О некоторых биохимических основах процессов онтогенеза.—Тр. НИИ биологии Харьк. ун-та, 1954, 21, с. 29—71. 2. Некоторые изменения макромолекулярного состава ядерного аппарата клеток в процессе постнатального развития/Л. М. Басанец, А. Ф. Коченков, В. Н. Никитин, Л. Я. Попова, Н. Б. Сагалова. — VII научное совещание по эволюционной физиологии. Тез. докл. — Л.: Наука, 1978, с. 21—22. 3. Коченков А. Ф. Некоторые особенности действия инсулина на макромолекулярный состав ядер и целостных клеток печени на разных этапах онтогенеза.— Физиология, биохимия и биофизика онтогенеза.— К.: Наук. думка, 1983, с. 7—11. 4. Попова Л. Я., Бабенко Н. А., Вольфовская Н. В. Возрастные особенности действия тирокстина на липидный спектр хроматина печени крыс.— Физиология, биохимия и биофизика возрастного развития. — К.: Наук. думка, 1980, с. 39—44. 5. Синтез белка в бесклеточной системе с рибосомами и клеточным соком печени крыс разного возраста/Л. Н. Блок, А. А. Красническая, Г. А. Нестеренко, Г. А. Анохина. — Тез. докл. Всесоюз. симпозиума «Молекулярные и клеточные механизмы старения». — К.: Наук. думка, 1981, с. 22—23. 6. Weck P. W., Johnson T. C. Nuclear-sytosol interactions that facilitate release of RNA from mouse brain nuclei.—J. Neurochem., 1978, 30, N 5, p. 1057—1065.

Поступила в редколлегию 22.11.82.

А. И. НОВИКОВА, канд. биол. наук,
Л. М. АНИСИМОВА

ВЛИЯНИЕ КАТЕХОЛАМИНОВ НА МЕМБРАННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС В ОНТОГЕНЕЗЕ

Гуморальные регуляторы, действие которых опосредуется мембраной, оказывают определенное влияние на физическое состояние мембраны, что выражается в изменении ионных распределений, ионной проницаемости. Следствие этого — изменение мембранного потенциала (МП), реализация специфического регуляторного эффекта [1].

Принимая во внимание сложный характер рецепции катехоламинов мембранами, мы провели исследование с целью выявить особенности реакции мембранной поляризации на действие катехоламинов с различным типом рецепции: с α — (норадреналин), β — (изадрин), $\alpha+\beta$ — (адреналин) рецепцией.

Объектом исследований были белые крысы линии Вистар: 1-, 3-, 12- и 24-месячного возраста. МП клеток печени измеряли у наркотизированных животных (барбитал, 80 мг/кг веса) через каждые 5 мин в течение одного часа. Гормон вводили внутривенно (30 γ на 100 г веса). Контрольным животным вводили равный объем физиологического раствора. Результаты обработаны статистически по Стьюденту.

Изменение МП под влиянием адреналина у животных всех возрастных групп носило двухфазный характер (деполяризация — гиперполяризация). Фаза деполяризации по амплитуде и протяженности наибольшая у 1-месячных (—6,4 мв), наименьшая — у 24-месячных (—2,4 мв) животных. Максимум деполяризации приходится на 15-ю, 10-ю, 10-ю и 5-ю минуты опыта, соответственно у 1-, 3-, 12- и 24-месячных животных. Гиперполяризация наибольшая у 3 (+7,1 мв)- и 24 (+7,5 мв)-месячных, наименьшая — у 1-месячных (+1,7 мв). Максимум наблюдается на 30-й, 35-й, 35-й и 25-й минутах опыта соответственно у 1-, 3-, 12- и 24-месячных животных.

Реакция на норадреналин также двухфазна. Амплитуда деполяризации значительно выше, чем на адреналин: 1-месячные —9,5 мв (10 мин); 3-месячные —7,8 мв (10 мин); 12-месячные —11,2 мв (10 мин); 24-месячные —3,2 мв (5 мин). По амплитуде гиперполяризация на норадреналин такая же, как на адреналин, соответственно: 1-месячные +2,2 мв (35 мин); 3-месячные +7,6 мв (40 мин); 12-месячные +2,9 мв (35 мин); 24-месячные +8,3 мв (45 мин).

Для проверки состояния β -рецепции исследовалось действие β -миметика изадрина. Двухфазный ответ наблюдался только

у 3- и 12-месячных животных; деполяризация: 3-месячные —1,9 мв (5 мин); 12-месячные —2,35 мв (15 мин); гиперполяризация: 3-месячные +4,3 мв (30 мин); 12-месячные +2,3 мв (35 мин). У 1-месячных животных достоверно показана только первая фаза ответа — деполяризация с максимумом на 15-й минуте опыта (—4,1 мв). Однако у 24-месячных крыс с момента начала измерения потенциал выше, чем в норме, и достоверная гиперполяризация прослеживается с 20-й по 60-ю минуты опыта (максимум +4,9 мв на 25-й минуте опыта). В целом на изадрин реакция МП снижена по фазе деполяризации и гиперполяризации.

Если оценивать фазу деполяризации как отражение рецепций, а гиперполяризацию — как фазу реализации метаболического эффекта [2], можно интерпретировать полученные результаты, как указание на то, что в старости снижается и α -, и β -рецепторные функции мембраны печени. Однако катехоламины до глубокой старости остаются активными регуляторами метаболизма.

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. *Новикова А. И., Макогон Н. В.* Мембранный потенциал как показатель гормонального эффекта у животных разного возраста.— Вестн. Харьк. ун-та, № 226. Новые исследования по возрастной физиологии и биохимии, природе гетерозиса и экологии животных, 1982, с. 9—11.

Поступила в редколлегию 23.11.82.

УДК 591.1.15

Р. К. МАКОВОЗ, канд. биол. наук,

Е. С. ГРИНЧЕНКО, канд. биол. наук, *О. А. КОНОВАЛЕНКО*

СВЯЗЫВАНИЕ ¹²⁵J-ИНСУЛИНА С ОРГАНАМИ БЕЛЫХ КРЫС В НОРМЕ И ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПРОДЛЕНИИ ЖИЗНИ

В изучении функциональной активности инсулиновой системы важная роль принадлежит исследованию рецепции инсулина тканями. Установлено, что реализация действия гормона начинается со связывания его с клеточным рецептором и нарушения в инсулин-рецепторном взаимодействии вызывают отклонения в процессах метаболизма. В клинике известны состояния, называемые инсулинрезистентностью, когда при наличии высокого уровня инсулина в крови недостаток инсулиновых рецепторов или снижение их аффинности приводит к возникновению в организме признаков инсулиновой недостаточности [1].

Аналогичное состояние обнаружено и при старении, когда ряд показателей свидетельствует о дефиците инсулина в орга-

низме, хотя снижение его концентрации в плазме крови незначительно. Однако данных по изучению специфического связывания инсулина с различными органами и тканями в возрастном аспекте мало, и они к тому же противоречивы [2]. Одни авторы отмечают стабильность в онтогенезе числа и аффинности рецепторов, другие указывают на снижение этого показателя, но связывают его не с возрастом, а с присущим стареющему организму ожирением. Кроме того, необходимо учитывать, что рецепция инсулина — достаточно лабильный процесс, зависящий от ряда условий: сезона, времени суток, пола, рациона и т. д., и недостаточно четкая постановка эксперимента может снизить достоверность получаемых результатов.

Существует ряд методов для оценки рецепторной активности тканей. Некоторое представление о связывании инсулина различными органами и тканями может дать исследование распределения введенного в организм меченого гормона [3].

Работа проводилась на белых крысах-самцах линии Вистар 1-, 3-, 12- и 24-месячного возраста, содержавшихся на обычном лабораторном рационе (контроль), и на 3-, и 24-месячных животных, получавших калорийно-недостаточное питание, способствующее продлению жизни (опыт).

¹²⁵J-инсулин и глюкозу вводили внутривентриально в дозе 0,3 мк Ки и 100 мг на 100 г массы тела соответственно. Через 30, 60 и 150 мин животных забивали декапитацией, органы извлекали и взвешивали. Счет радиоактивности производили на γ -счетчике НРГ-630 (ЧССР). Данные пересчитывали на 1 г ткани и на массу органа.

Таблица 1

Органы	Контроль		Опыт	
	¹²⁵ J-инсулин	¹²⁵ J-инсулин+глюкоза	¹²⁵ J-инсулин	¹²⁵ J-инсулин+глюкоза
Сердце	0,25±0,03	0,16±0,04	0,24±0,03	0,18±0,03
Печень	4,20±0,50	3,30±0,37	3,30±0,40	3,10±0,03
Поджелудочная железа	1,66±0,32	0,56±0,04	2,40±0,30	1,30±0,32
Почки	3,60±0,30	2,40±0,30	3,60±0,42	2,40±0,40
Селезенка	0,41±0,04	0,28±0,03	0,41±0,03	0,26±0,03

Примечание: $P < 0,02$ при сравнении количества связанного инсулина в поджелудочной железе и почках при нагрузках ¹²⁵I-инсулином с глюкозой (воздействие 30 мин).

Результаты проведенных исследований показали, что органы белых крыс в разной степени поглощают ¹²⁵I-инсулин. Через 30 мин после введения меченого гормона больше всего инсулина накапливается в печени (4,2% от введенного количества), почти столько же (3,6%) — в почках, вдвое меньше (1,7%) — в поджелудочной железе, в селезенке — 0,41%, а в сердце —

0,25% (табл. 1). При старении это соотношение в некоторых случаях изменяется: в печени происходит снижение связывания инсулина и в почках отмечается максимум рецепции.

При пересчете количества импульсов на 1 г массы ткани самая высокая концентрация меченого гормона наблюдалась в почках и в поджелудочной железе. Относительно низкая концентрация обнаруживалась в скелетных мышцах. Следует отметить существенное различие концентрации меченого инсулина в скелетной и сердечной мышцах: в последней она вдвое больше, что, по-видимому, обусловлено функциональными особенностями этих органов.

В скелетной мышце концентрация меченого гормона в 2—3 раза меньше, чем в крови.

Несмотря на имеющиеся индивидуальные колебания связывания инсулина органами крыс, отмеченные закономерности наблюдались во всех опытах.

В органах молодых и старых животных ¹²⁵J-инсулин накапливается с разной скоростью. Так, в органах молодых (1 и 3 мес.) животных максимальная концентрация гормона обнаруживалась через 30 мин после его введения. К этому времени во всех органах 24-месячных крыс концентрация инсулина была значительно ниже. У старых 24-месячных крыс уровень гормона в печени и поджелудочной железе достигал максимума через 60 мин, а через 150 мин значительно снижался.

У крыс, получавших экспериментальную гипокалорийную диету, способствующую продлению жизни, в распределении меченого инсулина между органами наблюдалась та же закономерность, что и в норме. Однако концентрация ¹²⁵I-инсулина после инъекции этого гормона несколько отличалась от контроля.

У 3-месячных крыс через 30 мин она была ниже (по сравнению с контролем) в печени, почках, сердце и в скелетных мышцах, у 12-месячных — ниже в почках и сердце, а у 24-месячных крыс в печени и в поджелудочной железе концентрация гормона была выше, чем у контрольных и молодых подопытных животных (табл. 2).

При одновременном введении ¹²⁵J-инсулина и глюкозы отмечалось некоторое уменьшение связывания меченого гормона с органами, наиболее выраженное в поджелудочной железе и почках. Это может быть объяснено тем, что нагрузка глюкозой вызывает повышение секреции инсулина, приводящее к преокупации рецепторов эндогенным гормоном. Причем наибольшее снижение рецепции ¹²⁵J-инсулина при одновременном введении глюкозы наблюдалось у 3-месячных крыс, которые, как известно, на повышение гликемии реагируют наиболее интенсивным, по сравнению с другими возрастными группами, выбросом инсулина. Такая конкуренция за места связывания меж-

Таблица 2

Органы и ткани	Контроль			Опыт		
	Возраст, мес.					
	3	12	24	3	12	24
Печень	4843	2984	2556	2699	3095	5289
	±246	±156	±265	±180	±230	±260
Почки	17443	14625	10299	9973	11055	8531
	±313	±401	±211	±198	±226	±216
Поджелудочная железа	10562	5531	4555	11197	13698	16485
	±268	±201	±235	±301	±336	±421
Селезенка	3214	1665	1757	2834	1647	1489
	±126	±104	±118	±232	±240	±168
Сердце	2388	2826	1832	1767	1718	1224
	±101	±231	±246	±218	±226	±186
Скелетная мышца	998	966	742	682	750	595
	±48	±41	±33	±32	±36	±24
Кровь	2966	3057	2667	2123	2586	2446
	±223	±138	±146	±202	±264	±156

Примечание: $P < 0,01$ при сравнении количества связанного 125 J-инсулина во всех органах контрольных крыс 3 и 24 месяцев; при сравнении количества связанного 125 J-инсулина в печени и поджелудочной железе 24- и 3-месячных подопытных крыс и 24-месячных подопытных и контрольных крыс.

ду меченым и нативным гормонами является доказательством специфичности связывания меченого инсулина с тканями.

Следовательно, органы белых крыс обладают способностью специфически связывать инсулин. При этом связывающая емкость и скорость насыщения зависят от функции органа и имеют возрастные особенности.

Почки и печень, которым принадлежит важнейшая роль в процессах метаболизма за единицу времени связывают инсулина гораздо больше, чем другие органы. С возрастом происходит ослабление рецепторной активности тканей, и максимум связывания гормона у старых крыс в печени наблюдается через больший промежуток времени по сравнению с молодыми животными.

Содержание крыс на калорийно-недостаточной диете вызывает у них глубокую перестройку метаболических процессов, приводящую в конечном итоге к значительному увеличению продолжительности жизни. Затрагивается при этом и такое важное звено инсулиновой регуляции, как рецепция инсулина тканями. Повышенное, по сравнению с контролем, связывание 125 J-инсулина печенью и поджелудочной железой 24-месячных крыс с пролонгированной жизнью свидетельствует, по-видимому, о высокой функциональной активности указанных органов этих животных.

Список литературы: 1. Балаболкин М. И., Недосугова Л. В. Рецепторы к инсулину и значение их исследований в диагностике нарушений углеводного обмена.— Лаб. дело, 1980, № 7, с. 404—409. 2. George S. Roth. Hormone receptor changes during adulthood and senescence: significance for aging research. — Fed. Proc., 1979, 38, N 5, p. 1910—1914. 3. Papachristodoulou Despina K., Scott Graham S., Thomas Hywel I. The handling of intravenously injected ¹²⁵I-labelled insulin by rat livers.— Biochem. Soc. Trans., 1979, 7, N 4, p. 657—659.

Поступила в редколлегию 23.11.82.

УДК 577.1:547.96:591

С. Ц. ЗИЛЬБЕРМАН

ВЛИЯНИЕ ИНСУЛИНА НА ДНК-ПОЛИМЕРАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ ИЗОЛИРОВАННЫХ ЯДЕР КЛЕТОК ПЕЧЕНИ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Гормональная стимуляция клеточной пролиферации — один из главных путей регуляции роста и развития животных, особенно на этапе постнатального онтогенеза. Особое место в системе этой регуляции принадлежит инсулину, роль которого в возрастном развитии животных имеет большое значение. Инсулин обладает способностью повышать включение метки в ДНК. Стимуляция пролиферации инсулином показана в культуре различных тканей. Например, чтобы получить синтез ДНК и рост в культуре взрослых гепатоцитов, необходимо наряду с некоторыми другими факторами присутствие инсулина.

Цель нашего исследования — изучение влияния инсулина на ДНК-полимеразную активность изолированных ядер клеток печени крыс разного возраста.

Исследование проведено на крысах-самцах линии Вистар в 1-, 3-, 12- и 24-месячном возрасте. В одном опыте исследовали все возрастные группы. Всего проведено пять серий опытов.

Ядра выделяли дифференциальным центрифугированием в сахарозной среде [1]. Состав среды для определения ДНК-полимеразной активности был следующим: 65 мМ NH_4Cl , 65 мМ трис- HCl (рН 8,1), 10% глицерина, 5 мМ глюкозы, 0,05 мМ ЦТФ, УТФ и ГТФ; 0,1 мМ дАТФ, дЦТФ, дГТФ и 5 мМ $^3\text{HTTФ}$ (30 мк Ки/мкМ), 10,7 мМ MgCl_2 и 10 мМ АТФ. Реакцию проводили 30 мин при 37°С. Реакцию останавливали добавлением холодного раствора 0,4 н NaOH и 1% додецилсульфата натрия. Инсулин вносили непосредственно перед инкубацией в дозе $3 \cdot 10^{-6}$ мМ.

ДНК-полимеразная активность изолированных ядер клеток печени в норме была максимальной у одномесячных крыс, к 3-месячному возрасту она снижалась приблизительно в три раза, претерпевая еще одно снижение в 12-месячном возрасте. Уровень включения метки в ДНК изолированных ядер клеток 12- и 24-месячных животных практически не отличался.

Введение инсулина повышает синтез ДНК изолированными ядрами клеток печени крыс одномесячного возраста и практически не влияет на синтез ДНК изолированными ядрами клеток печени других исследованных возрастов. Эти данные представлены в таблице.

ДНК-полимеразная активность имп/мин/мг белка	Возраст, мес			
	1	3	12	24
Без инсулина	1428±310	516±120	220±73	270±90
С инсулином	1810±410	610±117	320±124	242±112

Представляется интересным сопоставить полученные нами данные о возрастных особенностях влияния инсулина на ДНК-полимеразную активность ядер клеток печени крыс с данными о возрастных особенностях влияния инсулина на РНК-полимеразную активность ядер клеток печени крыс. Ранее [2] показано, что под действием инсулина резко повышается РНК-полимеразная активность изолированных ядер клеток печени крыс, обусловленная как РНК-полимеразой I, так и РНК-полимеразой II. Это свидетельствует о том, что инсулин создает предпосылки для увеличения объема, а также для расширения спектра транслируемых РНК. Действие инсулина на РНК-полимеразную активность сохраняется на протяжении всего онтогенеза. В то же время инсулин в этой дозе повышает ДНК-полимеразную активность только в изолированных ядрах клеток печени одномесячных животных.

Такая возрастная избирательность в действии инсулина на ДНК-полимеразную активность может объясняться тем, что в печени одномесячных животных еще достаточно велико количество клеток, находящихся в стадии деления, в то время как процент таких клеток у животных более старых возрастов слишком незначителен для проявления действия инсулина.

Приведенные данные свидетельствуют о том, что в основе действия инсулина лежит не активация репликаций, а активация транскрипции и трансляции, в результате чего клеточный цикл проходит с большим напряжением и клетка быстрее включается в пролиферирующий пул.

Список литературы: 1. Мартыненко А. А., Никитин В. Н., Сагалова Н. Б. Возрастные изменения в составе хроматина ядер клеток печени белых крыс. — Журн. эволюц. биохимии и физиологии, 1972, 8, с. 128—131. 2. Зильберман С. Ц., Маковоз Р. К. — Вестн. Харьк. ун-та, № 164, Проблемы онтогенеза, гетерозиса и экологии животных, 1978, с. 7—9.

Поступила в редколлегию 23.12.82.

В. А. БАРУ, Р. К. МАКОВОЗ, канд. биол. наук

**ВЛИЯНИЕ ИНСУЛИНА НА ТРАНСПОРТ РНК
ИЗ ИЗОЛИРОВАННЫХ ЯДЕР КЛЕТОК ПЕЧЕНИ КРЫС
РАЗНОГО ВОЗРАСТА**

Пространственное и временное разобщение процессов транскрипции и трансляции в клетках высших организмов обуславливает необходимость изучения регуляторных влияний на этапе посттранскрипционных изменений РНК — ее процессинга и ядерно-цитоплазматического транспорта.

Установлено, что выход РНК из ядра в цитоплазму является самостоятельным процессом, активность которого зависит от метаболического состояния клетки. Появились сообщения об изменении транспорта РНК в развитии [1].

В связи с многосторонним регуляторным действием инсулина на клеточный метаболизм, его значением в изменении проницаемости мембран клетки, а также важной ролью этого гормона в онтогенетическом развитии организма мы попытались исследовать влияние инсулина на ядерно-цитоплазматический транспорт РНК в различные возрастные периоды.

В опытах использовали белых крыс-самцов линии Вистар в возрасте 1, 3, 12 и 24 месяца. Животным внутрибрюшинно вводили ^{14}C -оротовую кислоту (30 мк Ки/100 г массы тела); через 30 мин их забивали. Изолированные ядра клеток печени ($5 \cdot 10^6$ ядер/мл) инкубировали в течение 10 и 20 мин при 0° (контроль) и 37°C в среде, содержащей 2,5 мМ АТФ; 4 мМ креатинфосфата; 0,25 М сахарозы; 25 мМ KCl; 2,5 мМ MgCl_2 ; 0,5 мМ CaCl_2 ; 0,3 мМ MnCl_2 ; 2,5 мМ дитиотриэтола; 50 мМ трис-HCl, pH 7,6; 1 ед./мл креатинкиназы; 150 мкг/мл низкомолекулярной РНК. Инсулин ($0,4 \cdot 10^{-7}$ М) вносили непосредственно перед инкубацией. Реакцию останавливали добавлением охлажденной 0,25 М сахарозы (4:1). Ядра осаждали центрифугированием. К надосадочной фракции прибавляли додецилсульфат натрия в конечной концентрации 2% и определяли содержание кислотонерастворимой метки отдельно в супернатанте и ядрах.

В используемой нами бесклеточной системе транспорт новообразованной РНК из изолированных ядер клеток печени крыс зависел от температуры и присутствия АТФ. В течение 20 мин инкубации наблюдалась линейная зависимость выхода РНК; при 0° за это время освобождалось около 1% кислотонерастворимой метки ядер. Это согласуется с данными литературы и подтверждает представление о транспорте РНК из ядра как активном процессе [2].

Результаты исследования влияния инсулина на выход быструющей РНК (имп/мин/мг белка ядер) из изолированных ядер представлены в таблице.

Возраст, мес	Условия инкубации		
	0°, контроль	37°, 20 мин без инсулина	37°, 20 мин с инсулином
1	5300	29100	39000
3	2600	14800	26500
24	2000	9300	12800

Данные, полученные на контрольных животных, показали снижение транспорта РНК из изолированных ядер с возрастом. Внесение инсулина в среду инкубации в значительной степени повышало выход новообразованной РНК из ядер. Величина этого эффекта связана с возрастом животных. Максимальное повышение транспорта РНК в присутствии инсулина наблюдалось при инкубации в бесклеточной системе ядер клеток печени трехмесячных крыс (выход кислотонерастворимой метки увеличился почти вдвое). Во все остальные возрастные периоды стимуляция транспорта РНК инсулином выражена в меньшей степени и составляла, например, у старых (24-месячных) животных 150% от контроля (таблица).

Полноценное становление механизмов регуляции транспорта РНК происходит, по-видимому, к 3-месячному возрасту, когда наряду со снижением процента выхода РНК из ядер повышается избирательность этого процесса. В этом же возрасте наблюдалось максимальное повышение транспорта РНК под влиянием инсулина. Возрастное снижение стимуляции инсулином транспорта РНК из ядра в цитоплазму может быть связано с изменением числа и (или) чувствительности участков на ядерной мембране (специфически связывающих инсулин), наличие которых установлено в последние годы.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о стимулирующем влиянии инсулина на транспорт РНК из изолированных ядер клеток печени крыс разного возраста.

Список литературы: 1. А. А. Нейфах, М. Я. Тимофеева. Молекулярная биология процессов развития.— М.: Наука, 1977.— 312 с. 2. Шунне Н. Г., Розет Е. Г., Панченко Л. Ф. Изучение выхода новообразованной РНК из изолированных ядер клеток печени крыс в бесклеточной системе.— Мол. биол., 1974, № 6, с. 913—917.

Поступила в редколлегию 23.12.82.

Е. О. КОНОВАЛОВА, П. А. КАЛИМАН д-р. биол. наук

**АКТИВНОСТЬ НАДФ-ЗАВИСИМЫХ ДЕГИДРОГЕНАЗ
ПЕЧЕНИ КРЫС С АЛЛОКСАНОВЫМ ДИАБЕТОМ
ПРИ ОДНОРАЗОВОМ ВВЕДЕНИИ ИНСУЛИНА**

Инсулин — универсальный анаболический гормон — играет важную роль в регуляции липогенеза. Печень занимает ведущее место в биосинтезе жирных кислот, которые впоследствии используются для образования различных липидов, в том числе компонентов мембранных систем клетки. Скорость биосинтеза жирных кислот регулируется не только ацетил-КоА-карбоксилазой и АТФ-цитратлиазой, но и ферментами, катализирующими образование НАДФН, который используется в восстановительных реакциях биосинтеза [1]. Однако до настоящего времени не выяснена роль различных НАДФ-зависимых дегидрогеназ в липогенезе в печени крыс, стимулируемом инсулином. В связи с этим мы изучили активность цитоплазматических НАДФ-зависимых дегидрогеназ: малатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.40, МДГ), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.49, Г6ФДГ), изоцитратдегидрогеназы (КФ 1.1.1.42, ИЦДГ) в печени крыс с аллоксановым диабетом при введении инсулина.

В опыте использовались крысы линии Вистар возрастом 1 мес, весом 60—80 г. Для изучения влияния инсулина на активность МДГ, Г6ФДГ и ИЦДГ животным однократно вводился протамин-цинк-инсулин в дозе 0,8 ед. на 100 г массы тела, в опыт они брались через 4 и 24 ч после инъекции инсулина. Экспериментальный диабет вызывался подкожным введением аллоксанмоногидрата в дозе 20 мг на 100 г массы тела после 24-часового голодания, затем в течение 6-и дней животные получали 1 ед. инсулина, в опыт они брались на 3-й день после прекращения инъекций инсулина. Для выяснения действия инсулина на фоне диабета животным за 4 или 24 ч до декапитации однократно вводился протамин-цинк-инсулин в дозе 0,8 ед. на 100 г массы тела.

Активность ферментов определялась в надосадочной жидкости, полученной центрифугированием гомогената печени при 40000 в течение 60 мин, измерялась спектрофотометрически [2] в нмоль НАДФ/мг белка в мин.

В таблице показано влияние инсулина и аллоксанового диабета на активность НАДФ-зависимых дегидрогеназ печени крыс (нмоль/мг белка в мин).

Из таблицы видно, что активность НАДФ-зависимых дегидрогеназ увеличивается через 4 ч после введения инсулина, что подтверждает полученные ранее для МДГ и Г6ФДГ данные [3]. При аллоксановом диабете активность МДГ, Г6ФДГ

Фермент	Время после введения инсулина, ч	Норма	Диабет
МДГ	До введения	27,39±2,08	23,85±2,59
	4	68,21±9,38	18,79±3,46
	24	25,60±2,16	26,57±2,08
Г6ФДГ	До введения	17,53±2,28	18,88±2,58
	4	51,34±11,75	12,12±1,42
	24	19,28±2,75	25,91±6,69
ИЦДГ	До введения	64,06±2,84	57,99±6,71
	4	83,46±7,84	67,07±10,97
	24	69,82±5,15	69,04±6,81

и ИЦДГ не изменяется. Интересен тот факт, что инсулин не оказывает влияния на активность данных ферментов на фоне аллоксанового диабета (а через 4 ч даже несколько снижает активность Г6ФДГ), хотя у нормальных животных этот гормон вызывает более чем двукратное повышение активности МДГ и Г6ФДГ. Из трех изучаемых ферментов ИЦДГ наименее подвержена регуляции как введением инсулина, так и его недостатком.

Таким образом, мы показали различие динамики регуляции инсулином активности НАДФ-зависимых дегидрогеназ в печени нормальных крыс и животных с аллоксановым диабетом.

Список литературы: 1. Калиман П. А., Мищенко В. П. Регуляция липогенеза в печени крыс путем изменения активности ферментов цитрат-пируватной системы транспорта ацетил-КоА. — Биохимия, 1981, 46, № 11, с. 1957—1962. 2. Усатенко М. С., Цончева Л. В. Влияние инсулиновой недостаточности и гидрокортизона на активность НАДФ- и НАД-зависимых малатдегидрогеназ в печени и коре почек крыс. — Вопр. мед. химии, 1974, 20, № 4, с. 401—406. 3. Мищенко В. П., Коновалова Е. О. Возрастные особенности влияния инсулина на активность некоторых НАДФ-зависимых дегидрогеназ и АТФ-цитратлиазы в печени крыс. IV Всесоюз. съезд геронтологов и гериатров. — Кишинев (14—17 сентября 1982 г., тез. и реф. докл.), 1982, с. 256.

Поступила в редколлегию 22.11.82.

УДК 577.17:612.65

М. В. ГУНЬКО, канд. биол. наук, М. И. ФЕДЕЦ,
ГОНЗАЛЕЗ ТЕХЕРА МАРИЯ дель МАР

ВЛИЯНИЕ ТИМОЗИНА НА СОДЕРЖАНИЕ КОРТИКОСТЕРОНА В КРОВИ И НАДПОЧЕЧНИКАХ БЕЛЫХ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Гормоны тимуса, наряду с регуляцией иммунной системы, принимают активное участие в определении гормонального статуса организма. В связи с четкими возрастными изменениями функциональной активности тимуса его положение в системе

эндокринных желез должно меняться в разные периоды онтогенеза. Данный аспект взаимодействий прослежен нами на модели тимус — надпочечники в условиях тимэктомии [1]. В статье приведены данные по изучению влияния тимозина (препарат тимозина — фракция 5)¹ на содержание кортикостерона в крови и тканях крыс разного возраста.

Исследование проведено на белых крысах линии Вистар 14-дневного, 1-, 3-, 12- и 24-месячного возраста. Выполнено две серии исследований: в первой — препарат тимозина исследовался в дозировках $1,1 \times 10^{-2}$ и 1×10^{-4} мкг/100 г массы тела с экспозицией действия 5 мин, вторая серия явилась продолжением исследований в плане испытания действия меньших доз препарата — 1×10^{-4} , 1×10^{-5} и 1×10^{-6} мкг/100 г массы тела при большей экспозиции действия — один час. Уровень кортикостерона исследовался флуориметрически [2] в надпочечниках и крови животных разного возраста в норме и после введения препарата.

При анализе результатов влияния тимозина на содержание кортикостерона в надпочечниках в первой серии опытов прежде всего обращают на себя внимание два момента:

у крайних исследуемых возрастных групп животных (14-дневные и 24-месячные животные) ни одна из примененных доз тимозина не вызвала отклонений изучаемого показателя от нормы;

у животных промежуточных возрастных групп происходит достоверное увеличение содержания кортикостерона в надпочечниках: у крыс в возрасте от 1 до 12 месяцев наблюдается увеличение содержания кортикостерона в 1,5—2 раза, по сравнению с контрольными животными, независимо от дозы препарата.

При уменьшении дозы препарата и увеличении продолжительности его действия активной в отношении надпочечников оказалась лишь наименьшая доза (1×10^{-6} мкг/100 г массы тела), вызвавшая достоверное, но меньшее, чем в предыдущей серии исследований, повышение содержания кортикостерона в надпочечниках только у 3-месячных крыс по сравнению с контрольными животными (соответственно 1615 ± 181 и 2175 ± 182 мкг%). Таким образом, характерной особенностью ответной реакции надпочечников на введение тимозина является ее четко выраженная возрастная обусловленность.

Изменения уровня кортикостерона в крови также зависят от применяемой дозы препарата и экспозиции его действия. В первой серии опытов существенных изменений в содержании гормона в крови не выявлено. Во второй серии наблюдалось достоверное снижение содержания кортикостерона в крови 1-, 3-

¹ Получен и предоставлен нам сотрудниками НИИ медрadiологии Е. С. Скобельщиной и С. М. Гринбергом.

и 12-месячных крыс. Самыми чувствительными к введению препарата оказались 3-месячные животные. Наиболее действенная доза (1×10^{-5} мкг/100 г массы тела) вызвала в исследуемых возрастных группах следующее снижение уровня гормона в крови: 1 мес — норма $38,8 \pm 1,62$, опыт $21,0 \pm 1,25$ мкг%; 3 мес — $39,8 \pm 3,05$ и $18,0 \pm 3,91$; 12 мес — $46,9 \pm 4,64$ и $34,7 \pm 3,90$ мкг%).

На основании приведенных данных можно заключить, что тимико-надпочечниковые отношения, несмотря на яркую возрастную инволюцию тимуса, сохраняются на протяжении всего периода индивидуального развития. Организм животных проявляет чувствительность к тимозину в широком диапазоне доз и при различной экспозиции его действия.

Список литературы: 1. Сазонова Е. А., Гунько М. В., Великанов Л. П. Возрастные особенности функциональной активности тимуса и надпочечников у белых крыс. — Актуальные проблемы возрастной физиологии, биохимии и биофизики. — К.: Наук. думка, 1979, с. 147—151. 2. Еремина С. А., Гройсберг Ф. Я., Хоружая Т. А. Содержание II-ОКС в тканях кроликов и собак. — В кн.: Механизмы некоторых патологических процессов. Ростов н/Д, 1968, с. 198—202.

Поступила в редколлегию 23.11.82.

УДК 577.17.577.112

А. А. ПАШКОВА, канд. биол. наук,
Н. Р. СЕДОВА, Е. А. КУЗЬМЕНКО

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ АДРЕНАЛИНА НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ОКИСЛЕНИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ТКАНЯХ БЕЛЫХ КРЫС

Адреналин — естественный стимулятор процесса мобилизации жиров в организме в виде свободных жирных кислот (СЖК), окисление которых должно усиливаться в состоянии стресса.

Мы исследовали влияние одиночной инъекции адреналина в дозе 50 мкг/100 г массы при 30-минутной экспозиции на интенсивность окисления жирных кислот в печени и сердечной мышце белых крыс 1-, 3-, 12- и 24-месячного возраста. Об интенсивности окисления жирных кислот в печени судили по продукции ацетоуксусной кислоты из эндогенной каприловой кислоты. В таблице показано влияние адреналина на продукцию ацетоацетата гомогенатами белых крыс разного возраста (мкмоли ацетоацетата на 100 мг сырой ткани за 1 ч).

Возраст, мес	Из эндогенных СЖК			Из каприлата (3,99 мкм)		
	Контроль	Опыт	P	Контроль	Опыт	P
1	$1,61 \pm 0,03$	$2,53 \pm 0,1$	$<0,05$	$6,87 \pm 0,14$	$7,57 \pm 0,3$	$>0,05$
3	$1,68 \pm 0,02$	$2,55 \pm 0,02$	$<0,05$	$6,11 \pm 0,01$	$7,55 \pm 0,3$	$>0,05$
12	$1,65 \pm 0,01$	$2,39 \pm 0,03$	$<0,05$	$6,23 \pm 0,1$	$7,97 \pm 0,3$	$>0,05$
24	$1,65 \pm 0,01$	$2,40 \pm 0,01$	$<0,05$	$6,22 \pm 0,02$	$8,02 \pm 0,1$	$<0,05$

Как видно из приведенных данных, продукция ацетоацетата из эндогенных и экзогенных СЖК примерно одинакова у животных разного возраста. Адреналин отчетливо стимулирует этот процесс из эндогенных СЖК в одинаковой мере во всех возрастах, а из экзогенных статистически достоверно только в печени старых животных. Потребление кислорода для окисления экзогенной каприловой кислоты достоверно увеличивается тоже только в печени старых животных (от 11, 2 мкмоль O_2 /100 мг ткани за один час до 15,9 мкмоль). В миокарде отчетливая стимуляция потребления кислорода на окисление экзогенной каприловой кислоты через 30 мин после одиночной инъекции адреналина прослеживается только у старых животных. Это интересный, но пока труднообъяснимый факт. Существует мнение, что при ускорении работы цикла Кребса уменьшается уровень ацетил-КоА и увеличивается уровень свободного КоА, что может привести к повышенному образованию длинноцепочечных ацил-КоА и потреблению жирных кислот. Однако в работе [1] показано, что в аналогичных условиях действия адреналина (но в два раза большей дозы) интенсивность окисления сукцината и кетоглутарата митохондриями печени сильнее стимулируется в молодом возрасте. Поскольку нами использовалась более продолжительная (30-минутная) инкубация тканевых гомогенатов, чем в работе [1], то могло сильнее проявляться неодинаковое в разном возрасте действие фосфолипазной активности [2], подавляемой адреналином, и, вероятно, экзогенной СЖК, так как при меньшей концентрации каприловой кислоты (1,99 мкМ) стимуляция адреналином отсутствует и у старых животных.

Список литературы: 1. Малеев В. А. Изменение энергетических реакций митохондрий печени крыс разного возраста под влиянием адреналина. — В кн.: Физиология, биохимия и биофизика возрастного развития. К.: Наук. думка, 1980, с. 190—194. 2. Зеркаль В. П. Возраст и динамика влияния адреналина на фосфолипазную активность митохондрий печени белых крыс. — В кн.: Физиология, биохимия и биофизика возрастного развития. К.: Наук. думка, 1980, с. 194—197.

Поступила в редколлегию 23.11.82.

УДК 577.175.522+612.666

В. П. ЗЕРКАЛЬ, канд. биол. наук

ПРОСТАГЛАНДИН-ОН-ДЕГИДРОГЕНАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ, КАК ФАКТОР РЕГУЛЯЦИИ АДРЕНАЛИНОМ УРОВНЯ ПРОСТАГЛАНДИНОВ В ПЕЧЕНИ

Одним из ведущих факторов старения являются изменения в нейро-эндокринной системе организма. При этом с возрастом изменяется не только продукция различных гормонов, но и способность различных систем отвечать на гормональные сигналы, в значительной степени зависящая от присутствия в тка-

нях и клетках посредников их действия. В последнее время важную роль в процессах опосредования действия гормонов на тканевом и клеточном уровне отводят простагландинам, которые являются своеобразными модуляторами, направляющими действие регулирующего фактора на обеспечение поддержания физиологического гомеостаза.

Как установлено нами ранее, уровень, простагландинов группы Е (ПГЕ) в печени с возрастом претерпевает существенные изменения: практически не изменяясь на протяжении большей части онтогенеза (от 1 до 12 месяцев), он резко повышается в старости, что, возможно, является важным моментом для установления нового уровня регуляции физиологических процессов данного органа. Под воздействием адреналина, введенного внутривентриально в дозе 100 мкг на 100 г массы тела при экспозиции 30 мин наблюдаются разнонаправленные изменения в содержании ПГЕ в печени молодых и старых крыс.

Причиной, приводящей к разнонаправленному влиянию адреналина на уровень ПГЕ, может быть неоднозначное влияние данного гормона на скорость катаболизма простагландинов. Взяв за основу метод Флинн¹, мы исследовали активность простагландин-ОН-дегидрогеназы (ПГ-ОН-ДГ), фермента, осуществляющего первый этап деградации простагландинов в печени молодых (3 мес.) и старых (24 мес.) крыс в норме и при влиянии адреналина, введенного внутривентриально в дозе 100 мкг на 100 г массы тела при экспозиции 30 мин. Активность фермента выражали в имоль НАДФ.Н на 1 мг белка за 1 ч инкубации. При этом было установлено, что активность ПГ-ОН-ДГ молодых и старых крыс в норме практически не различается между собой, несмотря на существенные различия в уровне ПГЕ ($0,025 \pm 0,0024$ и $0,030 \pm 0,0038$). Адреналин, введенный *in vivo*, полностью подавляет активность ПГ-ОН-ДГ в печени молодых, 3-месячных животных, в то время как в печени старых, 24-мес. животных наблюдается даже некоторая активация данного фермента (норма — $0,035 \pm 0,0038$; адреналин — $0,043 \pm 0,0015$ $P > 0,05$).

Таким образом, повышение уровня ПГЕ под влиянием адреналина в печени молодых, 3-мес. животных связано с полным подавлением активности ПГ-ОН-ДГ. Неспособность старых животных отвечать повышением содержания ПГЕ в печени на экзогенный адреналин обусловлена отсутствием влияния данного гормона на активность катаболизирующего фермента — ПГ-ОН-ДГ.

Поступила в редколлегию 21.12.82.

¹ Flynn J. F., Lefer A. U. Prostaglandin metabolism during circulatory shock. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1977, 497, N 2, p. 775—784.

В. А. МАЛЕЕВ

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ТЕОФИЛЛИНА НА ДЫХАНИЕ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ

Теофиллин ингибирует фосфодиэстеразу, катализирующую распад цАМФ, что приводит к повышению его содержания в клетках [1]. Известно, что повышение уровня цАМФ приводит к стимуляции окислительных процессов в митохондриях, увеличению трансмембранного потенциала ионов водорода, транспорта субстратов окисления, фосфата и адениннуклеотидов [2].

Мы изучали действие теофиллина на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени крыс в зависимости от возраста.

Опыты проводили на 1-, 3-, 12- и 24-месячных крысах линии Вистар. Теофиллин вводили в дозе 5 мг на 1 кг массы животного и через 1 ч забивали. Митохондрии выделяли по общепринятой методике. Окислительное фосфорилирование регистрировали полярографическим методом. Измеряли также кинетику дыхания при низких рН среды и в присутствии динитрофенола. Белок митохондрий определяли по Лоури.

Результаты и их обсуждение. Полученные данные свидетельствуют о стимуляции теофиллином окислительного фосфорилирования в митохондриях. Однако стимулирующее действие неодинаково на разных этапах онтогенеза. Так, повышение фосфорилирующего дыхания теофиллином с возрастом увеличивается до 12-месячного возраста и составляет 136%, а затем значительно снижается у старых 24-месячных животных до 116%.

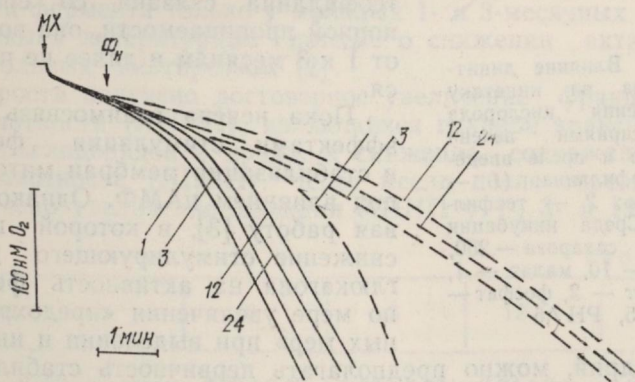


Рис. 1. Влияние фосфата на кинетику потребления кислорода митохондриями печени крыс разного возраста в норме и после введения теофиллина при рН 6. Среда инкубации в мМ: сахароза — 250, MES — 10, сукцинат — 5, фосфат — 5; — — — контроль — — — — — теофиллин; 1; 3; 12; 24 — возраст, мес

Такую же направленность изменений имеет и дыхание митохондрий в 4-м состоянии. Показатели сопряженности митохондрий ДК и АДФ/О под влиянием теofilлина незначительно увеличиваются у крыс всех возрастных групп. Поскольку действие теofilлина, по-видимому, обусловлено повышением уровня цАМФ, снижение стимулирующего действия теofilлина можно объяснить снижением базальной активности аденилциклазы, так и снижением с возрастом реактивности митохондрий к стимулирующему действию цАМФ.

Но наибольшие изменения митохондрий под влиянием теofilлина обнаружены по кинетике дыхания. Дыхание митохондрий контрольных животных в присутствии ионов кальция после введения в среду фосфата ускорялось по ходу инкубации до максимального, т. е. разобщалось (рис. 1). Теofilлин стабилизировал митохондрии, и они были сопряженными в течение всего периода инкубации. Различия усиливались при снижении рН среды, поэтому действие теofilлина можно объяснить ингибированием $\text{Ca}^{2+}/2\text{H}^{+}$ переносчика и снижением, таким образом, циклического транспорта ионов кальция через мембрану. Теofilлин резко повышал резистентность митохондрий к ингибирующему действию динитрофенола, которое развивалось после периода стимуляции дыхания, характерного для разобщителей (рис. 1). По-видимому, стабилизация мембран митохондрий под влиянием теofilлина связана со снижением ионной проницаемости, она возрастает от 1 к 3 месяцам и далее не изменяется.

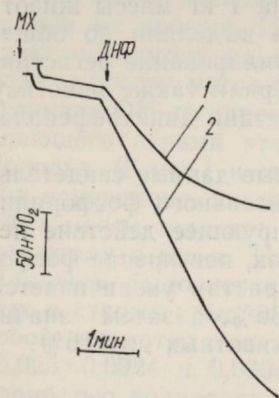


Рис. 2. Влияние динитрофенола на кинетику потребления кислорода митохондриями печени в норме и после введения теofilлина: (1 — контроль; 2 — теofilлин). Среда инкубации в мМ: сахара — 250, ТРИС — 10, малат — 1, глутамат — 2, фосфат — 5, рН 7,5.

Пока неясна взаимосвязь между эффектами стимуляции ферментов и стабилизации мембран митохондрий под влиянием цАМФ. Однако, учитывая работу [3], в которой показано снижение стимулирующего действия глюкагона на активность ферментов по мере увеличения «предохранительных мер» при выделении и инкубации

митохондрий, можно предполагать первичность стабилизирующего действия цАМФ.

Список литературы: 1. Абакумова О. Ю., Федоров Н. А. Циклический аденозин 3,5-монофосфат и его биологическая роль. — *Вопр. мед. химии*, 1970, 16, № 5, с. 3—19. 2. Гайнутдинов М. Х. Действие гормонов на митохондрии

печени. Митохондрии. Механизмы сопряжения и регуляции. — Тезисы. Пушкино. 1981. — 60 с. 3. Siess E. A., Fahimi F. M., Wieland O. H. Evidence that Glucagon stabilizes rather than activates mitochondrial functions in Rat liver. — Hoppe-Scyler's Z. Physiol. Chem., 1981, 362, N 12, p. 1643—1651.

Поступила в редколлегию 01.12.82.

УДК 577.171 : 577.112

В. Г. ЛЮБЕЦКАЯ

ВЛИЯНИЕ ТИРЕОИДЭКТОМИИ НА АКТИВНОСТЬ ЛИПОПРОТЕИНОВОЙ ЛИПАЗЫ И СПЕКТР ЛИПОПРОТЕИДОВ В КРОВИ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

В медицинской литературе имеется много работ, в которых показано, что уже в самом начале таких заболеваний, как атеросклероз и ишемическая болезнь сердца, спектр липидов и липопротеидов (ЛП) крови претерпевает определенные изменения. Большую роль в разрушении ЛП играет фермент липопротеиновая липаза (ЛПЛ), расщепляющий только те триглицериды, которые находятся в комплексе с белками крови. Активность ЛПЛ контролируется гормонами. Данные о действии тиреоидных гормонов на ЛПЛ в литературе немногочисленны, тем более в возрастном аспекте. Мы исследовали спектр ЛП крови в полиакриламидном геле и активность ЛПЛ постгепариновой сыворотки у белых крыс линии Вистар 1-, 3-, 12- и 24-месячного возраста в норме и через месяц после тиреоидэктомии.

В норме активность ЛПЛ снижается от 1 к 24 месяцам (изменения достоверные), что согласуется с литературными данными [1]. Тиреоидэктомия приводит к достоверному снижению активности фермента только у молодых 1- и 3-месячных животных. Имеются литературные данные о снижении активности ЛПЛ у больных гипотиреозом [2].

К старости получено достоверное увеличение фракции ЛП низкой плотности (ЛПНП), являющихся главной транспортной формой триглицеридов в крови, и снижение содержания ЛП высокой плотности (ЛПВП). Через месяц после тиреоидэктомии получено увеличение фракции ЛПНП у 1-, 3- и 12-месяч-

Таблица 1

Возраст, мес	1	3	12	24
Активность ЛПЛ в норме (мкэкв СЖК за 60')	3,29±0,37	2,53±0,26	2,34±0,6	2,42±0,18
Активность ЛПЛ после тиреоидэктомии (мкэкв СЖК за 60')	2,04±0,17	1,52±0,1	2,31±0,14	2,65±0,17
p	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05

Таблица 2

Возраст, мес	ЛП очень низкой плотности, %		ЛП низкой плот- ности, %		БП высокой плотности, %	
	Конт- роль	Тиреоид- экто- мия	Конт- роль	Тирео- идэкто- мия	Контроль	Тиреоид- эктомия
1	—	1,42	24,69	32,71	75,3	65,85
3	—	—	28,34	36,26	71,65	63,73
12	—	—	32,00	38,25	67,99	61,74
24	—	6,56	34,81	37,50	65,18	55,92

ных животных ($p < 0,001$; $p < 0,05$ соответственно) и уменьшение фракции ЛПВП у животных всех возрастов. Увеличение фракции ЛПНП после тиреоидэктомии и в старости хорошо объясняется снижением активности ЛПЛ в этих условиях, так как известно, что именно ЛП с низкой плотностью являются основными субстратами ЛПЛ.

Таким образом, недостаток тиреоидных гормонов, вызванный удалением щитовидной железы, влияет на снижение активности ЛПЛ у молодых животных и приводит к увеличению количества низкоплотных липопротеидов.

Список литературы: 1. Brodows P. G., Campbell R. G. Effect of age on post-heparin. lipase. — New Engl. J. Med., 1972, N 19, p. 969—973. 2. Урбанюк К. Г., Селиванова К. Ф., Шелег В. А. Липопротеидная липаза у больных с нарушенной функцией щитовидной железы. — Врач. дело, 1968, № 8, с. 61—64.

Поступила в редколлегию 22.11.82.

УДК 577.7.577.158

Ю. В. НИКИТЧЕНКО

ИЗМЕНЕНИЯ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ПОЧКЕ КРЫС С ВОЗРАСТОМ

Исследование перекисного окисления липидов с возрастом является актуальным в свете свободнорадикальной гипотезы старения.

Проведенные ранее в нашей лаборатории исследования перекисного окисления липидов в печени крыс разного возраста выявили снижение скорости накопления малонового диальдегида (МДА) с возрастом [1]. Мы исследовали возрастную направленность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в почках крыс.

Опыты проводили с постъядерной фракцией гомогенатов почек самцов крыс линии Вистар 1-, 3-, 12- и 24-месячного воз-

раста. Крыс лишали корма за 12—16 ч до опыта. После декапитации животного почки извлекали, охлаждали и готовили 50%-ный гомогенат, используя в качестве среды 100 мМ КСl, 30 мМ ТРИС — НСl-буфер рН—7,2. Получение постъядерного гомогената, определение МДА и белка проводили, как описано ранее [1]. Реакционная среда содержала: 100 мМ КСl, 30 мМ ТРИС—НСl-буфер рН—7,2, 1,5 мг белка гомогената на 1 мл среды и 1 мМ НАДФН (НАДФН-зависимое ПОЛ) или 0,8 мМ аскорбата (аскорбатзависимое ПОЛ).

Время инкуба- ции, мин	МДА, нмоль на 1 мг белка за время инкубации			
	1 мес	3 мес	12 мес	24 мес
НАДФН-зависимое ПОЛ				
0	3,8±0,5	3,2±0,3	1,8±0,1	2,3±0,2
10	10,8±1,1	10,0±0,9	4,9±0,6 $P_{1-12}<0,001$ $P_{3-12}<0,001$	6,2±1,3 $P_{1-24}<0,02$ $P_{3-24}<0,05$
30	22,8±2,6	17,2±1,8	9,6±1,4 $P_{1-12}<0,002$ $P_{3-12}<0,01$	11,7±1,7 $P_{1-24}<0,01$ $P_{3-24}<0,05$
Аскорбатзависимое ПОЛ				
0	0,9±0,1	0,7±0,1	0,4±0,1	0,7±0,1
10	12,8±1,1	12,1±1,2	4,8±0,9 $P_{1-12}<0,001$ $P_{3-12}<0,001$	5,7±0,6 $P_{1-24}<0,001$ $P_{3-24}<0,001$
30	32,0±2,6	28,6±2,7	21,7±1,8 $P_{1-12}<0,02$	25,3±1,7

Представленные в таблице результаты свидетельствуют о том, что накопление МДА при аскорбат- и НАДФН-зависимом ПОЛ в постъядерной фракции гомогенатов почки крыс выше у 1- и 3-месячных животных, чем у 12- и 24-месячных. Эта возрастная тенденция в накоплении МДА соответствует данным других авторов [2], изучавшим ПОЛ в гомогенатах почки 6- и 24-месячных крыс, и результатам, полученным в нашей лаборатории на гомогенатах печени крыс разного возраста [1]. Как следует из таблицы, накопление МДА при НАДФН-зависимом ПОЛ монотонно возрастает от времени инкубации у всех возрастных групп животных. При этом сохраняются межвозрастные различия. Возрастные различия аскорбатзависимого ПОЛ наиболее выражен при 10 мин инкубации, а к 30 минутам — сглаживаются. Четко выраженные возрастные различия в накоплении МДА за 10 мин инкубации объясняются латентным периодом в процессе ПОЛ у 12- и 24-месячных животных. После окончания латентного периода ПОЛ

в гомогенатах почки 12- и 24-месячных крыс резко увеличивается.

Можно предположить, что наличие латентного периода при аскорбатзависимом ПОЛ у 12- и 24-месячных крыс и низкая скорость накопления МДА при НАДФН-зависимом ПОЛ у них обусловлены увеличением количества антиоксидантов с возрастом, однако имеются данные о снижении при старении антиоксидантной активности липидов печени мышей [3].

Известно, что в почках крыс имеются глутатион-зависимые ферменты, в частности глутатионпероксидаза, выполняющие антиоксидантную функцию. Поэтому ингибирующее действие на ПОЛ в гомогенатах почки могут оказывать глутатион-зависимые антиоксидантные ферменты, роль которых, по-видимому, повышается к 12- и 24-месячному возрасту [1]. Тогда латентный период при аскорбатзависимом ПОЛ у 12- и 24-месячных животных тоже объясняется действием НАДФН-, глутатион-зависимых антиоксидантных ферментов, подавляющих ПОЛ до израсходования эндогенного НАДФН.

Предположение об увеличении с возрастом активности НАДФН-, глутатион-зависимых антиоксидантных ферментов находится в соответствии с данными, полученными в работе [4], в которой показано увеличение глутатионпероксидазной и глутатионтрансферазной активности в печени крыс при старении.

Из полученных данных следует, что накопление МДА при перекисном окислении липидов в гомогенатах почки максимально у 1- и 3-месячных крыс и снижается к 12- и 24-месяцам, что обусловлено, по-видимому, увеличением с возрастом активности НАДФН-, глутатион-зависимых антиоксидантных ферментов.

Список литературы: 1. Лемешко В. В., Калиман П. А., Никитченко Ю. В. Перекисное окисление липидов в постъядерной и микросомальной фракциях гомогенатов печени крыс при старении организма. — Биохимия, 1981, 46, № 4, с. 620—627. 2. Grinna L. S., Barber A. A. Lipid peroxidation in livers and kidneys from young and old rats. — Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1973, 35, N3, 773—779. 3. Эмануэль Н. М. Свободные радикалы и старение. — В кн.: Геронтология и гериатрия. Киев: Госкомиздат УССР, 1976, с. 103—110. 4. Возрастные изменения глутатион-S-трансферазной и глутатионпероксидазной активности цитозоля печени крыс В. З. Ланкин, А. К. Тихазе, А. Л. Ковалевская и др. — Докл. АН СССР, 1981, 261, N6, с. 1467—1470.

Поступила в редколлегию 22.11.82.

Ю. А. МОРОЗ, канд. биол. наук, Т. В. ТАРАН

**КОЛЛАГЕН СУХОЖИЛИЙ В ОНТОГЕНЕЗЕ
НОРМАЛЬНЫХ И ТИРЕОИДЭКТОМИРОВАННЫХ КРЫС**

Нашей целью было изучение влияния щитовидной железы на возрастные изменения коллагеновых структур. Исследования вели на хвостовых сухожилиях крыс линии Вистар. Тиреоидэктомии производили за 1 месяц до эксперимента у животных 1-, 3-, 12- и 24-месячного возраста. Для 1- и 3-месячных подопытных животных контролем служили 2- и 4-месячные крысы. Растворимый коллаген сухожилий выделяли последовательной экстракцией белка в течение 2-х суток 0,45 М и 1,0 М растворами NaCl, каждые сутки меняя экстрагирующий раствор. На 5-е сутки аликвоту общего экстракта, а также навеску сухожилий для определения суммарного коллагена гидролизovali в 6*n* HCl в запаянных ампулах при 130° в течение 4-х ч. В нейтрализованных гидролизатах определяли содержание коллагена по оксипролину методом Стегемана и Сталдера [1]. Результаты выражали в мг коллагена на 1 г сырой ткани. Статистическую обработку вели по Стьуденту—Фишеру [2].

Установлено, что концентрация суммарного коллагена в сухожилиях с возрастом повышается, составляя 155,9; 173,2; 196,2 и 196,1 мг на 1 г сырой ткани у 2-, 4-, 12-, 24-месячных животных соответственно. Количество общего нейтрально-растворимого коллагена в процессе онтогенеза снижается с 9,27 мг в 2 месяца до 5,45 мг в 4 месяца, падает к 12 месяцам до 3,77 мг и сохраняется на этом уровне у старых крыс (3,81 мг). Существенно снижается к старости концентрация отдельных фракций нейтрально-растворимого коллагена, особенно белка, легко переходящего в раствор 0,45 М NaCl (3,64; 2,03; 1,32 и 1,35 мг в каждой из четырех последовательно изученных возрастных групп). Эти данные согласуются с литературными и могут свидетельствовать о снижении скорости синтеза коллагена и нарастании числа и прочности межмолекулярных поперечных связей.

Удаление щитовидных желез приводит к падению концентрации суммарного коллагена у животных всех возрастных групп, за исключением 24-месячных: в 2 месяца она составляет 89%, в 4—93%, в 12 месяцев — 92% по сравнению с нормой. Общее количество нейтрально-растворимого коллагена у тиреоидэктомированных крыс также снижается: до 85% в 2-месячном возрасте, до 59—в 4-месячном и до 92% у 12-месячных крыс, а у старых не меняется. Значительным изменениям подвергаются обе растворимые фракции коллагена, особенно экстрагируемая 0,45 М раствором NaCl: ее количество снижается,

составляя 78, 60, 90 и 96% у 2-, 4-, 12- и 24-месячных крыс соответственно по сравнению с нормой.

Приведенные данные свидетельствуют о возрастных различиях во влиянии тиреоидэктомии на коллагеновые структуры. У старых животных отмечены недостоверные сдвиги в свойствах коллагена сухожилий и его концентрации. В молодом и зрелом возрасте снижение растворимости коллагена и его суммарной концентрации является, вероятно, в первую очередь следствием падения скорости синтеза этого белка. Обобщая полученные результаты, можно заключить, что возрастное развитие коллагеновых структур во многом определяется уровнем функциональной активности щитовидной железы, гормональная поддержка которой особенно важна в первой половине онтогенеза.

Список литературы: 1. Stegemann H., Stalder K. Determination of hydroxyproline. — Clin. Chim. Acta, 1967 18, N 2, p. 267—273. 2. Бейли Н. Статистические методы в биологии. — М.: Мир, 1965. — 271 с.

Поступила в редколлегию 23.11.82.

УДК 577.1 : 547.962

Е. Э. ПЕРСКИЙ, канд. биол. наук,
Л. А. УТЕВСКАЯ, канд. биол. наук,
Л. П. РЕУС, О. В. ЗАРЕЧЕНСКАЯ, А. И. ГОРПЕНКО

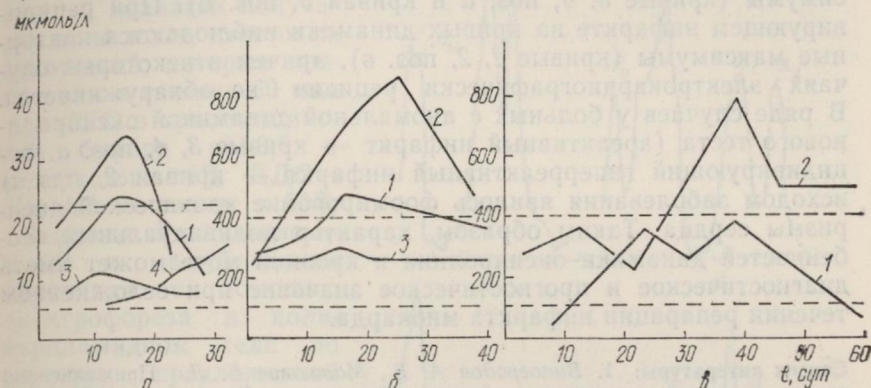
ОКСИПРОЛИНОВЫЙ ТЕСТ В ОСЛОЖНЕННЫХ СЛУЧАЯХ РЕПАРАЦИИ ИНФАРКТА МИОКАРДА

В процессе репарации инфаркта миокарда в крови и моче повышается содержание продуктов распада коллагена — свободного и пептидно-связанного оксипролина [1]. Это повышение связано с интенсификацией обмена коллагена при образовании соединительно-тканного рубца. После окончания рубцевания уровень оксипролина возвращается к норме. Таким образом, динамика содержания оксипролина в крови и моче (оксипролинового теста) позволяет следить за ходом репарации. К настоящему времени изучены только общие закономерности динамики оксипролинового теста при репарации. Мы поставили своей целью выяснение динамики содержания оксипролина в зависимости от индивидуальных особенностей репарации инфаркта миокарда.

Под наблюдением находились 76 больных острым крупноочаговым инфарктом миокарда (59 мужчин и 17 женщин, в возрасте от 36 до 82 лет). Измеряли концентрацию свободного оксипролина в сыворотке крови и общую суточную экскрецию оксипролинсодержащих метаболитов с мочой. Определение про-

водили по методу Стегемана и Сталдера в модификации [2] еженедельно в течение 4—10 недель от начала заболевания. Для установления пределов колебаний исследуемых показателей в норме были одноразово обследованы 178 практически здоровых людей (134 мужчины и 44 женщины, в возрасте от 18 до 55 лет).

Показано, что в норме концентрация свободного оксипролина в сыворотке крови составляет $13,7 \pm 0,30$ мкмоль/л, общая



Динамика концентрации оксипролина в сыворотке крови и его суточной экскреции с мочой при разных вариантах течения инфаркта миокарда; t — время от начала заболевания

суточная экскреция оксипролина — 267 ± 26 мкмоль/сут (пределы колебаний 5,3—22,1 мкмоль/л и 110—409 мкмоль/сут). При репарации инфаркта максимальный уровень этих показателей достигает значений $26,0 \pm 1,5$ мкмоль/л и 416 ± 66 мкмоль/сут. Пределы максимальных значений существенно шире (от 11,4 до 36,6 мкмоль/л и от 146 до 868 мкмоль/сут), в основном за счет осложненных случаев. Динамика показателей отличается выраженной индивидуальностью. По данным клинического и лабораторного обследования больные были разделены на группы с неосложненным и осложненным течением репарации. В последней группе выделены подгруппы с гиперреактивным и ареактивным некрозом (чему в ряде случаев сопутствовали клинические симптомы аневризмы сердца) и с рецидивирующим инфарктом.

На рисунке представлены типичные примеры динамики концентрации свободного оксипролина в сыворотке крови (а) и общей суточной экскреции свободного и пептидносвязанного оксипролина (б, в) при различных вариантах течения репаративного процесса. Пунктирными линиями обозначены пределы колебаний измеряемых показателей в норме. Форма кривых 1

(поз. а, б) типична для нормореактивного инфаркта с закономерным повышением показателей, достигающих максимальных значений на 15-й — 25-й день болезни, и последующим их снижением до исходного уровня.

Для гиперреактивного некроза характерны высокие значения показателей, часто раннее их повышение или отсутствие нормализации к 5-й — 6-й неделе (кривая 2, поз. а, б). При ареактивном инфаркте отмечены монотонно низкие значения показателей в течение 4—6 недель, отсроченные и низкие максимумы (кривые 3, 4, поз. а и кривая 3, поз. б). При рецидивирующем инфаркте на кривых динамики наблюдаются повторные максимумы (кривые 1, 2, поз. в), причем в некоторых случаях электрокардиографически рецидив не обнаруживается. В ряде случаев у больных с аномальной динамикой оксипролинового теста (ареактивный инфаркт — кривые 3, 4, поз. а, рецидивирующий гиперреактивный инфаркт — кривая 2, поз. в) исходом заболевания явилось формирование хронической аневризмы сердца. Таким образом, характер индивидуальных особенностей динамики оксипролина в крови и моче может иметь диагностическое и прогностическое значение при осложненном течении репарации инфаркта миокарда.

Список литературы: 1. Виноградов А. В., Мовшович Б. Л. Прижизненная оценка процессов заживания инфаркта миокарда. — Клин. мед., 1978, № 7, с. 19—22. 2. Утевская Л. А., Перский Е. Э. Простой метод определения суммарного и свободного оксипролина в моче. — Вестн. Харьк. ун-та, № 226. Новые исследования по возрастной физиологии и биохимии, природе гетерозиса и экологии животных, 1982, с. 18—20.

Поступила в редколлегию 23.11.82.

УДК 577.12 : 612

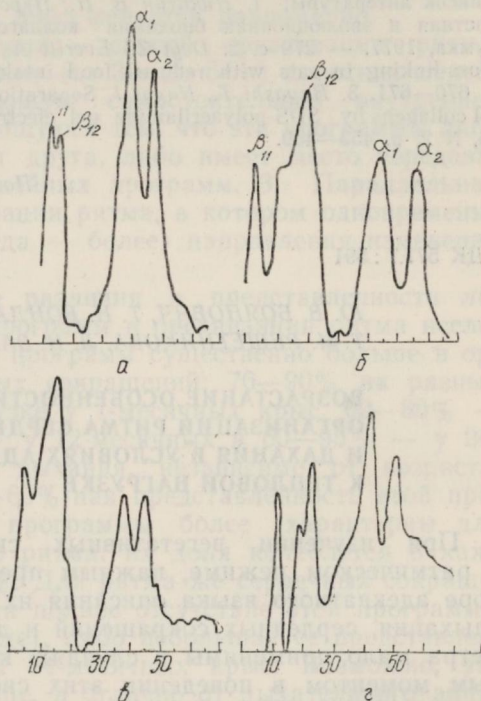
Л. В. ВАСИЛЬЕВА

ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ СУБЪЕДИНИЧНОГО СОСТАВА КОЛЛАГЕНА ИЗ СУХОЖИЛИЙ КРЫС В НОРМЕ И ПРИ СДЕРЖИВАЮЩЕМ РОСТ ПИТАНИИ

Важный механизм возрастных изменений коллагена — накопление в нем поперечных ковалентных сшивок [1]. Обнаружено, что при содержании молодых животных на сдерживающем рост питании их коллаген содержит меньше сшивок, чем коллаген нормальных животных того же возраста [2]. Однако различия в скорости накопления поперечных сшивок на протяжении всего онтогенеза у нормальных и подопытных животных до сих пор не исследованы. Выяснению этого вопроса посвящена данная статья.

Эксперименты проведены на белых крысах-самцах линии Вистар в возрасте 1, 3 и 24 месяца, находившихся на обычной диете (норма) и 24-месячных крысах, содержащихся с 1-месячного возраста на периодическом сдерживающем рост питания. О количестве сшивок судили по относительному содержанию в денатурированном коллагене индивидуальных α -цепей и их связанных поперечными сшивками агрегатов — β -субъединиц. Денатурированный коллаген получали из волокон хвостовых сухожилий, которые прогревали в течение 60 мин при 75°C в трис-глициновом буфере pH-8,8 в присутствии 1% ДДС—Na, 4М мочевины и 50% глицерина. Разделение α -цепей и β -субъединиц проводили с помощью электрофореза в полиакриламидном геле по методике, предложенной в [3]. На каждую трубку наносили 0,05 мл раствора, содержащего 100—150 мкг коллагена. Белок окрашивали амидо-черным; гели денситометрировали на БИАН-101.

Типичные денситограммы для образцов денатурированного коллагена животных разного возраста приведены на рисунке. Как видно, с возрастом животных количество β -частиц в денатурированном коллагене увеличивается как у нормальных животных, так и у животных с задержанным ростом. Однако относительное содержание α -цепей и β -частиц в период от 1 до 24 месяцев изменяется в коллагене этих двух групп животных по-разному. Для оценки этого различия были рассчитаны средние по всем образцам отношения площадей пиков, соответствующих α -цепям и β -частицам — α/β . В норме α/β составляет в 1 месяц 2,9, в 3 месяца — 1,6, в 24 месяца — 0,7; у животных с задержанным ростом в 24 месяца α/β —1,4. Таким образом, по этому показателю интенсивность поперечного свя-



Содержание α -цепей и β -субъединиц в коллагене крыс в норме и при задержке роста (денситограммы разделенных электрофорезом в полиакриламидном геле препаратов коллагена): а—1 мес; б—3 мес; в—24 мес; г—24 мес (задержка роста)

звания у подопытных животных примерно вдвое меньше, чем в норме. По степени поперечного связывания исследованные образцы коллагена 24-месячных животных с задержанным ростом ближе к коллагену 3-месячных, чем 24-месячных нормальных животных.

Список литературы: 1. Никитин В. Н., Перский Е. Э., Утевская Л. А. Возрастная и эволюционная биохимия коллагеновых структур. — К.: Наук. думка, 1977. — 279 с. 2. Deyl Z., Everitt A., Rosmus J. Changes in collagen cross-linking in rats with reduced food intake. — *Nature*, 1968, **217**, N 5129, p. 670—671. 3. Hayashi T., Nagai J. Separation of the α chains of type I and III collagens by SDS-polyacrilamide gel electrophoresis. — *J. Biochem.*, 1979, **86**, N 2, p. 453—459.

Поступила в редколлегию 08.12.82.

УДК 577.7 : 591

Ю. В. БОЯНОВИЧ, Т. Н. БОНДАРЬ,
Т. И. РЕШЕТНИКОВА, Л. Н. ЗАЙЦЕВА

ВОЗРАСТАНИЕ ОСОБЕННОСТИ ВРЕМЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ РИТМА СЕРДЕЧНЫХ СОКРАЩЕНИЙ И ДАХАНИЯ В УСЛОВИЯХ АДАПТАЦИИ К ТЕПЛОВОЙ НАГРУЗКЕ

При изучении вегетативных систем, функционирующих в ритмическом режиме, важным представляется вопрос о выборе адекватного языка описания их работы. Средние частоты (дыхания, сердечных сокращений и др.) и разброс этого параметра мало применимы в случаях, когда наиболее существенным моментом в поведении этих систем является постоянное его изменение. Поиск способов адекватного описания характеристик динамики частотных режимов работы сердца и дыхательного аппарата и является задачей настоящего исследования.

Работа выполнена на 40 белых крысах линии Вистар 4-х возрастов: 1-, 3-, 12- и 24-месячных — по 10 каждого возраста. Исследовалась динамика частоты сердечных сокращений и дыхания в ходе адаптации к тепловой нагрузке (крысы находились в камере при 40° в течение 40 мин). В ходе эксперимента на 4-канальном электроэнцефалографе 4-ЭЭГ-3 регистрировались электрокардиограмма и пневмограмма. Запись проводилась перед началом опыта, сразу после помещения животного в тепловую камеру, а также на 5-й, 10-й, 15-й, 20-й, 30-й и 40-й минутах исследования. Полученные данные были обработаны вариационно-статистическим методом.

Анализ кривых проводился следующим образом. На оси ординат отмечалась длительность каждого дыхательного движе-

ния (или 10-ти сердечных сокращений); на оси абсцисс—номер дыхательного движения (десятка сердечных сокращений). Удалось выявить три основных типа организации (программы) ритма сердечных сокращений и дыхательных движений.

1. Линейная программа — способ организации ритма, при котором исследуемый параметр в течение некоторого времени либо не изменяется вовсе, либо меняется равномерно.

2. Дискретная программа — способ организации ритма, представляющий собой серию (от 3-х до 6-ти) коротких линейных программ, обладающую самостоятельной внутренней структурой и характеризующуюся тем, что эти программы либо полностью повторяют друг друга, либо имеет место чередование двух типов таких линейных программ. 3. Параллельная программа — тип организации ритма, в котором одновременно прослеживаются два (иногда — более) направления изменения параметра.

Имеются значительные различия в представленности линейных и параллельных программ в организации ритма исследуемых систем. Линейных программ существенно больше в организации ритма сердечных сокращений: 70—90% на разных этапах адаптации к нагрузке у 1-месячных крыс, 60—80% — у 3-месячных, 40—60% — у 12-месячных и 60—95% — у 24-месячных. Для ритма же дыхания, независимо от возраста, характерна примерно 40—60%-ная представленность этой программы. Параллельные программы более характерны для организации дыхательного ритма: их доля колеблется в каждом возрасте от 15 до 35%. Для ритма же сердечных сокращений характерно либо почти полное отсутствие этой программы (в 1- и 3-месячном возрасте), либо небольшая ее представленность (до 10%) у 12- и 24-месячных крыс. Возможно, это объясняется тем, что сердце, в отличие от дыхательного аппарата, обладает автоматией, для которой (при отсутствии значительных влияний из центральной нервной системы) линейная программа является наиболее естественной. Тот факт, что параллельные программы, хотя и в небольшой степени, появляются в организации ритма сердечных сокращений на поздних этапах онтогенеза, говорит в пользу предположения об усилении нервного контроля со стороны центральной нервной системы за работой сердца именно в этот период, что, однако, расходится с литературными данными¹.

Описанный в настоящей статье подход к анализу работы физиологических систем позволяет, на наш взгляд, по-новому взглянуть на само понятие разброса физиологического параметра. Как правило, в каждом из 3-х вариантов организации ритма хорошо прослеживались границы интервала, в пределах

¹ Коркушко О. В. Сердечно-сосудистая система при старении. — Вестн. Акад. мед. наук СССР, 1980, № 3, с. 50—55.

которого и осуществляется изменение длительности изучаемого параметра. Рассматриваемые три типа организации ритма являются тремя различными способами заполнения этого физиологического интервала: линейный и дискретный варианты представляют собой своего рода «сканирование» от одной «границы допустимости» параметра к другой, а параллельный — очерчивание верхней и нижней его границ.

Следует обратить внимание, что сам факт наличия таких физиологических интервалов может быть описан и в рамках традиционных способов статистической обработки: обычно такой характеристикой является величина разброса параметра. Однако применение только ее не дает возможности судить о конкретных качественных формах его заполнения. Разброс физиологического параметра, таким образом, можно рассматривать как своего рода интегральную характеристику поисковой активности тех центральных структур, которые обеспечивают адекватное функционирование вегетативных систем организма как в норме, так и в условиях самых различных нагрузок на эти системы.

Поступила в редколлегию 10.11.82.

УДК 577.152.2 : 591.169.2

Н. А. ШОНО, Е. В. ПАРИНА

АКТИВНОСТЬ ПИРУВАТКИНАЗЫ И ФОСФОФРУКТОКИНАЗЫ В РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ ПЕЧЕНИ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Результаты изучения активности некоторых ферментов углеводного и энергетического обмена (гексокиназы, глюкозо-6-фосфатазы, фруктозо-1,6-дифосфатазы и олигомицинчувствительной АТФ-азы) косвенно указывают на повышение роли гликолиза в энергетическом обеспечении печени в период регенерации. Для более детального изучения процесса гликолиза в этих условиях необходимо было выяснить состояние активности фосфофруктокиназы и пируваткиназы, которые занимают важное место в его регуляции. В связи с этим нашей задачей было изучение активности указанных ферментов на первые и вторые сутки регенерации печени.

Использовали белых крыс линии Вистар в возрасте 1, 3, 12 и 24 месяца. Частичную гепатэктомию осуществляли путем удаления 2/3 массы печени и активность ферментов определяли в постмитохондриальной фракции удаленной части печени, а также ее регенерате через 24 и 48 ч после операции. Активность фосфофруктокиназы (ФФК-азы) определяли методом Линга [1] с вспомогательными ферментами по окислению

НАД·Н, а активность пируваткиназы (ПК-азы) методом Ос-термана [2] в системе, сопряженной с лактатдегидрогеназой по окислению НАД·Н. Количество белка определяли методом Лоури и др. Статистическую обработку данных проводили методом Стьюдента-Фишера.

Из сопоставления данных, полученных при исследовании интактной печени, видно, что с возрастом наблюдается падение активности ПК-азы, в то время как активность ФФК-азы печени отличается стабильностью на протяжении онтогенеза. В регенерирующей печени (24-й ч) тканевая активность обоих

Т а б л и ц а 1

Условия опыта	Возраст, мес			
	1	3	12	24
ПК-аза				
Норма (а)	27,1±2,8	22,6±1,85	26,7±2,1	19,4±1,1
Регенерация 24 ч (б)	22,0±1,3	21,7±4,4	20,5±2,5	19,3±2,0
Норма (в)	25,9±1,27	23,2±2,5	19,0±2,2	14,2±1,5
Регенерация 48 ч (г)	23,7±0,48	16,3±2,6	16,6±1,3	16,3±0,57
ФФК-аза				
Норма (д)	9,3±0,5	9,1±0,39	9,6±0,33	9,2±1,0
Регенерация 24 ч (е)	9,2±0,34	8,1±1,0	9,1±0,4	7,6±0,9
Норма (ж)	8,5±0,58	9,0±0,46	8,6±0,44	8,4±0,64
Регенерация 48 ч (з)	9,4±0,25	7,8±0,46	8,4±0,2	9,3±0,9

ферментов (табл. 1) мало отличается от исходного уровня и наблюдаемое в некоторых случаях ее снижение статистически недостоверно. Последующий период регенерации (48-й ч) характеризуется определенной тенденцией к повышению тканевой активности ПК-азы у крыс возраста 2-х лет, а также ФФК-азы в данном и одномесячном возрасте. Иная картина наблюдается при расчете на единицу белка фракции.

Данные этого расчета (табл. 2) указывают на увеличение активности ФФК-азы в 1-месячном возрасте через 24 ч после операции и особенно через 48 ч. Аналогичные по направленности изменения этого фермента происходят также у годовалых крыс, тогда как у двухгодовалых они имеют место только к концу 2-х суток. Отсутствуют какие-либо сдвиги активности только в возрасте 3-х месяцев. В отличие от ФФК-азы уровень ПК-азы при той же норме расчета остается в регенерате неизменным у всех возрастных групп, за исключением старых животных, где он заметно возрастает. Такие отличия между

Таблица 2

Условия опыта	Возраст, мес			
	1	3	12	24
ПК-аза				
Норма (а)	0,325±0,03	0,252±0,02	0,270±0,02	0,213±0,02
Регенерация 24 ч (б)	0,309±0,02	0,268±0,03	0,266±0,03	0,268±0,03
Норма (в)	0,385±0,01	0,254±0,03	0,205±0,02	0,157±0,015
Регенерация 48 ч (г)	0,382±0,01	0,218±0,04	0,223±0,02	0,213±0,015
ФФК-аза				
Норма (д)	0,101±0,005	0,093±0,004	0,092±0,003	0,091±0,01
Регенерация 24 ч (е)	0,122±0,004	0,099±0,01	0,108±0,001	0,095±0,007
Норма (ж)	0,085±0,006	0,096±0,003	0,084±0,005	0,092±0,005
Регенерация 48 ч (з)	0,114±0,003	0,093±0,005	0,096±0,003	0,121±0,01

Примечание. $P < 0,05$ при сравнении: 1 мес. (д-е; ж-з); 12 мес. (д-е; ж-з); 24 мес. (в-г; ж-з).

общей тканевой активностью ферментов и удельной их активностью в извлеченных из ткани фракциях связаны не только с количеством фермента в данных фракциях, но и с содержанием в них других белков. В регенерирующей печени оно заметно снижается, что приводит или к восстановлению исходного уровня относительной активности фермента, или к его повышению.

Анализируя наблюдаемые изменения активности ферментов следует подчеркнуть, что уровень ФФК-азы в регенерирующей печени чаще, чем ПК-азы обнаруживает тенденцию к повышению и она проявляется у обоих ферментов только в печени двухгодовалых крыс к концу 2-х суток после гепатэктомии. Это указывает на возможность активации гликолиза в данных условиях у старых крыс путем увеличения концентрации ферментов в ткани. Однако образование фруктозо-1,6-дифосфата определяется не только активностью ФФК-азы, но и активностью фруктозо-1,6-дифосфатазы (ФДФ-азы), т. е. отношением ФФК-аза/ФДФ-аза. При регенерации это отношение особенно увеличивается по сравнению с нормой через 48 ч после гепатэктомии во все периоды онтогенеза, но в 1-месячном возрасте оно в 2 раза выше, чем в 24-месячном. Таким образом, мы встречаемся с разными способами увеличения объема превращений метаболитов путем гликолиза у неполовозрелых и старых крыс в регенерирующей печени.

Список литературы: 1. Kuo-Huang Ling, Frank Mancus and Henry A. Lardy Purification and some properties of rabbit skeletal muscle phosphofructokinase. — J. Biol. Chem., 1965, 240, N 5, p. 1893—1899. 2. Juraj Osterman, Paul J. Fritz and Thomas Wuntch. Pyruvate kinase isozymes from rat tissues. — J. Biol. Chem., 1973, 248, N 3, p. 1011—1018.

Поступила в редколлегию 22.11.82.

УДК 577.213.3

А. Г. МАЗАЕВ

ДИНАМИКА ВКЛЮЧЕНИЯ ^{14}C -ОРОТОВОЙ КИСЛОТЫ В РНК МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА *IN VIVO*

В литературе имеются только разрозненные данные об интенсивности включения меченых предшественников в РНК митохондрий животных разного возраста *in vivo* [1, 2]. Мы изучали интенсивность включения ^{14}C -оротовой кислоты в РНК митохондрий печени крыс разного возраста *in vivo* в динамике. Последний аспект представляется нам особенно важным для выбора оптимальных условий дальнейших экспериментов по выяснению роли ядерного и митохондриального геномов в синтезе РНК митохондрий.

Эксперименты проводили на белых крысах линии Вистар в возрасте 1,3 и 24 месяца. ^{14}C -оротовую кислоту вводили животным внутрибрюшинно в дозе 40 мкКи на 100 г массы тела. Крыс забивали через 15, 30, 60, 120, 240 и 360 мин после введения метки. Чтобы получить сопоставимые результаты, в опыт одновременно брали животных одного возраста всех шести экспозиций после введения метки. Выделение митохондрий печени крыс и определение в них РНК проводили традиционными методами [3]. Чтобы определить интенсивность включения ^{14}C -оротовой кислоты в РНК митохондрий, последних подвергали предварительному щелочному гидролизу с последующим осаждением негидролизованного материала хлорной кислотой. Образцы гидролизата РНК вносили в жидкий диоксанный сцинтиллятор. Счет импульсов проводили на β -счетчике СБС-2. Интенсивность включения ^{14}C -оротовой кислоты в РНК митохондрий выражалась в единицах удельной радиоактивности имп/мин/мг РНК. Сравнение интенсивностей включения меченого предшественника в РНК митохондрий печени крыс одного возраста при разных экспозициях проводили методом пар. Достоверные различия данного показателя для одинаковых промежутков времени после введения метки у животных разного возраста определяли по методу Стьюдента—Фишера.

В таблице приведены данные и результаты их статистической обработки для следующих друг за другом экспозиций в пределах одной возрастной группы. Как видим, интенсив-

Возраст, мес	1	3	24
<i>n</i>	6	4	5
15 ¹ <i>X</i>	6384	9891	2811
<i>X</i>	8202	18993	6210
30 $\Delta X \pm S\Delta X$	1818 $\pm$ 1146	9102 $\pm$ 77	3399 $\pm$ 1928
<i>p</i>	>0,1	<0,001	>0,1
<i>X</i>	16819	23793	9233
60 $\Delta X \pm S\Delta X$	8617 $\pm$ 293	4800 $\pm$ 993	3023 $\pm$ 256
<i>p</i>	<0,001	<0,02	<0,001
<i>X</i>	64365	40659	33349
120 $\Delta X \pm S\Delta X$	47546 $\pm$ 2161	16865 $\pm$ 4931	24116 $\pm$ 886
<i>p</i>	<0,001	<0,05	<0,001
<i>X</i>	108417	120381	82287
240 $\Delta X \pm S\Delta X$	44052 $\pm$ 8127	79723 $\pm$ 2482	48938 $\pm$ 916
<i>p</i>	<0,001	<0,001	<0,001
<i>X</i>	216482	143573	173066
360 $\Delta X \pm S\Delta X$	108065 $\pm$ 36911	23192 $\pm$ 897	90779 $\pm$ 2301
<i>p</i>	0,05	0,001	0,001

ность включения ¹⁴C-оротовой кислоты в РНК митохондрий печени крыс нарастает со временем экспозиций от 1 до 6 ч в каждой из возрастных групп, причем характер этого увеличения приближается к линейному. В то же время во всех возрастах в течение первого часа включения метки наблюдается лаг-период. Никаких различий между возрастными группами обнаружено не было, что согласуется с данными Минченко [1]. Как показано ранее, при включении меченого предшественника в РНК митохондрий печени крыс разного возраста *in vitro* наблюдается иная картина: этот показатель существенно увеличивается от 1 к 3 месяцам и снижается к старости [1, 3]. Известно, что в клетке все этапы биогенеза митохондрий, в том числе синтез РНК митохондрий, находятся под координированным контролем со стороны ядерного, а также митохондриального геномов [4]. Сопоставление возрастных особенностей включения меченых предшественников в РНК митохондрий *in vivo* и *in vitro* позволяет предположить, что существуют определенные возрастные особенности регуляции синтеза РНК митохондрий со стороны ядерного генома.

Список литературы: 1. Минченко А. Г. Экспрессия митохондриальных генов у взрослых и старых крыс. — Молекулярные и клеточные механизмы старения: Тез. докл. К., 1981, 21—24 апр., с. 111—114. 2. Kreamer W., Zorich N., Lin D. S. H. and Richardson A. Effect of age on RNA synthesis by rat hepatocytes. — Exp. Geront., 1979, 14, N 1, p. 27—36. 3. Особенности ядерно-митохондриальных взаимоотношений в процессе митохондриогенеза у белых крыс разного возраста/Н. М. Новикова, Х. Шредер, А. Г. Мазаев, У. Нетцель. — В кн.: Актуальные проблемы возрастной физиологии, биохимии

¹ Экспозиция в минутах.

и биофизики. К.: Наук. думка, 1979, с. 46—54. 4. Нейфах С. А. Роль митохондрий в клеточной наследственности. — В кн.: Молекулярная генетика митохондрий. Л.: Наука, 1977, с. 8—18.

Поступила в редколлегия 08.12.82.

УДК 577.29

Г. И. ДЕРЕВЯНКО

ОСОБЕННОСТИ АКТИВНОСТИ АМИНОАЦИЛ-тРНК-СИНТЕТАЗ В РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ ПЕЧЕНИ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Исследовали активность аминоксил-тРНК-синтетаз (АРСаз) в печени белых крыс линии Вистар в возрасте 1,3 и 24 месяца в норме и через 48 ч после частичной гепатэктомии. Препарат АРСаз получали модифицированным методом Хогланда [1] и методом колоночной хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе [2]. Последний использовали также для одновременного выделения тРНК из того же образца ткани. Активацию аминокислот определяли колориметрическим гидроксаматным методом, а аминокислирование — методом Берга [3]. Радиоактивность ^{14}C -аминоацил-тРНК устанавливали жидкостным сцинтилляционным способом на счетчике СБС-2. Количество тРНК находили спектрофотометрически при 260 нм. В табл. 1 показан уровень активации аминокислот АРСазами интактной (Н) и регенерирующей (Р) печени крыс разного возраста (мкмоль аминокислигидроксаматов на г ткани).

Таблица 1

АРСазы	Условия опыта	Возраст, мес			Р
		1	3	24	
Суммарная	Н	$2,18 \pm 0,09$	$2,70 \pm 0,09$	$2,13 \pm 0,08$	$P_{1-3} < 0,05$
АРС-аза	Р	$2,04 \pm 0,10$	$2,24 \pm 0,12$	$2,12 \pm 0,06$	$P_{1-24} < 0,05$
R_{H-P}		$< 0,05$	$< 0,05$		
Фенилаланин	Н	$0,44 \pm 0,02$	$0,56 \pm 0,04$	$0,53 \pm 0,03$	$P_{1-3} < 0,02$
тРНК-синтетаза	Р	$0,52 \pm 0,03$	$0,39 \pm 0,05$	$0,46 \pm 0,05$	$P_{1-3} < 0,05$
R_{H-P}		$< 0,05$			
Триптофанил	Н	$0,71 \pm 0,05$	$0,71 \pm 0,03$	$0,71 \pm 0,02$	$P_{1-3} < 0,05$
тРНК-синтетаза	Р	$1,09 \pm 0,07$	$0,75 \pm 0,04$	$1,06 \pm 0,10$	$P_{3-24} < 0,05$
R_{H-P}		$< 0,001$		$< 0,01$	
Тирозил-тРНК-синтетаза	Н	$1,20 \pm 0,10$	$1,09 \pm 0,06$	$0,95 \pm 0,05$	
	Р	$1,31 \pm 0,08$	$0,91 \pm 0,10$	$0,99 \pm 0,12$	$P_{1-3} < 0,05$
Метионил-тРНК-синтетаза	Н	$1,23 \pm 0,05$	$0,94 \pm 0,06$	$0,92 \pm 0,08$	$P_{1-3} < 0,02$
	Р	$1,42 \pm 0,03$	$1,16 \pm 0,09$	$1,06 \pm 0,08$	$P_{1-3} < 0,05$
R_{H-P}		$< 0,02$			
Серил-тРНК-синтетаза	Н	$1,04 \pm 0,03$	$0,98 \pm 0,03$	$1,03 \pm 0,05$	$P_{1-3} < 0,05$
	Р	$1,05 \pm 0,04$	$0,72 \pm 0,05$	$0,92 \pm 0,03$	$P_{3-24} < 0,05$

Полученные результаты свидетельствуют о том, что суммарная активность АРСаз несколько увеличивается к 3-месячному возрасту, а затем снижается к старости. В то же время изменения уровня активации индивидуальных аминокислот имеют разную направленность: к 3-месячному возрасту степень активации лизина повышается, тирозина и метионина снижается, оставаясь на том же уровне у 24-месячных крыс; активация триптофана и серина при этом практически не изменяется. Неоднозначность изменений активности АРСаз может быть обусловлена различной потребностью в аминокислотах для новообразования специфических белков, интенсивность синтеза которых в процессе онтогенеза изменяется неравномерно.

Характер возрастных изменений активации индивидуальных аминокислот у гепатэктомированных крыс в отличие от интактных приобретает вполне определенную направленность, выражающуюся в снижении уровня активации всех исследуемых аминокислот к 3-месячному возрасту и в дальнейшем — его повышении к старости.

В регенерирующей печени возрастные различия суммарной активности АРС-аз также сглаживаются за счет ее снижения у 3-месячных животных. Некоторое снижение активности фермента наблюдается у 1-месячных крыс. В поздние периоды онтогенеза (24 мес) регенерация не влияет на данный показатель. Отсюда следует, что усиление синтеза белков в процессе регенерации в молодом возрасте не связано с активацией этого звена белкового синтеза и новообразование АРС-аз в исследуемый период у молодых животных отстает от синтеза других белков ткани. У старых же крыс новообразование этих ферментов идет с той же интенсивностью, что и других белков, и это позволяет сохранить исходный уровень суммарной активности данных ферментов. Изменение уровня активации отдельных аминокислот после гепатэктомии отличается большей вариабельностью и зависит от возраста животных. У 1-месячных крыс увеличивается фенилаланил-, метионил- и триптофанил-тРНК-синтетазная активность, у 3-месячных животных активность метионин-активирующего фермента повышается, а фенилаланин- и серинактивирующего снижается, у 24-месячных крыс повышается только активность триптофанил-тРНК-синтазы. Во всех остальных случаях активность ферментов колеблется в пределах нормального уровня. В табл. 2 показан уровень аминоацилирования тРНК АРСазами интактной (Н) и регенерирующей (Р) печени крыс разного возраста (имп/100 с/мг тРНК).

Аминоацилирование тРНК индивидуальными аминокислотами (табл. 2) так же, как и их активация, по-разному изменяется в зависимости от возраста животных. Так, уровень образования лизил-тРНК более высокий у молодых животных, к старости значительно снижается. В то же время уровень

Таблица 2

Возраст, мес	¹⁴ С-метионил-тРНК		¹⁴ С-лизил-тРНК		P _{Н-Р}
	Н	Р	Н	Р	
1	3019±218	2847±178	6840±383	5466±359	P _{лиз} <0,05
3	3704±215	3588±162	7116±366	6138±426	
24	4197±201	3840±228	5774±345	5639±428	
Р	P ₁₋₃ <0,05 P ₁₋₂₄ <0,01	P ₁₋₃ <0,01 P ₃₋₂₄ <0,01	P ₃₋₂₄ <0,02 P ₁₋₂₂ <0,05		

метионил-тРНК у 1-месячных ниже, чем у 3- и 24-месячных крыс. Эти данные указывают на возрастные особенности индивидуальных АРСаз и популяции специфических тРНК, которые могут быть обусловлены различиями в наборе синтезируемых белков. Потребность в них может изменяться в зависимости от возраста животных.

Аминоацилирующая способность АРСаз в регенерирующей печени по сравнению с нормой имеет тенденцию к снижению у молодых животных. Особенно четко это проявляется в отношении метионина, акцептирование которого значительно снижается в этих условиях. Акцептирование лизина и метионина в регенерирующей печени старых крыс находится на том же уровне, что и у интактных животных.

Список литературы: 1. Гвоздев В. А. Активация аминокислот в ядрах и растворимой фракции цитоплазмы клеток печени крыс. — Биохимия, 1960, 25, № 5, с. 14—16. 2. Недовесова З. П. Порівняльна оцінка деяких методів виділення транспортних РНК з печінки ховрахів. — Укр. біохім. журн., 1969, 41, № 5, с. 590—593. 3. Berg P., Bergman F. H., Ofengang E. I., Dieckmann M. The enzyme of amino acid. 1. The mechanism of leucyl-, valyl-, isoleucyl- and methionyl- ribonucleic acid formation. — I. Biol. Chem., 1961, 236, N 6, p. 1727—1734.

Поступила в редколлегию 08.12.82.

УДК 577.152.6 : 591.169.2

В. М. ФИЛАТОВА

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УРОВНЯ АКТИВНОСТИ АРГИНИНСУКЦИНАТСИНТЕАЗЫ И АРГИНАЗЫ В РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ ПЕЧЕНИ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Одним из подходов к изучению регуляции активности ферментов в онтогенезе является исследование ее в экстремальных условиях, вызывающих усиленную потребность в функциониро-

вании данных ферментов. Для ферментов синтеза мочевины такими условиями может быть регенерация печени после частичной гепатэктомии, поскольку удаление 2/3 массы приводит к значительному повышению функциональной нагрузки на оставшуюся часть органа в отношении детоксикации образующегося в организме аммиака. Соответственно с таким воздействием возникает необходимость усилить интенсивность синтеза мочевины в оставшейся доле печени или же компенсировать недостаточность данной ее функции, возникшую в этих условиях иным путем. В связи с этим целесообразно было сопоставить активность аргининсукцинатсинтетазы (АСС) и аргиназы через 96 ч после частичной гепатэктомии.

В опытах использовали крыс линии Вистар в возрасте 1, 3, 12 и 24 месяцев. Животные находились на рационе вивария. Крыс подвергали частичной гепатэктомии, удаляя у них две доли печени — центральную и левую. Животных убивали декапитацией через 96 ч после операции. Активность АСС определяли по указанной методике [1], активность аргиназы — методом Брауна Г. и Козна П. [2]. Окрашивание мочевины проводили по Хромс В. [3]. Статистическую обработку полученных данных проводили по Стьюденту-Фишеру¹.

Таблица 1

Условия опыта	Возраст, мес			
	1	3	12	24
Активность АСС				
Норма	70,95±5,6	75,08±3,0	96,64±6,4	94,57±4,4
%	100	100	100	100
Регенерация	72,11±7,7	67,83±3,3	71,94±12,5	81,43±3,9
печени				
%	101	90	74	85
Активность аргиназы				
Норма	10269±689	11098±726	10407±362	9829±532
%	100	100	100	100
Регенера-	9556±1687	9630±1137	8610±268	9922±647
ция печени				
%	83	86	82	101

Активность АСС в регенерирующей печени крыс в этот период сравнительно мало меняется. В табл. 1 представлена активность АСС через 96 ч после частичной гепатэктомии у крыс разного возраста (в мкм цитруллина за 1 ч инкубации).

¹ В части данных исследований принимали участие студентка Я. Фалтынова.

Так, у неполовозрелых крыс она остается на исходном уровне, а у животных всех остальных групп наблюдается лишь тенденция к понижению. Представленные данные свидетельствуют о том, что у одномесячных крыс синтез фермента идет с той же скоростью, что и восстановление массы печени, а у крыс старшего возраста он несколько отстает от скорости новообразования ткани печени. Тем не менее следует подчеркнуть сохранение относительно высокого уровня АСС после частичной гепатэктомии, что определяется важной ролью этого фермента в азотистом обмене организма в целом.

Активность аргиназы при этих же условиях опыта полностью сохраняется на исходном уровне у старых крыс и имеет тенденцию к снижению в возрасте 1, 3 и 12 месяцев. В табл. 1 представлены данные об активности аргиназы в печени крыс всех возрастных групп через четверо суток после частичной гепатэктомии (в мкм мочевины за 30 мин инкубации), т. е. наблюдается иная направленность изменений активности данного фермента в тех же условиях по сравнению с АСС.

Описанные изменения активности аргиназы так же, как и АСС, отражают некоторое отставание синтеза фермента от восстановления массы печени в указанные возрастные периоды. Если учесть, что в период регенерации усиливается образование полиаминов — спермина и спермидина, предшественником которых является аргинин (4), то, очевидно, снижение активности аргиназы может способствовать этому процессу. В этом случае аргинин как поступающий, так и образующийся в процессе синтеза мочевины может в большей мере использоваться для синтеза полиаминов.

Таблица 2

Активность	Возраст, мес			
	1	3	12	24
Фермент	57	13	9	22
Аргиназа	7662	3537	3138	4650

Для более четкого представления о темпах новообразования фермента был произведен расчет прироста активности фермента в регенерате на 1 г оставшейся массы печени. Результаты расчета, приведенные в табл. 2, показывают постепенное снижение прироста соответственно с увеличением возраста, за исключением старых крыс. У них прирост активности в этот период остается значительно большим, чем у половозрелых животных более молодого возраста. Аналогичная картина наблюдается и для аргиназы. Как видно из табл. 2, на которой представлен прирост активности аргиназы на 1 г остатка в сутки (мкм мочевины за 30 мин инкубации), наиболее высокий уро-

вень активности у неполовозрелых крыс. За тем он снижается более чем в 2 раза у трехмесячных животных, остается на том же уровне у годовалых и несколько возрастает у двухгодовалых животных.

Поскольку величина прироста ферментативной активности складывается из двух составляющих — прироста количества самого фермента в клетке и прироста массы печени за счет увеличения числа клеток, то необходимо сопоставить приведенные выше данные с изменениями этого показателя. В табл. 3 при-

Таблица 3

Условия опыта	Возраст, мес			
	1	3	12	24
Регенерация печени	0,77	0,24	0,26	0,33

ведены данные прироста массы печени в граммах на 1 г остатка в сутки. Как видно, на первом месте по темпу увеличения массы находятся неполовозрелые крысы, затем следуют остальные, причем у двухгодовалых он оказывается несколько большим, чем у трехмесячных животных.

Подводя итог этим исследованиям, можно заключить, что в условиях ослабления мочевинообразующей функции печени после удаления ее части в этом органе происходят компенсаторные процессы, направленные на сохранение данной функции в необходимых пределах. В таких условиях не обнаруживается какого-нибудь ослабления возможности старого организма регулировать уровень этих ферментов в печени.

Сопоставление активности обоих ферментов показывает, что отношение их величин в разном возрасте (табл. 4), наблюдае-

Таблица 4

Отношение активности АСС/аргиназа	Возраст, мес			
	1	3	12	24
Норма	145	148	108	104
Регенерация печени	133	142	120	122

мых в интактной печени, в основном свойственны и регенерату, т. е. у молодых животных оно выше, чем во второй половине онтогенеза. Отсюда следует, что при восстановлении массы печени сохраняются существовавшие в ней ранее пропорции между уровнями активности данных ферментов.

Список литературы: 1. Филатова В. М., Шевкина Т. В. Активность аргинин-сукцинатсинтетазы в печени крыс разного возраста. — В кн.: Физиологические и молекулярные аспекты онтогенеза. К.: Наук. думка, 1977, с. 239—242. 2. Brown G. W., Cohen P. P. Comparative biochemistry of urea synthesis. I. Methods for the quantitative assay of urea cycle enzymes in liver—J. Biol. Chem., 1959, 234, p. 1769. 3. Chromy V., Medek J., Partl V. Cs. autor-ske osvědčení 157989. 4. Raina A., Janne J., Hannonen P. et al. Synthesis and accumulation of polyamines in regenerating rat liver. — Am. N. I. Acad. Sci., 1970, 171, N 3, p. 697—708.

Поступила в редколлегию 22.11.82.

ГЕНЕТИКА И ЦИТОЛОГИЯ

УДК 576.315.4 : 537.363

Ю. Г. ШКОРБАТОВ, В. Г. ШАХБАЗОВ, д-р биол. наук

О СВЯЗИ МЕЖДУ ЭЛЕКТРИЧЕСКИМ ЗАРЯДОМ ХРОМАТИНА И КЛЕТОЧНЫХ ЯДЕР, ОБЪЕМОМ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ ЯДЕР

Объем клеточных ядер изменяется в зависимости от изменений общей транскрипционной активности ядер и состояния хроматина: повышение транскрипционной активности сопровождается повышением объема ядер, снижению транскрипции сопутствует снижение объема ядер [1, 2]. Электрический заряд клеточных ядер и хроматиновых структур также является важной характеристикой их функционального состояния [3]. Представляет интерес сопоставить величину электрического заряда хроматина и ядер с объемом ядер и их функциональной активностью.

В экспериментах использовали 7-дневные проростки гороха (*Pisum sativum*) сорта Рамонский-77 и конских бобов (*Vicia faba*), 3-месячных крыс гибрида Вистар×Август и 3-месячных кур породы Леггорн.

Ядра клеток растений исследовали с помощью метода внутриклеточного микроэлектрофореза [3]. Участок эпидермиса эпикотили проростка помещали в камеру для микроэлектрофореза и изучали при напряженности поля в камере 25 В/см и силе тока 0,5 мА, при увеличении 600.

Ядра из клеток печени исследовали с помощью метода [4] с модификациями, ядра из эритроцитов кур — с помощью модифицированного метода [5]. Выделенные ядра исследовали методом микроэлектрофореза в плоской закрытой камере в следующей среде; 5,4%-ный раствор глюкозы на 1/15 М фосфатном буфере, рН-7,38, удельная электропроводность $\kappa =$

$=0,602 \text{ Ом}^{-1} \text{ м}^{-1}$, вязкость $\eta=1,64 \text{ мПа} \cdot \text{с}$. Электрофоретическую подвижность рассчитывали по формуле

$$U = \frac{V}{E}, \quad (1)$$

где V — скорость движения ядра; E — напряженность поля в камере. Электрический заряд определяли с помощью формулы (2):

$$Q = S\eta\kappa U. \quad (2)$$

Здесь S — площадь поверхности ядра [6].

Кариометрические измерения проводили с помощью винтового окуляр-микрометра МОВ-1.

Таблица 1

Объект	Ядра с подвижным в электрическом поле хроматином		Ядра с хроматином, не смещающимся в электрическое поле	
	Количество ядер	Средний объем, мкм^3	Количество ядер	Средний объем, мкм^3
Горох	67	3473 ± 258	78	1274 ± 140
Конские бобы	100	2554 ± 120	101	1336 ± 60

Результаты и обсуждение. В табл. 1 приведены данные о среднем объеме ядер клеток гороха и конских бобов, содержащих смещающийся к аноду либо не смещающийся в электрическом поле хроматин. Как видно из этих данных, ядра, имеющие подвижный в электрическом поле хроматин, имеют (в среднем) больший объем, чем ядра с неподвижным хроматином.

В ядрах клеток конских бобов исследовали, кроме объема ядер, количество и объем ядрышек. Среди ядер с неподвижным в электрическом поле хроматином (101 ядро) ядрышко обнаружено в 26 ядрах, средний объем его составлял $10,4 \pm 1,6 \text{ мкм}^3$. Из 100 ядер с подвижным в поле хроматином ядрышко обнаружено в 82 ядрах, средний объем ядрышка составлял $16,1 \pm 1,3 \text{ мкм}^3$. Достоверность различий между средними объемами ядрышек $p=0,986$. Увеличение объема ядрышек является признаком активации синтеза РНК в ядрах [7], что позволяет сделать вывод о большей активности синтеза РНК в ядрах с подвижным в электрическом поле хроматином.

Связь между зарядом изолированных ядер и их объемом и функциональной активностью можно проследить на примере ядер из регенерирующей печени крыс. В табл. 2 приведены данные об изменении электрофоретической подвижности (ЭФП), объема и заряда ядер в различные сроки после частичной гепатэктомии. Как известно, в период 6—24 ч после опе-

Таблица 2

Срок после операции, ч	ЭФП ядер, мкм·см В·с	Количество ядер	Средний объем ядра, мкм ³	Количество ядер	Средний заряд ядра, пКл
Контроль	0,84±0,01	150	421±8	50	2,00±0,04
12	0,95±0,01	150	421±16	50	2,26±0,07
24	0,99±0,01	150	508±9	50	2,67±0,04

рации значительно возрастает транскрипционная активность ядер [1]. Из приведенных данных видно, что активация ядер сопровождается увеличением ЭФП и заряда ядер, через 24 ч после операции эти изменения дополняются увеличением объема ядер.

Зависимость между функциональной активностью клеточных ядер, их зарядом и объемом исследовали также на примере ядер из клеток печени и эритроцитов кур. Ядра клеток печени метаболически активны, тогда как в ядрах эритроцитов инактивируются процессы транскрипции, снижается содержание РНК и белка, наблюдается конденсация хроматина и уменьшение объема ядер при сохранении диплоидного содержания ДНК [2].

Согласно полученным данным, ЭФП ядер клеток печени кур составляет $0,99 \pm 0,01 \frac{\text{мкм} \cdot \text{см}}{\text{В} \cdot \text{с}}$, ЭФП ядер эритроцитов немного выше — $1,02 \pm 0,1 \frac{\text{мкм} \cdot \text{см}}{\text{В} \cdot \text{с}}$ (однако это различие статистически не достоверно). Объем ядер клеток печени составляет $116,8 \pm 3,6 \text{ мкм}^3$, объем ядер эритроцитов значительно ниже — $93,2 \pm 2,7 \text{ мкм}^3$. Заряд ядер клеток печени выше, чем заряд ядер эритроцитов, — $1,01 \pm 0,03 \text{ пКл}$ и $0,88 \pm 0,02 \text{ пКл}$ соответственно.

Полученные результаты могут быть интерпретированы следующим образом. Увеличение отрицательного заряда хроматина в ядрах—важная стадия его активации. Повышение заряда хроматина проявляется при внутриклеточном микроэлектрофорезе ядер клеток растений в способности хроматиновых структур и ядрышка смещаться в электрическом поле внутри ядра. При микроэлектрофорезе ядер из клеток животных активация ядер сопровождается повышением электрического заряда всего ядра. Увеличение отрицательного заряда хроматина приводит к деконденсации хроматина, что, в свою очередь, приводит к увеличению объема клеточного ядра.

Список литературы: 1. Bucher N. L. R. Regeneration of mammalian liver.— *Int. Rev. Cytol.*, 1963, 15, p. 245—300. 2. Ringertz N. R., Bolund L. The nucleus during avian erytroid differentiation. — In: *The Cell Nucleus*, 1974,

3, p. 417—448. 3. Шахбазов В. Г., Лобынцева Г. С. Биоэлектрические свойства ядра и ядрышка в клетках растений в связи с генотипом, физиологическим состоянием и действием высокой температуры. — Биофизика, 1971, 16, № 3, с. 457—461. 4. Allfrey V. G., Littau V. C., Mirsky A. E. Methods for the purification of thymus nuclei and their application to studies of nuclear protein synthesis. — I. Cell Biol, 1964, 21, N 1, p. 213—232. 5. Seligy V., Miagi M. Studies of template activity of chromatin isolated from metabolically active and inactivated cells. — Exp. Cell Res., 1969, 58, N 1, p. 27—34. 6. Разделение клеточных суспензий/А. И. Мирошников, В. М. Фомченков, И. С. Габуев, В. А. Чеканов.—М.: Наука, 1977.—168 с. 7. Busch H., Smetana K. The Nucleolus. N. Y., Acad. Pr., 1970. — 218 p.

Поступила в редколлегию 22.11.82.

УДК 575.12

А. В. НЕКРАСОВА, канд. биол. наук

ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА КРОССИНГОВЕР У ИНБРЕДНОЙ И АУТБРЕДНОЙ ЛИНИИ DROSOPHILA MELANOGASTER

Способность к перераспределению наследственной информации родителей в потомстве является фундаментальным свойством всех живых организмов, источником комбинационной изменчивости. Широко исследованы изменения генетической рекомбинации при воздействии физических и химических агентов. В меньшей степени изучено влияние физиологического состояния организма на процессы рекомбинации. Длительный инбридинг существенно изменяет физиолого-биохимические процессы в организме, влияет на активность генетического аппарата. Сравнительное исследование генетического аппарата инбредных и гибридных организмов позволило высказать предположение о различном характере взаимодействия гомологичных хромосом у инбредных и гибридных форм [1]. Характер рекомбинации при длительном инбридировании может свидетельствовать о мейотическом взаимодействии гомологичных хромосом.

Мы исследовали влияние инбридинга на частоту спонтанного и индуцированного температурой кроссинговера. Изменение частоты кроссинговера изучали в X-хромосоме в районах, маркированных генами *y* (0,0), *ct* (20,0), *v* (33,0) и в хромосоме 2 на участке *b—cn* (околоцентромерный) и *cn—vg* (2R) у инбредной и аутбредной линии. Инбредная линия была получена скрещиванием самок линии дикого типа и самцами тестерных линий *yctv*, *bcnvg*. Полученных гетерозиготных самок подвергали анализирующему скрещиванию. В потомстве от этого скрещивания отбирали сибсов: гетерозиготную самку и гомозиготного по

данным маркерам самца и скрещивали их между собой. Такой инбридинг проводили в течение семи поколений. В потомстве этих скрещиваний анализировали частоту кроссинговера. Аутбредная линия была получена при скрещивании самок, гетерозиготных — по этим маркерам, с самцами тестерной линии, не являющимися сибсами. Виргинных самок $ustv^{+/+++}$ и $bcnvg^{+/+++}$ в возрасте 24 ч подвергали воздействию температуры 37° в течение 30 мин. После этого опытных и контрольных самок скрещивали с самцами маркированной линии. Родительскую пару мух регулярно пересаживали на свежую среду. Анализировали потомство из яиц, отложенных на 6-й—7-й день после обработки, что соответствует чувствительной стадии оогенеза. Результаты экспериментов представлены в таблице.

Линии	Участки хромосом				
	$y - ct$	$ct - v$	$y - v$	$b - cn$	$cn - vg$
Аутбредная					
Контроль	13,67	10,39	23,90	3,38	8,16
Опыт	16,78	11,36*	27,92	5,16	9,88
Инбредная					
Контроль	17,38	9,27	26,65	4,38	9,18
Опыт	16,58*	11,64	27,74	5,27*	8,66*

* Различия статистически недостоверны.

Повышение процента рекомбинантных особей под действием температуры — широко известный факт. Увеличение частоты кроссинговера было отмечено нами в аутбредной линии на всех изученных участках, тогда как в инбредной линии значительный рост процента кроссинговера под воздействием температуры установлен только для района $ct-v$. Ранее было показано, что длительный инбридинг может влиять на частоту спонтанной рекомбинации. Характер изменения зависит от хромосомы, а также — от изучаемого района [2]. Установленные различия величины индуцированного температурой кроссинговера в инбредной и аутбредной линиях подтверждают вывод о том, что изменение физиологических и генетических характеристик организма при длительном инбридинге влияет на характер рекомбинации генетических признаков.

Список литературы: 1. Шахбазов В. Г. О физико-химических механизмах инбредной депрессии и гетерозиса. — Генетика, 1974, № 4, с. 153—164. 2. Некрасова А. В. Влияние инбридинга и аутбридинга на процессы генетической рекомбинации. — В кн.: IV съезд генетиков и селекционеров Украины. Тез. докл. Наук. думка, 1981, ч. 1, с. 111.

Поступила в редколлегию 08.12.82.