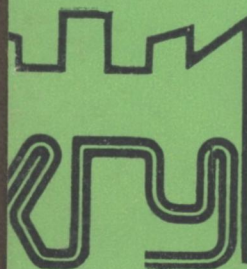


К-14038

ПЗ10521



ХАРЬКОВСКОГО
УНИВЕРСИТЕТА

К-14038 /
ПЗ10521 / 288

14038
0521

288'86

НОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
ПО ОНТОГЕНЕЗУ, ГЕНЕТИКЕ
И ЭКОЛОГИИ ЖИВОТНЫХ

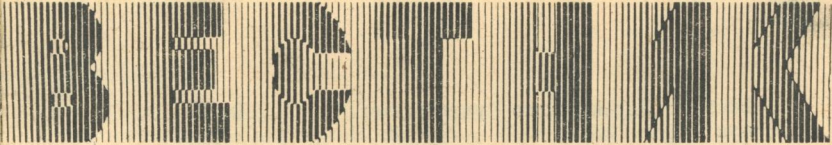
«ВИЩА ШКОЛА»

1 р. 10 к.

Вестн. Харьк. ун-та, 1986, № 288, 1—112.



МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО
СПЕЦИАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ УССР



ХАРЬКОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

№ 288

НОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
ПО ОНТОГЕНЕЗУ, ГЕНЕТИКЕ
И ЭКОЛОГИИ ЖИВОТНЫХ

Основан в 1971 г.



ХАРЬКОВ
ИЗДАТЕЛЬСТВО ПРИ ХАРЬКОВСКОМ
ГОСУДАРСТВЕННОМ УНИВЕРСИТЕТЕ
ИЗДАТЕЛЬСКОГО ОБЪЕДИНЕНИЯ
«ВИЩА ШКОЛА»
1986

Вестник Харьковского университета. — Х.: Вища шк. Изд-во при Харьк. ун-те, 1986. — № 288. Новые исследования по онтогенезу, генетике и экологии животных. 112 с.

В вестнике представлены результаты исследований кафедр биологического факультета, отделов НИИ биологии, Музея природы и биологической станции Харьковского государственного университета по физиологии и биохимии животных и человека, генетике, цитологии и зоологии. Рассмотрены проблемы возрастной физиологии, биохимии, биофизики и гетерозиса, вопросы экологии, этологии и влияния антропогенного фактора на фауну. Публикуются сведения об экспозициях и атеистическом воспитании на базе Музея природы. Подведены итоги научных исследований за 70 лет на биологической станции ХГУ.

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

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

Печатается по решению Ученого совета биологического факультета Харьковского университета (протокол № 11 от 29 декабря 1984 г.).

Адрес редакционной коллегии: 310077, Харьков-77, пл. Дзержинского, 4, Харьковский государственный университет, биологический факультет, тел. 40-18-50, 40-17-41, 40-18-71, 40-14-55.

Редакция литературы по естественным наукам и филологии

Зав. редакцией *Е. П. Иващенко*

В 2005000000-045
M226(04)-86

© Харьковский государственный университет,
1986

Центральная Научная Библиотека ХГУ

УДК 591.1 : 577.612

В. Н. НИКИТИН, акад. АН УССР, *Н. А. БАБЕНКО*,
Л. Я. ПОПОВА, канд. биол. наук, *А. А. РЕЗНИЧЕНКО*,
канд. фарм. наук, *Г. Г. РОСИК*

ВЛИЯНИЕ ТИРОКСИНА НА ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ЛИПИДОВ ХРОМАТИНА КЛЕТОК ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Установлено, что изменение функциональной активности щитовидной железы сказывается на обмене липидов [1—3]. Особенно существенные сдвиги наблюдаются в жирнокислотном составе липидов различных субклеточных структур. В процессе старения организма животных и человека происходят определенные изменения функций щитовидной железы. Фосфолипидный состав и ряд обменных взаимоотношений фосфолипидов различных субклеточных мембран и внутриядерных структур [2, 3] также значительно изменяются в процессе онтогенеза. Выявлена возрастная специфичность в действии тиреоидных гормонов на липидный состав хроматина клеток печени белых крыс [2]. Тем не менее, молекулярный механизм действия тироксина на метаболизм липидов и их внутриклеточные превращения изучен недостаточно. Рассмотрим влияние тироксина на жирнокислотный состав липидов хроматина клеток печени белых крыс разных возрастных групп, поскольку показано, что даже небольшие изменения жирнокислотного состава липидов субклеточных структур существенно влияют на их функции.

Подопытные животные — нормальные белые крысы, самцы, линии Вистар 1 и 24 мес, а также крысы тех же возрастов после трехкратного подкожного введения им в течение 1 нед α -тироксина из расчета 120 мкг на 100 г живой массы. Хроматиновые фракции, обогащенные транскрипционно активным или низкоактивным хроматином, получали эндонуклеазным методом. Жирнокислотный состав липидов хроматина определяли на хроматографе Pye-104.

Нашими исследованиями установлено (таблица), что в процессе старения, как и отмечалось ранее [3], жирнокислотный состав липидов, хроматина существенно изменяется, в частности в хроматине клеток печени старых крыс отсутствуют жирные кислоты с длиной углеводородной цепи 20. Степень ненасыщенности липидов также снижается в процессе онтогенеза.

Жирные кислоты (в % от суммы жирных кислот)	Хроматин молодых животных				Хроматин старых животных			
	Активный		Низкоактивный		Активный		Низкоактивный	
	Норма	Тиоксин	Норма	Тиоксин	Норма	Тиоксин	Норма	Тиоксин
14:0	1,67	2,58	0,74	2,30	2,86	1,99	2,88	2,02
15:0	0,55	1,34	0,86	1,24	1,79	0,74	1,76	1,88
16:0	27,10	24,18	22,16	15,17	27,11	18,46	22,58	17,89
16:1	6,45	7,06	5,85	5,71	8,88	5,71	9,49	8,21
17:0	1,35	1,18	3,72	1,34	2,34	2,16	2,23	2,34
17:1	1,28	2,06	3,31	1,22	3,09	1,17	3,21	2,52
18:0	11,33	16,66	22,44	23,15	17,24	14,45	18,36	16,23
18:1	17,45	20,60	18,38	18,66	24,01	18,78	23,93	19,05
18:2	17,94	13,54	6,01	16,26	12,68	13,39	15,58	15,55
20:0	2,47	2,12	—	3,35	—	3,19	—	2,00
20:1	2,95	2,03	—	2,69	—	2,09	—	2,09
20:3	2,08	1,93	—	2,92	—	3,69	—	3,01
20:4	10,12	5,13	14,58	5,70	—	17,68	—	4,74
Насыщенные	44,47	48,06	49,87	46,55	51,34	40,99	47,81	42,36
Моноеновые	29,13	31,75	27,54	35,98	20,87	20,87	36,63	31,87
Полиеновые	30,14	20,60	20,59	24,88	12,68	24,76	15,58	23,30

У молодых животных жирнокислотный состав липидов транскрипционно активной фракции хроматина отличается от определенного для низкоактивного хроматина. При введении тироксина молодым животным снижается не только содержание липидов, свободных жирных кислот [2], но и относительное содержание ненасыщенных жирных кислот во фракции активного хроматина печени, одновременно повышается относительное содержание ненасыщенных жирных кислот во фракции низкоактивного хроматина, очевидно, вследствие стимулирующего эффекта тиреоидных гормонов на липидный обмен. У старых животных под влиянием тироксина повышается содержание ряда фосфолипидов [2] и ненасыщенных жирных кислот в активной фракции хроматина, а также полиеновых жирных кислот в низкоактивной фракции хроматина печени. Этот процесс — один из аргументов, свидетельствующих о повышении синтетических возможностей хроматина, которые у контрольных животных с возрастом репрессируются. Согласно полученным данным процесс гормональной генетической индукции под влиянием тироксина характеризуется возрастной специфичностью, что не может не сказаться на метаболических процессах, регулируемых тироксином.

Список литературы: 1. Рачев Р. Р., Ещенко И. Д. Тиреоидные гормоны и субклеточные структуры. — М.: Медицина, 1975. — 295 с. 2. Попова Л. Я., Бабенко Н. А., Вольфовская Н. В. Возрастные особенности действия тироксина на липидный спектр хроматина печени крыс. — В кн.: Физиология, биохимия и биофизика возрастного развития. К.: Наук. думка, 1980, с. 39—44. 3. Возрастные особенности жирнокислотного состава липидов хроматина печени белых крыс в норме и при индукции тиреоидными гормонами/В. Н. Никитин, Н. А. Бабенко, Т. Г. Боцман и др. — В кн.: XIV съезд Всесоюз. физиол. о-ва им. И. П. Павлова: Тез. науч. сообщ. Баку, 1983, 2, с. 343.

Поступила в редколлегию 22.12.84.

УДК 577.24+577

А. И. КЛИМЕНКО, д-р биол. наук, Б. В. КУЛАЧЕНКО

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ АЦЕТИЛИРОВАНИЯ БЕЛКОВ НМГ В ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС

Среди большого числа негистоновых белков можно выделить группу с высокой подвижностью при электрофорезе в полиакриламидном геле, так называемые «белки НМГ» [1]. Установлено, что они играют важную роль в структурной организации хроматина, в регуляции его функциональной активности. В связи с этим представляет интерес изучить свойства белков НМГ на разных этапах постнатального развития животных. Отметим, что в возрастном аспекте эти белки практически не изучены.

Нами исследовано ацетилирование белков НМГ в печени животных разного возраста. Для определения динамики ацети-

Время экспозиции меченого ацетата, мин	Электрофоретические зоны белков							
	1, 2	3	4	5	6	7	8	9
1 мес								
15	3797	7329	1763	2716	3588	8673	4926	2171
30	21097	4041	3179	905	1832	103274	5911	11163
60	3595	4736	1148	386	2203	354	2901	2511
90	10316	417967	6394	2235	8596	12185	7380	8217
120	7384	8288	1705	5416	2672	11150	6798	9457
3 мес								
15	3639	2272	519	821	175540	523893	108127	81057
30	18639	55012	9470	9376	12949	32549	22158	21099
60	22157	16400	4226	9802	20984	40833	24401	23341
90	30501	57955	11114	10280	24265	59556	42025	42547
120	35490	115133	10146	3359	16140	21778	18101	10056
12 мес								
15	3690	4574	4181	1642	3140	7886	9341	11498
30	1294	2177	544	410	1950	5118	4091	2159
60	5295	10907	2316	1028	6580	13783	16162	9419
90	3300	2415	687	555	1911	4739	5065	2893
120	4432	9906	1665	775	3778	8287	12275	6142
24 мес								
15	3296	2495	504	548	1065	5410	2204	3477
30	2277	2954	579	561	998	7173	3106	3367
60	2038	2234	480	380	1420	5635	2362	2248
90	2591	3161	450	280	1033	3867	2511	1725
120	3105	3041	446	458	956	4987	2943	1683

Примечание. Номера электрофоретических зон соответствуют белкам: 1, 2, 3 — LMG; 4 — HMG 1+2; 5 — гистоны H1; 6 — HMG 14; 7 — HMG 14'; 8 — HMG 17; 9 — HMG 17'.

лирования белков НМГ белым крысам линии Вистар в возрасте 1, 3, 12 и 24 мес внутрибрюшинно вводили радиоактивный ацетат натрия из расчета 2,8 МБК на 100 г массы тела и через 15, 30, 60, 90 и 120 мин из печени животных получали эти белки [2]. Электрофорез проводили в 15 и 20%-ной ПААГ [3]. Радиоактивность элюированных из геля белков измеряли в диоксанафталиновом сцинтилляторе. В таблице наряду с данными для белков НМГ 1, 2, 14, 17 приведены данные об ацетилировании богатых лизином гистонов Н1, фракций негистоновых белков со сравнительно низкой подвижностью в ПААГ (белки LMG) и фракции белков НМГ, идентифицированных нами как субфракции белков НМГ 14' и НМГ 17'; эти белки экстрагируются вместе с основными фракциями белков НМГ.

Как видно, динамика ацетилирования изученных нами белков имеет выраженную возрастную специфику. Для белков НМГ 1+2 (электрофоретическая зона 4), НМГ 14 (зона 6), НМГ 17 и 17' (зоны 8, 9) наиболее высокий уровень ацетилирования отмечен у животных в 3 мес, у старых (24 мес) он значительно ниже. На 1 и 12 мес в динамике ацетилирования рассматриваемых белков сильно выражен волнообразный характер, по удельной радиоактивности они занимают промежуточное положение между значениями этого показателя у белков животных 3 и 24 мес. Для белков НМГ 14' (зона 7), гистонов Н1 (зона 5) и белков LMG (зоны 1, 2, 3) зависимость ацетилирования от возраста прослеживается на всем протяжении их изучения, за исключением отдельных временных интервалов, после введения меченого ацетата.

Динамика ацетилирования белков НМГ в процессе постнатального развития животных может существенно сказаться на структурно-функциональных свойствах хроматина печени у животных разного возраста.

Список литературы: 1. *Johns E. W.* The HMG Chromosomal Proteins. — Acad. Press, 1982, 250 p. 2. *Sanders C. A.* Method for the fractionation of the high mobility group non histone chromosomal proteins. — Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1977, 78, p. 1034—1042. 3. *Panym S., Chalkley R.* High resolution acrylamide gel electrophoresis. — Arch. Biochem. and Biophys., 1969, 130, p. 337—340.

Поступила в редколлегию 25.12.84.

[Л. Н. БЛОК], канд. биол. наук, А. А. КРАСНИЦКАЯ, канд. биол. наук, В. Н. НИКИТИН, акад. АН УССР, д-р биол. наук

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ФРАКЦИЙ ЦИТОЗОЛА ПЕЧЕНИ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА НА СИНТЕЗ БЕЛКА IN VITRO

Значительное снижение белкового синтеза в печеночной белоксинтезирующей системе в онтогенезе в большой мере определяется свойствами цитозола. Нами исследовано влияние цитозольных фракций на уровень белкового синтеза постмитохондриальным супернатантом печени крыс разного возраста. Подопытные животные — крысы линии Вистар в возрасте 1 и 24 мес. Фракции выделяли из цитозола, полученного печеночного гомогената в центрифуге VAC 60z при ускорении 150 000g в течение 1,5 ч. При помощи гель-фильтрации цитозола на колонке с Сефадексом G-100 выделяли хроматографическую фракцию «5». По положению на кривой элюции она соответствует описанной в литературе фракции, влияющей на скорость синтеза и процессинга РНК в ядрах мозга белых крыс [1]. Две фракции, обогащенные элонгационными факторами, получали путем дробного высаливания $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ следующим образом. К цитозолу добавляли насыщенный раствор $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (на буфере — 50 ммоль трис HCl (pH 7,6), 14 ммоль β -меркаптоэтанола, 0,2 ммоль/см ЭДТА) до 70 %-ного насыщения и центрифугировали при частоте вращения 16 000 об/мин в течение 20 мин [2], образовавшийся осадок последовательно экстрагировали растворами $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 44 и 25 %-ного насыщения. Постмитохондриальный супернатант получали центрифугированием печеночных гомогенатов при частоте вращения 16 000 об/мин в течение 20 мин и диализовали в течение ночи при температуре 5 °C против буфера следующего состава: трис HCl (pH 7,5) — 0,03 М, KCl — 0,025 М, MgCl_2 — 0,005 М.

Инкубационная среда, приготовленная как описано в работе [3], содержала в 0,5 мл 3 мг белка, преинкубированного в течение 4 мин постмитохондриального супернатанта печени крыс, 0,6 мг белка цитозольных фракций, высаливаемых $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ или 0,08 мг белка фракции «5». Количество белка определяли спектрофотометрически. Пробы инкубировали в течение 30 мин при 37 °C. Уровень белкового синтеза оценивали по включению в кислотонерастворимый осадок ^{14}C -глутаминовой кислоты (7400 МБк/ммоль) производства ЧССР (табл. 1). Радиоактивность определяли на бумажных фильтрах после стандартных промывок, в жидком сцинтилляторе толуол-РРО-РОРОР на сцинтилляционном счетчике СБС-1. За отдельный результат принимали среднее для двух параллельно инкубированных проб.

Результат с учетом неспецифической адсорбции метки пересчитывали на 1 мг белка постмитохондриального супернатанта.

Установлено, что введение цитозольной фракции «5», выделенной на Сефадексе G-100, сказывается на уровне белкового синтеза постмитохондриальным супернатантом печени 1-месячных крыс (табл. 1). Влияние этой фракции на уровень бел-

Таблица 1

Возраст, мес	Без добавок		Добавлена цитозольная фракция „5“ печени белка крыс возраста, мес					
	$M \pm m$	n	$M \pm m$	n	P	$M \pm m$	n	P
1	1134±159	11	588±96	7	<0,05	432±117	7	<0,05
24	504±156	10	564±204	5	>0,05	516±133	8	>0,05

кового синтеза не зависело от ее возраста. Добавление этой фракции к бесклеточной системе из печени старых (24 мес) животных не влияло на уровень включения ^{14}C -глутаминовой кислоты. Такое действие можно объяснить тем, что какой-то компонент фракции находится в избытке в цитозоле молодых и в оптимальном количестве в цитозоле старых крыс. Компонент этот общий для фракций молодых и старых животных. Ранее нами показано, что исследуемая фракция «5» гетерогенна по составу и меняется с возрастом [4]. Разница в белковом составе этой фракции у молодых и старых животных заключается в различной относительной интенсивности полос, соответствующих 37—39 % и 65—85 % (11 % ПААГ). На денситограммах электрофореграмм было вычислено отношение высот пиков, соответствующих этим полосам, и сделан пересчет на среднее значение. Отношение снижалось с возрастом, причем снижение отношения определялось в основном увеличением знаменателя, т. е. не снижением интенсивности полос 37—39 %, а увеличением ее в области полос 65—85 %. Можно предположить, что влияние фракции «5» на уровень белкового синтеза определяется наличием белка 37—39 %. Кроме описанных, наиболее ярких, полос на электрофореграмме обнаруживались другие, тоже достаточно четкие, в том числе узкая полоса в области, соответствующей 40—50 %-ному насыщению.

При высаливании цитозола сернокислым аммонием при 25—44 %-ном насыщении получают относительно гомогенную фракцию, основному компоненту которой соответствует широкая полоса в области 40—50 %. Возрастных различий в ее составе мы не обнаружили. Влияние фракции, высаливаемой при 25—44 %-ном насыщении $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, на белковый синтез в бесклеточной системе, судя по включению ^{14}C -глутаминовой кислоты (имп/мин/1 мг белка), идентично влиянию хроматографической

Таблица 2

Возраст, мес	Без добавок		Добавлена фракция, высаливаемая из цитозо- ла печени крыс					
	$M + m$	n	$M \pm n$	n	P	$M \pm m$	n	P
при 25—44 %-ном насыщении $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$								
1	1134±159	11	936±138	11	0,05	750±168	8	0,05
24	504±156	10	690±180	8	0,025	522±150	10	0,05
при 44—70 %-ном насыщении $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$								
1	1134±159	11	2214±318	11	0,005	1266±138	8	0,05
24	504±156	10	1650±354	8	0,05	796±162	10	0,05

фракции «5» (табл. 2). Она независимо от своего «возраста» подавляет синтез в системе из печени 1-месячных крыс и не влияет на систему из печени старых животных. Высаливание при 25—44 %-ной $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — начальный этап выделения элонгационного фактора EF1 [2]. Можно предположить, что этот фактор и есть основной компонент нашей фракции. Согласно работе [5] возрастное снижение белкового синтеза *in vitro* объясняется снижением уровня EF1. Данные для системы из печени молодых крыс, определенные нами, хорошо согласуются с предположением, что в цитозоле молодых животных имеется избыток фактора EF1, равновесие EF 1/EF 2 сдвинуто в сторону EF 1 и его добавление ухудшает условия синтеза. С этим предположением хорошо согласуются данные о включении ^{14}C -глутаминовой кислоты (имп/мин/1 мг белка), которые получены с фракцией, высаливаемой при 44—70 %-ном насыщении $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (табл. 2). Высаливание при такой концентрации — начальный этап выделения элонгационного фактора EF 2 [2].

Добавление фактора EF 2 к системе, содержащей избыток EF 1, должно стимулировать синтез, что и наблюдается при добавлении фракции, высаливаемой при 44—70 %-ном насыщении $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ к системе из печени молодых животных. Исходный синтез в молодой системе вдвое выше чем в старой. В соответствии с работой [5] в старой системе добавление фракции, высаливаемой при 25—44 %-ном насыщении, должно стимулировать синтез, а в случае 44—70 %-ного насыщения подавлять его. В наших исследованиях эта закономерность не выявлена. Ни фракция 25—44 %-ного насыщения $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, ни хроматографическая не сказываются на уровне синтеза в старой системе, а фракция 44—70 %-ного насыщения $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ стимулирует синтез как в молодой, так и в старой системе. Эти факты несовместимы с предположением об избыточном содержании в старом цитозоле какого-либо из компонентов фракции. Фракция 44—70 %-ного насыщения $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ чрезвычайно гетерогенна. В числе других полос в ней содержится полоса, соответ-

ствующая 37—39 %-ному насыщению, общая с хроматографической фракцией, и полоса в области 40—50 %-ного. Представляет интерес дальнейшее ее фракционирование, а также исследование действия активных фракций в условиях, резко меняющих уровень и характер белкового синтеза.

Список литературы: 1. Weck P. K., Johnson T. C. Nuclear-cytosol interactions that facilitate release of RNA from mouse brain nuclei. — *J. Neurochem.*, 1978, 30, № 5, p. 1057—1065. 2. Schreier M. N., Bernhard E., Stachelin T. Initiation of mammalian protein synthesis. I. Purification and characterization of seven initiation factors. — *J. Mol. Biol.*, 1977, 116, № 3, p. 727—753. 3. Ganosa M. C., Williams C. A. In vitro synthesis of different categories of specific protein by membrane-bound and free ribosomes. — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1969, 63, № 4, p. 1370—1376. 4. Блок Л. Н., Красницкая А. А., Мамон Л. В. Вікові зміни властивостей деяких цитозольних компонентів безклітинної системи з печінки білих щурів. — Тез. доп. ідей XI укр. фізіол. товариства, 1982, 41, с. 21. 5. Moldave K., Harris J., Sabo W., Sadnik J. Protein synthesis and ageing: Studies with cell-free mammalian systems. — *Federation Proc.*, 1979, 38, № 6, p. 1979—1983.

Поступила в редколлегию 19.12.84.

УДК 577.24+577.112'315.42

А. Б. МАЛЫШЕВ, канд. биол. наук, Н. П. СОРОКИН,
А. И. КЛИМЕНКО, д-р. биол. наук

БИОСИНТЕЗ ГИСТОНОВ ФРАКЦИЙ ХРОМАТИНА ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Интерес к изучению хромосомальных белков обусловлен их ролью в регуляции структурно-функциональных свойств хроматина. Ранее нами изучен метаболизм гистонов, выделенных из тотального хроматина печени крыс разного возраста*. Ниже представлены данные о возрастной динамике биосинтеза гистоновых белков, выделенных из фракций диффузного и конденсированного хроматина печени крыс на разных этапах их постнатального развития.

В опытах использовали белых крыс линии Вистар в возрасте 1, 3, 12 и 24 мес. В качестве меченого предшественника применяли ^{14}C -белковый гидролизат хлореллы с удельной активностью 0,9 мС/мл, который вводили внутрибрюшинно из расчета 50 мкк на 100 г массы тела животного за 120 мин до забоя. Разделение хроматина на фракции, экстракция гистонов и их хроматографическое разделение описаны нами ранее [1]. Оптическую плотность элюируемых с колонки фракций определяли на СФ-16, их радиоактивность измеряли сцинтилляционным счетчиком СБС-2. В зависимости от возраста в одном опыте ис-

* Клименко А. И., Малышев А. Б., Никитин В. Н. Возраст и включение меченых предшественников в гистоны хроматина клеток печени белых крыс. — Докл. АН СССР, 1975, 223, № 6, с. 1495—1497.

пользовали от 3 до 7 животных. Для каждой возрастной группы ставили 5—7 опытов, результаты которых обрабатывали методом вариационной статистики.

Данные о включении меченых предшественников — ^{14}C -глутаминовой кислоты (имн/мин/1 мг белка) — в гистоны диффузного и конденсированного хроматина клеток печени свидетельствуют о существовании возрастных особенностей в метаболизме (таблица).

Возраст, мес	Гистоны Н1	Гистоны Н 2А + + Н 2В + Н 4	Гистоны НЗ
Диффузный хроматин			
1	4147 ± 1100	3740 ± 401	4053 ± 290
3	8713 ± 2069 $p < 0,05$	6851 ± 823 $p < 0,05$	6204 ± 660 $p < 0,05$
12	12082 ± 1641 $p < 0,01$	8762 ± 1012 $p < 0,05$	9343 ± 1432 $p < 0,01$
24	11021 ± 933 $p < 0,05$	6115 ± 752 $p > 0,05$	9541 ± 608 $p < 0,01$
Конденсированный хроматин			
1	8426 ± 1117	5891 ± 2060	4621 ± 773
3	9426 ± 2427 $p > 0,05$	4729 ± 429 $p < 0,05$	4086 ± 613 $p > 0,05$
12	6245 ± 363 $p < 0,05$	3435 ± 405 $p < 0,05$	3239 ± 569 $p > 0,05$
24	8581 ± 312 $p > 0,05$	3091 ± 452 $p < 0,01$	3916 ± 587 $p > 0,05$

Среди фракций гистоновых белков наибольший уровень метаболизма выявлен у богатых лизинном гистонов Н1 в обеих фракциях хроматина у животных всех возрастных групп. Отметим, что и в составе тотального хроматина максимальное значение удельной радиоактивности зафиксировано у одной из субфракций истонов Н1а.

Наиболее интенсивный синтез гистонов Н1 в диффузном хроматине отмечен в период между 1 и 3 мес постнатального развития, максимальное развитие зафиксировано у 12-месячных животных, оно сохраняется практически без изменений до старости. В конденсированном хроматине интенсивность синтеза этих белков не претерпевает существенных возрастных изменений. Для коровых гистонов диффузного хроматина характерно несколько увеличенное включение меченых предшественников по сравнению с 1-месячными животными на всех последующих этапах постнатального онтогенеза, в конденсированном хроматине наблюдается обратная тенденция.

Поступила в редколлегию 19.12.84.

**ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ТРАНСПОРТА
БЫСТРОМЕТАЮЩЕЙСЯ РНК ИЗ ИЗОЛИРОВАННЫХ
ЯДЕР КЛЕТОК ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС**

Особое значение посттранскрипционных событий в регуляции спектра мРНК, поступающих в цитоплазму эукариотических клеток, обуславливает необходимость изучения процессинга и ядерно-цитоплазматического транспорта РНК на различных этапах индивидуального развития организма.

В литературе имеются только единичные сведения об особенностях этого процесса в ходе постнатального онтогенеза животных. Установлены изменения в ядерном контроле выхода РНК при переходе клеток из покоящейся фазы к пролиферации, и наоборот, от пролиферативной стадии в неделящееся дифференцированное состояние [1]. Показано снижение выхода поли (А⁺) мРНК из ядер клеток печени взрослых животных по сравнению с неполовозрелыми [2].

Нами исследованы возрастные особенности ядерно-цитоплазматического транспорта быстрометающей РНК на модели бесклеточной системы, содержащей изолированные ядра клеток печени белых крыс.

В опытах использовали белых крыс — самцов линии Вистар в возрасте 1,3 и 24 мес. Животным внутрибрюшинно вводили ¹⁴С оротовую кислоту (30 мкКи/100 г массы тела) за 40 мин до забоя. Изолированные ядра клеток печени получали по методу Рого е. а. [3]. Выход новообразованной РНК изучали в бесклеточной системе с изолированными ядрами, содержащей 2,5 мМ АТФ; 4 мМ креатинфосфат; 1 ед/мл креатинкиназы; 0,25 М сахарозу; 25 мМ КСl; 2,5 мМ MgCl₂; 0,5 мМ CaCl₂; 0,3 мМ MnCl₂; 2,5 мМ дитиотриэтол; 150 мкг/мл низкомолекулярной РНК; 50 мМ трис-НСl, рН 7,6. Инкубацию проводили при 0 и 30 °С в течение 10 мин. Ядра осаждали центрифугированием и определяли кислотонерастворимую метку отдельно в супернатанте и ядрах. Седиментационный анализ кислотонерастворимого меченого материала проводили с помощью центрифугирования в градиенте концентрации сахарозы (15—30 %-ной), содержащей 50 мМ NaCl и 0,25 %-ной додецилсульфата Na.

Используемая нами бесклеточная система разработана для изучения механизмов ядерно-цитоплазматического транспорта мРНК и его регуляции. Показано, что при 40-минутном мечении *in vivo* и продолжительности инкубации изолированных ядер до 30 мин из ядер освобождается преимущественно мРНК [4]. Одним из критериев адекватности модельной системы является

зависимость транспорта от АТФ и температуры инкубации. В наших опытах во все исследованные возрастные периоды транспорт РНК наблюдался только в присутствии АТФ в среде инкубации (таблица). При 0° в системе без АТФ выход РНК не

Возраст, мес	Выход РНК, %		
	30°, система с АТФ	30°, система без АТФ	0°, система без АТФ
1	9,8	4,4	2,0
3	7,7	3,0	1,4
24	5,5	3,0	1,6

превышал 2 % от общей кислотонерастворимой метки ядер. Инкубация ядер при 30° в отсутствие экзогенной АТФ также приводила к значительному снижению выхода РНК. Результаты седиментационного анализа освобождающейся из ядер РНК в градиенте концентрации сахарозы свидетельствуют о ее гетерогенности. Меченый материал представлен во фракциях с коэффициентом седиментации от 4 S до 18 S, что согласуется с данными других авторов [4].

Согласно таблице, транспорт РНК из изолированных ядер гепатоцитов крыс зависит от возраста животных. Максимальный выход РНК отмечены у 1-месячных животных, затем уровень освобождающейся из ядер РНК (в процентах от кислотонерастворимой метки ядер) последовательно снижается.

Анализируя данные зависимости транспорта РНК от энергии [4, 5], можно предположить, что снижение выхода РНК связано с недостаточным количеством АТФ в системе с изолированными ядрами гепатоцитов 3- и 24-месячных крыс. В контрольных экспериментах было показано, что параметры системы, в частности, температура инкубации и концентрация АТФ, не могут быть лимитирующими факторами ни в одном из исследованных возрастных периодов. Следовательно, изменения выхода РНК в разном возрасте, наблюдаемые *in vitro*, не связаны с дефицитом энергообеспеченности процесса. Наши данные согласуются с результатами работы [5], согласно которым энергия активации транспорта РНК постоянна в условиях, существенно изменяющих набор транспортируемых РНК. И, следовательно, система, определяющая избирательность выхода РНК, не зависит от механизмов, обеспечивающих энергетику процесса [5].

Вероятно, снижение выхода РНК в 3-и 24-месячном возрасте обусловлено качественно различными причинами. Первое снижение происходит на фоне высоких (не меньше чем 1 мес) РНК — синтетических способностей ядра [6] и может быть связано с повышением к 3 мес роли ядерно-цитоплазматического транспорта РНК в отборе молекул РНК, поступающих в цито-

плазму. Дальнейшее уменьшение выхода РНК к 24-месячному возрасту, очевидно, является следствием общего снижения интенсивности анаболических процессов в старости.

Список литературы: 1. *Berthold W., Lim L.* Nucleo-Cytoplasmic Relationships of High-Molecular-Weight Ribonucleic Acid, including Polyadenylated Species in the Developing Rat Brain. — *Biochem. J.*, 1976, **154**, p. 529—539. 2. *Yan-narell A., Schumm D. E., Webb T. E.* Age-dependence of nuclear RNA processing. — *Mech. Ageing Dev.*, 1977, **6**, p. 259—264. 3. *Pogo A. O., Allfrey V. Z., Mirsky A. E.* Evidence for increased DNA Template Activity in regenerating rat liver nuclei. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1983, **56**, N 3, p. 550—558. 4. *Palayoor Th., Schumm D. E., Webb T. E.* Transport of Functional Messenger RNA from Liver Nuclei in a Reconstituted Cell-Free System. — *Biochim., Biophys. Acta*, 1981, **654**, p. 201—210. 5. *Clawson G. A., Smuckler E. A.* Activation Energy for RNA transport from isolated rat liver nuclei. — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1978, **75**, N 11, p. 5400—5404. 6. *Britton V. J., Sherman F. G., James R. F.* Effect of Age on RNA Synthesis by Nuclei and Soluble RNA Polymerases from Liver and Muscle of C57BL/6 JMice. — *J. Gerontol.*, 1972, **27**, N 2, p. 188—192.

Поступила в редколлегию 19.12.84.

УДК 577.171 : 577.112

А. А. ПАШКОВА, канд. биол. наук, О. А. МАТУХНОВА,
О. В. МЕГЕМ

ВЛИЯНИЕ АДРЕНАЛИНА НА ЛИПОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ СЫВОРОТКИ КРОВИ БЕЛЫХ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

В результате действия на организм гепарина в кровь из эндотелия кровеносных сосудов различных органов освобождаются липолитические ферменты, которые способны осуществлять гидролиз триглицеридов, входящих в состав циркулирующих в крови липопротеидов. Активность некоторых ферментов ингибируется 1 М NaCl и, как установлено, они расщепляют триглицериды хиломикрон (ХМ) и липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП). Эта часть липолитической активности сыворотки крови получила название липопротеиновой липазы (ЛПЛ). Часть липолитически активной постгепариновой плазмы не ингибируется 1 М NaCl — это липаза печеночного происхождения (ПТГЛ). Она гидролизует триглицериды ремнант, образующиеся после действия на ХМ и ЛПОНП ЛПЛ. Регуляция активности этих ферментов и поведение их в онтогенезе изучены недостаточно.

Нами исследовано влияние 30-минутной экспозиции однократной инъекции адреналина (100 мкг/100 г массы тела) на активность липаз постгепариновой сыворотки крови белых крыс

в возрасте 1, 3, 12 и 24 мес. Липолитическую активность определяли по методу, описанному ранее *. Полученные активности ЛПЛ и ПТГЛ в мкэкв на мл сыворотки приведены в таблице.

Оказалось, что с возрастом существенно изменяется соотношение двух видов липолитической активности в сыворотке кро-

Липаза	1 мес	3 мес	12 мес	24 мес
ЛПЛ К*	$1,77 \pm 0,7$	$1,57 \pm 0,06$	$1,42 \pm 0,02$	$0,90 \pm 0,05$
ЛПЛ А	$4,14 \pm 0,03$	$2,89 \pm 0,09$	$2,47 \pm 0,04$	$1,65 \pm 0,06$
	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$
ПТГЛ К	$0,57 \pm 0,01$	$1,64 \pm 0,03$	$1,50 \pm 0,04$	$0,59 \pm 0,01$
ПТГЛ А	$0,55 \pm 0,01$	$1,84 \pm 0,05$	$1,88 \pm 0,01$	$0,86 \pm 0,01$
	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,01$

Примечание. К — контроль, А — адреналин.

ви: у 1-месячных животных максимальна активность ЛПЛ, а активность ПТГЛ составляет лишь 1/3 от активности ЛПЛ. В средних возрастах (3 и 12 мес) обе активности практически одинаковы. У 24-месячных животных активность ЛПЛ почти в 2 раза ниже, чем у 1-месячных, а активность ПТГЛ составляет 2/3 активности ЛПЛ. Анализируя влияние адреналина на липолитическую активность постгепариновой сыворотки, установили, что во всех возрастах гормон повышает активность в основном ЛПЛ.

По абсолютному приросту активности фермента эффект адреналина максимален у самых молодых животных и минимален у самых старых. В процентном выражении прирост активности также самый большой у 1-месячных животных (133 %), в остальных возрастных группах он составил 74—84 %. Эффект адреналина на активность ПТГЛ наблюдается только у старых животных. Определение липолитической активности жировой ткани до и после введения гепарина показало, что она снижается у 1-месячных животных с 7,5 мкэкв СЖК/г до 4,1, а у 24-месячных с 3,2 до 2,8 мкэкв СЖК/г. Эти данные свидетельствуют о том, что жировая ткань является одним из источников ЛПЛ постгепариновой сыворотки и эта ее функция существенно нарушается с возрастом.

Поступила в редколлегию 11.12.84.

* Солитернова И. Б., Никульчева Н. П. Активность постгепариновой липопротеиновой липазы плазмы крови кроликов. — *Вопр. мед. химии*, 1979, 2, с. 204—209.

**ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ТИРОКСИНА
НА ОПОРНЫЕ СТРУКТУРЫ ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ**

Продолжая исследование влияния щитовидной железы на возрастные изменения опорных белков, в качестве объекта брали легкие крыс линии Вистар в возрасте 1, 3 и 12 мес. Подопытным животным четырехкратно внутримышечно вводили тироксин в дозе 100 мкг на 100 г массы тела (препарат L-тироксин, Реанал, Венгрия). Легочную ткань обрабатывали по методу [1]. Навеску сухожилий для оценки суммарного коллагена гидролизовали в 6 н. HCl в запаянных ампулах при 130° в течение 4 ч. В нейтрализованных гидролизатах определяли концентрацию коллагена по оксипролину методом Стегемана и Сталдера [2]. Эластин выделяли по методу Рилли и Трэвис [1], минерализовали и сжигали. Количество общих белков и эластина определяли по микро-Кьельдалю. Все результаты выражали в миллиграммах на 1 г сухой ткани и в % к общим белкам. Статистическую обработку вели по Стьюденту-Фишеру [3]. Установлено, что концентрация оксипролина в ткани легких достоверно повышается по мере увеличения возраста, составляя 23,5; 31,3 и 53,2 мг на 1 г сухой ткани у 1-, 3-, 12-месячных животных соответственно. Концентрация эластина незначительно изменяется в период между 1 и 3 мес и существенно снижается к 12 мес (15,0; 16,9 и 6,9 мг в каждой последовательно изученной возрастной группе). Обнаружена отчетливая тенденция к нарастанию концентрации общих белков в период от 1 к 3 мес (435,0 и 527,9 мг в 1 г сухой ткани) и ее стабилизация на последующем отрезке онтогенеза (498,7 мг у 12-месячных крыс, некоторое снижение по сравнению с концентрацией у 3-месячных недостоверно). Возрастные изменения содержания (%) опорных белков в общем белковом составе органа сходны с описанными особенностями. Так, содержание оксипролина по отношению к содержанию общих белков составляет 5,4; 5,9 и 10,6 % у 1-, 3- и 12-месячных крыс, содержание эластина — 3,5; 3,2 и 1,4 %.

Введение тирокина в указанных дозах приводит к достоверному росту концентрации общих белков только у 1-месячных животных (435,0 мг в норме и 483,0 мг при введении гормона). Концентрация оксипролина в условиях эксперимента снижается у 1-месячных крыс (с 23,6 в норме до 16,8 мг в опыте) и не изменяется в 3 и 12 мес. Концентрация эластина у 1- и 3-месячных животных сохраняется в пределах нормы и увеличивается в 12 мес (с 6,9 мг в норме до 10,0 мг в опыте). Расчет содержания опорных белков в процентах к общим белкам показал, что

тироксин вызывает снижение доли оксипролина с 5,4 до 3,5 % у 1-месячных крыс и не влияет на этот показатель в остальных возрастных группах. В то же время содержание эластина (%) в общем балансе легочных белков при введении гормона сохраняется стабильным у молодых животных и несколько повышается у 12-месячных (с 1,4 до 2,3 %).

Полученные данные свидетельствуют о важной роли щитовидной железы в процессах возрастного развития легочной ткани и о неоднозначности эффектов иодсодержащих гормонов по отношению к коллагеновым и эластическим структурам. Кроме того, отмечены возрастные особенности влияния гормона на каждый из опорных белков. Коллагеновые структуры подвержены наибольшему изменению у молодых, а эластические — у взрослых животных.

Список литературы: 1. *Reilly C. F., Travis J.* The degradation of human lung elastin by neutrophil proteinases. — *Biochem et biophys. acta*, 1980, **621**, № 1, p. 147—157). 2. *Siegemann H., Stalder K.* Determination of hydroxyproline. — *Clin. Chim. Acta*, 1967, **18**, № 2, y. 267—273. 3. *Бейли Н.* Статистические методы в биологии. — М.: Мир, 1965. — 271 с.

Поступила в редколлегию 18.12.84.

УДК 577.2 : 575.8.2

Е. Э. ПЕРСКИЙ, канд. биол. наук, *Л. А. УТЕВСКАЯ*, канд. биол. наук, *А. В. НАГЛОВ*

ВЕРОЯТНОСТИ ТРАНСВЕРСИЙ И ТРАНЗИЦИЙ В СПИРАЛЬНЫХ И НЕСПИРАЛЬНЫХ УЧАСТКАХ α -ЦЕПЕЙ КОЛЛАГЕНА

Установлено, что характер эволюции спиральных и неспиральных участков α -цепей коллагена неодинаков [1], так как по сравнению с неспиральными спиральные участки подвергаются большему давлению отбора, скорость их эволюции ниже. Обусловлено это различной функциональной ролью участков и особенностями их первичной структуры. Рассмотрим связь между структурой спиральных и неспиральных участков α -цепей и характером точковых мутаций в них.

Для исследования были выбраны *N*-концевые (неспиральные) участки $\alpha 1(I)$ — и $\alpha 2$ -цепей коллагена курицы, кролика, крысы, быка, свиньи, бабуина и человека и участки из центральной (спиральной) области $\alpha 1(I)$ -, $\alpha 1(II)$ -, $\alpha 1(III)$ - и $\alpha 2$ -цепей коллагена курицы, крысы и быка [2].

Относительные вероятности транзиций (замена пурина на пурин или пиримидина на пиримидин) и трансверсий (замена пурина на пиримидин и наоборот) рассчитывали, сопоставляя аминокислоты, заменяющие друг друга в гомоло-

гичных участках α -цепей разных видов, и кодирующие их кодоны. Относительные вероятности рассчитывали по формуле $\omega/1-\omega=q/p$, где ω — относительная вероятность трансверсий, $1-\omega$ — транзиций; p — отношение числа трансверсий к числу транзиций по кодовому словарю, равное 2,37; q — реальное отношение для данного участка α -цепи [3]. Согласно полученным данным (таблица), в обоих типах участков α -цепей вероятности

Участки α -цепей	Число трансверсий	Число транзиций	q	ω	$1-\omega$
Спиральные	158	81	1,95	0,45	0,55
Неспиральные	15	12	1,25	0,33	0,67

трансверсий ниже вероятностей транзиций, что совпадает с результатами для глобулярных белков и объясняется большей опасностью трансверсий, которые чаще, чем транзиции, приводят к появлению терминальных кодонов и обрывам белковой цепи [3]. Наибольший интерес представляет то, что в спиральных областях α -цепей вероятности трансверсий выше, чем в неспиральных. Для объяснения этого результата рассмотрим конкретные точковые мутации, происходящие в спиральных и неспиральных участках.

Известно, что спиральные области α -цепей состоят из последовательности трипептидов Гли-Х-У, где в положении Х чаще, чем другие аминокислоты, находится Про, а в положении У — Опро. Из других аминокислотных остатков в положениях Х и У чаще всего встречается Ала. В среднем содержание Гли составляет 33, Про + Опро — около 20 и Ала — 10—12 %. Таким образом, следует ожидать, что именно на них должно приходится наибольшее число замен, обусловленных точковыми мутациями.

Анализ первичной структуры показывает, что в спиральной области α -цепей аминокислотные замены никогда не затрагивают Гли в 1-м положении трипептида. В заменах участвуют лишь немногочисленные (около 1 %) остатки Гли, которые находятся в положениях Х и У, между тем как Про + Опро, так и Ала — в 50 % всех аминокислотных замен. При этом отношение числа трансверсий к транзициям среди замен, в которых участвуют Про (или Опро, так как обе иминокислоты кодируются одними и теми же кодонами), равно 3 : 1. Однако согласно кодовому словарю следовало ожидать отношения 2 : 1, поскольку среди всех мутаций кодонов Про 16 — трансверсии и 8 — транзиции. Наблюдаемое отличие объясняется тем, что основное число замен Про (или Опро) $\rightleftharpoons$ аминокислота составляют замены Про $\rightleftharpoons$ Ала (70 % всех замен Про), а мутации, приводящие к этой замене, — трансверсии.

Отметим, что все точковые мутации в кодонах Про и Ала, являющиеся трансверсиями, не приводят к появлению терминальных кодонов. Полученный результат полностью укладывается в представления об условиях существования тройной спирали коллагенового типа, согласно которым необходимо присутствие Гли в первом положении каждого последующего трипептида. Необходимости в строго регулярном распределении Про и Опро, и еще в большей степени Ала, вдоль α -цепи нет; достаточно, чтобы сохранялось их среднее содержание в цепи и более или менее регулярное чередование с другими аминокислотными остатками. Таким образом, повышенная вероятность трансверсий в спиральных участках α -цепей связана с особенностями первичной структуры, необходимой для существования тройной спирали.

В неспиральных областях α -цепей нет столь выраженных особенностей содержания и распределения Гли, Про и Ала, они зависят от вида. Замены Гли = аминокислота составляют здесь 48 % общего числа замен; замены, в которых участвует Про, вообще не являются результатом одноточковых мутаций. Поэтому вероятности трансверсий в этих областях совпадают с таковыми в глобулярных белках, в которых идут спонтанные мутации.

Список литературы: 1. Перский Е. Э., Утевская Л. А. О характере эволюции спиральных и неспиральных областей в молекулах коллагена. — В кн.: Актуальные проблемы возрастной физиологии, биохимии и биофизики. К.: Наук. думка, 1979, с. 147—151. 2. Piez K. A. Primary structure — In: Biochemistry of collagen. N. Y. — L., Plenum Press, 1976, p. 1—44. 3. Волькенштейн М. В. Вероятности трансверсий и транзиций. — Молекуляр. биология, 1976, 10, № 4, с. 737—739.

Поступила в редколлегию 22.12.84.

УДК 577.591

Е. С. ГРИНЧЕНКО, канд. биол. наук, Р. К. МАКОВОЗ, канд. биол. наук, О. А. КОНОВАЛЕНКО

ВОЗРАСТ И ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ ГЛЮКАГОНА В КРОВИ БЕЛЫХ КРЫС В НОРМЕ И ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПРОДЛЕНИИ ЖИЗНИ

Установленным фактом современной возрастной физиологии и медицины является высокая частота нарушений гликемического гомеостаза при старении. Основными гормонами, контролирующими образование и утилизацию глюкозы в организме, служат глюкагон и инсулин, поэтому изучение возрастных особенностей инкреции их важно для выяснения причин снижения надежности механизмов, обеспечивающих полноценную регуляцию гликемии во все периоды онтогенеза.

Исследования функциональной активности инсулярного аппарата при старении довольно многочисленны, хотя и противоречивы [1, 2], между тем сообщения о возрастных изменениях инкреции глюкагона единичные. Установлено, что при старении экспериментальных животных (белых крыс) содержание глюкагона в поджелудочной железе падает, снижается также уровень иммунореактивного глюкагона в плазме крови, нередко одновременно с увеличением массы тела [3]. Однако ряд исследователей [4] не обнаружили возрастных изменений в базальной и стимулированной аргинином секреции глюкагона.

Увеличивая скорость глюконеогенеза, глюкагон вызывает гипергликемию, стимулируя тем самым синтез и секрецию инсулина поджелудочной железой [5].

Данные об изучении глюкагона при экспериментальном продлении жизни животных периодическим калорийнонедостаточным питанием в литературе отсутствуют. В связи с этим и была поставлена задача: выяснить возрастные особенности инкреции иммунореактивного глюкагона в норме и в условиях, способствующих продлению жизни.

Работа проведена на белых крысах-самцах линий Вистар в возрасте 1, 3, 12 и 24 мес, содержащихся на обычном лабораторном рационе (контроль), и 3-, 12- и 24-месячных животных, получавших, начиная с 1 мес, гипокалорийную диету с низким содержанием углеводов, которая способствует продлению жизни в 1,5—2 раза (опыт). Содержание глюкагона в плазме крови оценивали радиоиммунологическим методом с помощью импортных наборов реактивов (США). Параллельно определяли иммунореактивный инсулин с использованием отечественных наборов реактивов «РИО/ИНС-ПГ-125 1 (Минск)».

Как показали результаты наших исследований, концентрация глюкагона в плазме крови крыс-самцов значительно варьировала, особенно во второй половине онтогенеза. Ее значения находились в пределах 200—1000 пг/мл, а в отдельных случаях достигали 2000 пг/мл (таблица).

	1 мес	3 мес	12 мес	24 мес
Контроль <i>n</i>	609 ± 43 20	596 ± 63 16	858 ± 159 15	599 ± 116 17
Опыт <i>n</i>	— —	6133 ± 42 23	796 ± 90 19	704 ± 60 15

В норме у крыс в возрасте 1 и 3 мес уровень глюкагона был сходным и составлял в среднем 600 пг/мл, к 12 мес обнаружена тенденция к его повышению. В этом возрасте увеличивается число животных, в крови которых концентрация гормона превышала 1000 пг/мл. У 24-месячных крыс средний уровень глюкагона был таким же, как и у молодых животных, но при этом

отмечался более широкий диапазон колебаний (от 150 до 2000 пг/мл) с увеличением частоты низких значений.

У подопытных крыс во всех исследованных возрастных периодах уровень глюкагона в плазме крови был почти одинаков и составлял в среднем 700 пг/мл, причем концентрация его мало отличалась от таковой у молодых контрольных животных.

Сопоставляя уровни глюкагона и инсулина в плазме крови крыс в каждом отдельном случае, не обнаружили четкой зависимости между концентрациями этих гормонов. Однако у подопытных животных более низкому содержанию инсулина в плазме крови по сравнению с нормой соответствовал уровень глюкагона, обычный для контрольных крыс.

Таким образом, у подопытных животных, получавших диету с низким содержанием углеводов, соотношение глюкагона и инсулина в плазме крови было сдвинуто по сравнению с нормой в сторону относительного увеличения уровня глюкагона, особенно во второй половине онтогенеза. Это обстоятельство свидетельствует, по-видимому, об усилении у животных процессов глюконеогенеза, что может быть решающим фактором, способствующим нормализации углеводного гомеостаза у стареющих крыс.

Список литературы: 1. Гацко Г. Г. Старение и инсулин. — Минск: Наука и техника, 1975. — 160 с. 2. Иммунореактивный инсулин крови и поджелудочной железы белых крыс разного возраста в норме и при пролонгировании жизни/В. Н. Никитин, Р. К. Маковоз, Е. С. Гринченко и др. — В кн.: Актуальные проблемы возрастной физиологии, биохимии и биофизики. — К.: Наук. думка, 1979, с. 293—230. 3. Codina J., Vall M., Herrera E. Changes in plasma glucose, insulin and glucagon levels, glucose tolerance tests and insulin sensitivity with age in the rat. — *Diabete et metabolism*, 1980, 6, N 2, p. 135—139. 4. Dudl R., Epsinck I. Insulin and glucagon relationships during aging in man. — *Metabolism*, 1980, 26, N 1, p. 33—41. 5. Dobbs R., Unger R. Glucagon, secretion, function and clinical role. — *Contemp. Metabolism*, 1982, 2, p. 61—63.

Поступила в редколлегию 05.12.84.

УДК 577.152.2 : 577.175.444

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

АКТИВНОСТЬ ФОСФОФРУКТОКИНАЗЫ В ПЕЧЕНИ И ПОЧКАХ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА ПРИ ВВЕДЕНИИ ТИРОКСИНА

Чтобы выяснить участие тироксина в регуляции гликолиза, исследовали действие этого гормона на активность фосфофруктокиназы (ФФКазы), уровень активности которой лимитирует скорость данного процесса.

Исследования проводили с крысами линии Вистар возраста 1, 3, 12 и 24 мес. Для изучения действия тироксина использова-

ли две постановки эксперимента. В одной из них гормон вводили однократно в дозе 200 мкг на 100 г массы животного за 48 ч до опыта, во второй — ежедневно в течение 9 дней по 50 мкг на 100 г массы тела крыс. Активность ФФКазы определяли в постмитохондриальной фракции печени и коркового слоя почек крыс методом Линга [1]. Содержание белка определяли методом Лоури. Обработывали полученные данные методом Стьюдента—Фишера.

Таблица 1

Возраст, мес	Норма, мкмоль НАДН/мг	T_4 белка в 1 мин	% к норме
-----------------	--------------------------	------------------------	-----------

Печень

1	$0,110 \pm 0,003$	$0,111 \pm 0,007$	101
3	$0,104 \pm 0,005$	$0,095 \pm 0,004$	92
12	$0,093 \pm 0,007$	$0,099 \pm 0,006$	106
24	$0,124 \pm 0,010$	$0,115 \pm 0,007$	93

Почки

1	$0,124 \pm 0,005$	$0,127 \pm 0,002$	102
3	$0,149 \pm 0,008$	$0,148 \pm 0,099$	100
12	$0,155 \pm 0,001$	$0,149 \pm 0,005$	96
24	$0,121 \pm 0,001$	$0,130 \pm 0,06$	107

Таблица 2

Возраст, мес	Норма	T_4	$\Delta \bar{x} \pm S \Delta \bar{x}$	P	% к норме
-----------------	-------	-------	---------------------------------------	-----	-----------

Печень

1	0,085	0,098	$-0,010 \pm 0,002$	0,02	115
3	0,084	0,095	$-0,010 \pm 0,002$	0,02	113
12	0,078	0,091	$-0,016 \pm 0,004$	0,02	117
24	0,092	0,112	$-0,019 \pm 0,001$	0,01	121

Почки

1	0,126	0,171	$-0,043 \pm 0,006$	0,001	136
3	0,128	0,165	$-0,036 \pm 0,004$	0,001	129
12	0,123	0,175	$-0,048 \pm 0,005$	0,001	142
24	0,117	0,179	$-0,054 \pm 0,004$	0,001	153

Сопоставление данных, полученных при исследовании ФФКазы печени и почек интактных животных (табл. 1, 2), показало более высокую активность фермента в корковом слое почек по сравнению с активностью, наблюдаемой в печени. Как видно из табл. 1, активность фермента в печени интактных крыс

обнаруживает некоторую тенденцию к снижению у годовалых животных и последующее увеличение в старости. Характер возрастных изменений в основном сохраняется и во второй серии опытов (табл. 2). Активность ФФКазы почек у животных в возрасте 3—12 мес незначительно повышается в первой серии опытов, во второй серии она является одинаковой во все возрастные периоды.

Введение тироксина по-разному влияет на активность ФФКазы в печени и почках крыс в зависимости от условий его введения. Так, однократное введение гормона (табл. 1) не сказывается на активности фермента в обоих органах. При многократном введении тироксина (табл. 2) несколько возрастает активность ФФКазы в печени животных всех возрастных групп, более четко выраженная в старости. В почках в аналогичных условиях ферментативная активность возрастает на протяжении всего периода онтогенеза. Однако это увеличение выражено сильнее, чем в печени, и в наибольшей степени проявляется также в 24 мес. Поскольку тироксин вызывает активацию энергетического обмена [2], можно предположить, что одним из путей ее является усиление гликолиза через повышение активности ФФКазы, которая определяет скорость данного процесса.

Список литературы: 1. Kuo-Huang Ling, Mancus F., Henry A. Lardy Pyrification and some properties of rabbit skeletal muscle phosphofructokinase. — I. Biol. Chem., 1965, 240, N 5, p. 1893—1899. 2. Қалиман П. А., Новикова Н. М., Оравцова Д. Взаимодействие белоксинтезирующих систем цитоплазмы и митохондрий при гормональной индукции олигомицинчувствительной АТФазы в печени крыс разного возраста. — Укр. біохім. журн., 1983, 55, № 4, с. 380—385.

Поступила в редколлегию 07.12.84.

УДК 577.7.612.822.1

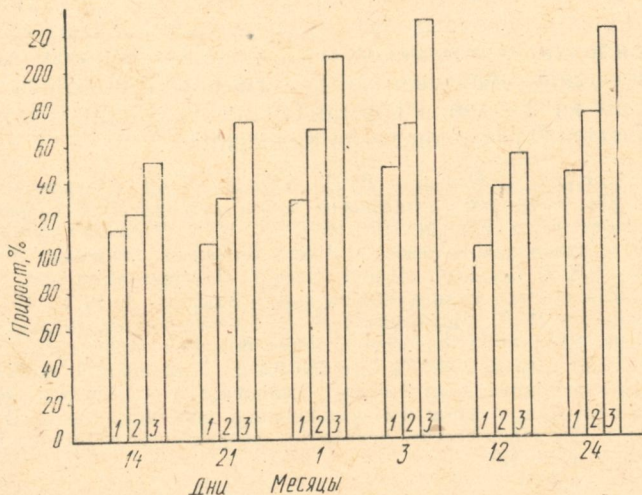
В. В. МАРТЫНЕНКО, Э. А. ГОРДИЕНКО, канд. биол. наук

ДЕЙСТВИЕ ТИРОКСИНА IN VITRO НА ГЛУТАМИНАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИЙ КОРЫ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ В ОНТОГЕНЕЗЕ МОЗГА КРЫС

Одной из причин значительного снижения в пуле свободных аминокислот концентрации глутаминовой кислоты в поздний период онтогенеза может быть перестройка внутриклеточных регуляторных процессов азотистого обмена, к которым относятся и действие тиреоидных гормонов. В частности, один из ферментов, участвующих в образовании в мозге глутаминовой кислоты из глутамина — фосфатзависимая глутаминаза (L-глутаминамидогидролаза, К. Ф. 3.5.1.2), активируется тироксином [1]. Эти данные, полученные на митохондриях взрослых животных, а также сведения об изменении уровня и действия

тироксина [2] в разные периоды онтогенеза послужили основанием для исследования действия тироксина на глутаминазную активность митохондрий коры больших полушарий мозга крыс разного возраста.

Опыты поставлены с крысами линии Вистар шести возрастных групп (14, 21 сут, 1, 3, 12 и 24 мес). Исходные митохондрии выделены по методике, описанной в работе [3], применяемый



Глутаминазная активность митохондриальной фракции коры больших полушарий головного мозга крыс разного возраста при добавлении тироксина в дозах: 1 — 0,025; 2 — 0,05; 3 — 0,1 μ М/мл (процент прироста по отношению к активности в контрольных условиях). По оси ординат — проценты, по оси абсцисс — возраст

состав среды инкубации и способ определения белка указаны ранее [4]. Пробы инкубировали в течение 30 мин при $t=37^\circ\text{C}$ на водяной бане при постоянном встряхивании. Реакцию останавливали при добавлении 0,2 мл 10 %-ного ТХУ. Прирост аммиака в среде определяли с помощью колориметрической реакции с реактивом Несслера. Интенсивность окраски измеряли на спектрофотометре СФ-26 при $\lambda=480$ нм. Рассчитаны удельная активность глутаминазы (μ М аммиака на 1 мг белка за 1 мин) и прирост (%) продукта реакции в среде инкубации при добавлении тироксина (препарат фирмы «Reanal», ВНР) в дозах 0,025, 0,05 и 0,1 μ М/мл (рисунок). Наши результаты подтверждают активирующий эффект тироксина, начиная с самой низкой из применяемых доз, на глутаминазную активность митохондрий во всех возрастных периодах. По мере увеличения дозы (0,1 μ М/мл) возрастает глутаминазная активность. Сопоставляя прирост продукта реакции при добавлении тироксина (%) с контрольными пробами, видим, что у 14-суточных крыс сте-

пень активации ферментативной активности митохондрий наименьшая, наибольшее ее значение отмечено у 3- и 24-месячных животных. Для 12-месячных крыс активность глутаминазы митохондрий более низкая и «сглаженная» при различных дозах тироксина.

Высокую степень действия тироксина на глутаминазную активность митохондрий 24-месячных крыс можно объяснить большей чувствительностью к гормональным воздействиям организма старых животных [2]. Полученный эффект усиления в митохондриях глутаминазной активности в этом возрасте, способствующий образованию глутаминовой кислоты, может быть одним из факторов нормализации ее уровня в мозге старых животных [5] при введении тироксина.

Список литературы: 1. Оганесян В. С., Бадалян Л. Л., Микиртумова К. С., Саакян Ж. Дж. Изоэнзим глутаминазы мозга, активируемый тироксином. — *Вопр. биохимии мозга*. Ереван, 1973, 8, с. 77—90. 2. Вержиковская Н. В., Валуева Г. В. Щитовидная железа. — В кн.: *Биология старения*. Л.: Наука, 1982, с. 493—508. 3. Lai J. C. K. and Clark J. B. Preparation and properties of mitochondria derived from synaptosomes — *Biochem. J.* 1976, 154, p. 423—432. 4. Гордиенко Э. А., Мартыненко В. В. Глутаминазная активность митохондриальных фракций в онтогенезе коры больших полушарий мозга. — *Докл. АН УССР. Сер. Б*, 1984, № 1, с. 59—61. 5. Гордиенко Э. А. Возрастные изменения концентрации дикарбоновых аминокислот и ГАМК в мозге и гипоталамической области крыс при эндокринных воздействиях. — В кн.: *Молекулярные и физиологические механизмы возрастного развития*. К.: Наук. думка, 1975, с. 231—240.

Поступила в редколлегию 11.01.85.

УДК 577.15

П. А. КАЛИМАН, д-р биол. наук,
В. П. МИЩЕНКО, канд. биол. наук,
Е. О. КОНОВАЛОВА, Т. С. МЕЛЕЖИК,
О. В. МЕРЧАНСКАЯ

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ ЛИПОГЕНЕЗА В ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ИЗБЫТОЧНОМ ПОСТУПЛЕНИИ В ОРГАНИЗМ ЖИРОВ

Регуляция липогенеза, обеспечивающая переключение метаболизма липидов на пластический или энергетический обмен, недостаточно изучена, особенно в возрастном аспекте. Между тем вопрос этот очень актуален, поскольку с нарушением обмена липидов связывают широко распространенное заболевание атеросклероз.

Чтобы выяснить возрастные особенности регуляции активности липогенных ферментов при различных функциональных состояниях организма, сопровождающихся модуляцией мета-

болизма липидов, нами изучено влияние высокожирового рациона (в/ж р.) на активность ферментов, синтезирующих исходные субстраты и поставляющих восстановительные эквиваленты для липогенеза: АТФ-цитратлиазы (АТФ-ЦЛ) (КФ 4.1.3.8), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ) (КФ 1.1.1.49), 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6ФГДГ) (КФ 1.1.1.44), а также НАДФ-зависимой малатдегидрогеназы (малик-фермент) (НАДФ-МДГ) (КФ 1.1.1.40) в печени крыс в возрасте 1, 3, 12 и 24 мес.

В работе использованы белые крысы линии Вистар. 1-я группа — контрольная; 2-я группа животных находилась в течение 8 сут на рационе, содержащем 40 % животного жира (лара). Ферменты определяли в надосадочной жидкости, полученной после центрифугирования гомогената печени при 40 000 g в течение 60 мин. Активность ферментов оценивали спектрофотометрически по возрастанию количества восстановленных нуклеотидов [1]. Скорость реакции регистрировали на спектрофотометре-26 при длине волны 340 нм. Активность ферментов выражали в наномолях НАДН/мг белка за 1 мин для АТФ-цитратлиазы и в наномолях НАДФН/мг белка за 1 мин для исследуемых дегидрогеназ. Концентрацию белка определяли по методу Лоури в модификации Миллера. Полученные данные обрабатывали по методу Стьюдента-Фишера [2].

Установлено, что активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в печени контрольных крыс значительно выше, чем 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (особенно в первых трех возрастных группах животных), причем уровень активности исследуемых ферментов снижается по мере старения животных, хотя в случае НАДФ-зависимой малатдегидрогеназы резкое снижение

Ферменты	Условия опыта	Возраст, мес			
		1	3	12	24
АТФ-ЦЛ	норма	29,1±1,3	17,2±1,1	16,2±0,9	11,1±1,0
	в/ж р.	16,7±0,5 $P<0,001$	7,3±0,5 $P<0,001$	9,4±1,3 $P<0,001$	8,3±1,1 $P_{12-24}<0,002$
НАДФ-МДГ	норма	39,3±4,0	14,9±1,7	4,6±0,5	2,6±0,3
	в/ж р.	21,8±2,1 $P<0,01$	4,3±0,4 $P<0,001$	2,9±0,3 $P<0,005$	2,6±0,5
Г6ФДГ	норма	20,1±1,6	17,3±1,6	9,6±0,7	7,5±0,4
	в/ж р.	8,7±0,5 $P<0,001$	5,7±0,6 $P<0,001$	6,3±0,5 $P_{3-12}<0,001$	8,1±0,4 $P_{12-24}<0,05$
6ФГДГ	норма	6,5±0,5	7,9±0,7	5,1±0,2	5,0±0,5
	в/ж р.	4,6±0,2	5,7±0,6 $P_{1-3}<0,001$	5,0±0,6 $P_{3-12}<0,01$	4,5±0,5

Примечание. P — достоверность различий между рационами и возрастом (приведены только статистически значимые различия).

этого показателя наблюдается уже в период половой зрелости (таблица). При поступлении в организм избыточного количества жира, когда происходит ингибирование липогенеза, ферментативная активность АТФ-цитратлиазы, НАДФ-малатдегидрогеназы и первого фермента пентозофосфатного шунта снижается резко (в 2—3 раза) в печени молодых животных (1 и 3 мес), в меньшей степени у годовалых крыс и не изменяется в старости. В этих условиях падает также уровень активности и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы, однако эти изменения обнаружены лишь в молодом возрасте (1 и 3 мес) и выражены в меньшей степени, чем в случае других исследуемых ферментов.

Таким образом, из полученных результатов следует, что чем выше исходный уровень активности ферментов, тем резче снижается он при ингибировании синтеза липидов избыточным количеством поступающих в организм жиров.

Обнаруженное нами падение активности исследуемых ферментов в печени животных, находящихся на высокожировой диете, может быть достигнуто, очевидно, с помощью различных механизмов, и прежде всего в результате изменений на путях биосинтеза молекул ферментов. Например, экспериментально доказано, что снижение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в печени крыс, получавших рацион с высоким содержанием лярда, было обусловлено изменением скорости синтеза фермента [3].

Ослабление, а также отсутствие реакции на высокожировой рацион во второй половине постнатального онтогенеза может быть обусловлено рядом причин, в том числе: меньшим количеством съедаемой пищи (как было установлено сотрудниками кафедры биохимии), снижением активности ферментов, расщепляющих жиры в кишечнике, и скорости всасывания их в желудочно-кишечном тракте, а затем последующего поступления их в печень [4].

В заключение отметим, что в предыдущих работах сотрудников кафедры биохимии было показано, что снижение активности АТФ-цитратлиазы, малик-фермента и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в печени крыс имеет место также при экспериментальном аллоксановом диабете и голодании — факторах, которые тоже тормозят липогенез [5].

Список литературы: 1. *Методы биохимических исследований*/Под. ред. М. И. Прохоровой — Л.: Изд-во ЛГУ, 1982. — 272 с. 2. *Бейли Н.* Статистические методы в биологии. — М.: Изд-во иностр. лит., 1962. — 259 с. 3. *Wolfe R., Holtten D.* The effect of dietary fat or cholesterol and cholic acid on the rate of synthesis of rat liver glucose-6-P dehydrogenase. — *J. Nutr.*, 1978, **108**, N 10, p. 1708—1717. 4. *Holt P. R., Dominguez A. A.* Intestinal absorption of triglyceride and vitamin D₃ in aged and young rats — *Dig. Diseases and Sci.*, 1981, **26**, № 12, p. 1109—1115. 5. *Возрастные особенности функционирования и регуляции инсулином цитрат-пируватной си-*

стемы в печени крыс при аллоксановом диабете / П. А. Калиман, В. П. Мищенко, Е. О. Коновалова, Б. Б. Отшом. — В кн.: *Вопр. эндокринологии: Тез. конф. эндокринологов. Тарту, 1984, с. 37—38.*

Поступила в редколлегию 11.01.85.

УДК 577.3.576.3

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

ИЗМЕНЕНИЯ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА КЛЕТОК ПЕЧЕНИ ПОД ВЛИЯНИЕМ ПРОСТАГЛАНДИНА ПГЕ₂ У ЖИВОТНЫХ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Электрографическая запись действия катехоламинов *in vivo* свидетельствует о сложной картине, возникающей в организме при введении этих веществ. Реакция организма на гормональное воздействие представляет собой системный ответ, так как затрагивает рецепторные, ферментативные и транспортные эта-

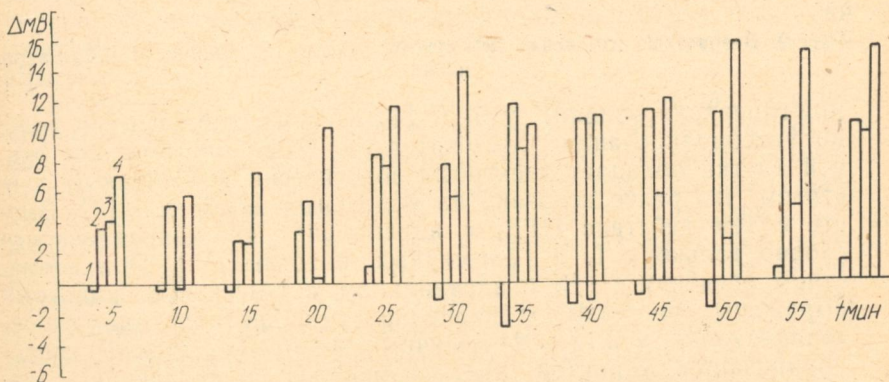


Рис. 1. Возрастные изменения МП клеток печени под влиянием ПГЕ₂

пы. Для изучения сложного действия агента-активатора в живом организме широко применяются модуляторы и ингибиторы. По современным представлениям простагландины являются модуляторами и обладают метаболическими эффектами [1]. В связи с тем что простагландины выступают в качестве регуляторов действия гормонов на клетку, нами исследовано изменение мембранного потенциала (МП) клеток печени при действии простагландина ПГЕ₂ и параллельно ПГЕ₂ и адреналина при одновременном введении 1, 3, 12, 24-месячным животным (рис. 1, 2). Опыты проводили на белых крысах, наркотизированных барбиталом (80 мг/кг массы, внутривенно). Измеряли МП микроэлектродным методом через каждые 5 мин

В течение 1 ч с момента введения нагрузки (у контрольных и опытных животных); адреналин вводили из расчета 30 г на 100 г массы, простагландин ПГЕ₂—50 г на 100 г массы, в верхнюю полую вену, контрольным животным — равный объем физиологического раствора. При введении ПГЕ₂ у 1- и 12-месячных животных изменения МП неоднозначны (деполяриза-

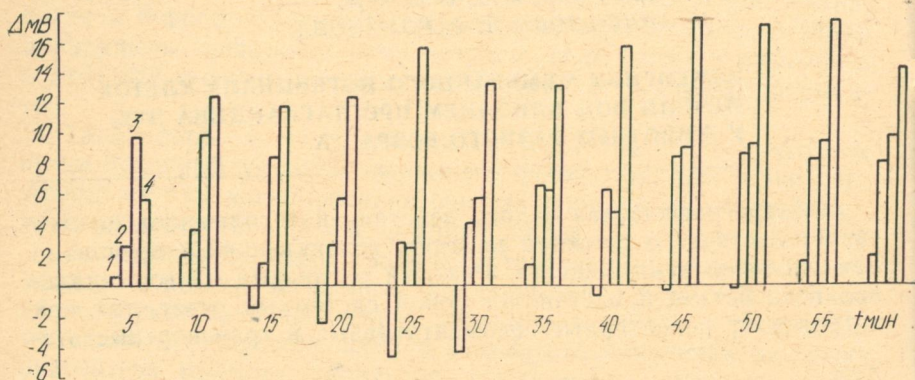


Рис. 2. Возрастные изменения МП клеток печени под влиянием ПГЕ₂+адреналин

ция-гиперполяризация), у 3- и 24-месячных наблюдается только гиперполяризация. Следовательно, ПГЕ₂ на мембране живой клетки обладает электрофизиологически выраженным действием, что ранее показано на модельных мембранах [2]. Вместе с тем действие ПГЕ₂ и адреналина по направленности сходно только у 1- и 12-месячных животных [3]. При совместном введении ПГЕ₂ с адреналином у 1-месячных животных выражены три фазы (гиперполяризация-деполяризация-гиперполяризация), у 3, 12 и 24-месячных животных только гиперполяризация. Характер ответа изменился по сравнению с наблюдаемым при действии ПГЕ₂ и адреналина отдельно, т. е. на электрическом уровне суммации действия ПГЕ₂ и адреналина не происходит, как и на метаболическом уровне [1]. ПГЕ₂ усиливает гиперполяризационный эффект адреналина, характер ответа зависит от возраста.

Список литературы: 1. Зеркаль В. П. Возрастные особенности содержания простагландинов в органах белых крыс и их регуляция адреналином в печени: Автореф. дис... канд. биол. наук, 1981. — 20 с. 2. Баджиян С. А. Влияние простагландинов на ионную проводимость модельных мембран. — Биофизика, 1982, 27, № 2, с. 277—279. 3. Новикова А. И., Анисимова Л. М. Влияние катехоламинов на мембранный потенциал клеток печени белых крыс в онтогенезе. — Вестн. Харьк. ун-та, 1984, № 262. Механизмы онтогенеза, эволюции и гетерозиса, с. 10—11.

Поступила в редколлегию 18.12.84.

**ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОТНОСИТЕЛЬНОГО
СОДЕРЖАНИЯ И СИНТЕЗА ГИДРОФИЛЬНОЙ
И ГИДРОФОБНОЙ ФРАКЦИЙ БЕЛКОВ МИТОХОНДРИИ
ПЕЧЕНИ КРЫС**

Полуавтономность генетической системы митохондрий, т. е. ее существенная зависимость от ядерного генома, ярко проявляется уже при беглом знакомстве с происхождением различных белковых субъединиц ферментативных ансамблей митохондрий [1]. Взаимодействие между ядерным и митохондриальным геномами в процессе митохондриогенеза претерпевает некоторые возрастные изменения [2]. В связи с этим особый интерес представляет изучение в постнатальном онтогенезе интенсивности включения метки в гидрофильные белки митохондрий, синтезируемые в цитоплазме, и гидрофобные белки собственно митохондриального происхождения [3], а также соотношение между их содержанием в митохондриях печени крыс.

Митохондрии выделяли методом дифференциального центрифугирования, как было описано ранее [2]. Белки митохондрий после разрушения органоидов методом замораживания—оттаивания разделяли на гидрофильную и гидрофобную фракции в 0,05 М фосфатном буфере (рН 11,5) по Китагава и Сужимото [4]. Содержание белка в указанных фракциях определяли по методу Лоури в модификации Миллера. Об интенсивности синтеза белков митохондрий судили по включению ^{14}C -лейцина (удельная радиоактивность 1,4 ГБк/мМ), который вводили животным внутрибрюшинно в дозе 0,2 МБк/100 г массы тела за 20 мин до забоя. Полученные данные и результаты их статистической обработки по методу Стьюдента-Фишера (таблица) свидетельствуют о том, что относительное содержание гидрофильной и гидрофобной фракций белков с возрастом не изменяется. Эти данные хорошо согласуются с ранее опубликованными, согласно которым кодирующая емкость ДНК митохондрий обеспечивает синтез лишь 10—15 % структурных элементов митохондрий, имеющих гидрофобную природу [1].

Мы не обнаружили также возрастных различий в интенсивности включения ^{14}C -лейцина в белки гидрофобной фракции митохондрий, синтезируемые на собственно митохондриальной системе трансляции. Однако в случае гидрофильной фракции этот показатель резко падает от 1 к 3 мес, после чего практически не изменяется к старости. Очевидно, обнаруженный нами

Возраст, мес	Содержание белков, %		Интенсивность включения ¹⁴ С-лейцина, имп/мин мг. белка	
	гидро- фобная	гидрофильная	гидрофобная	гидрофильная
1	13,0±1,3	87,0±1,3	47 788± 4 980	104 546± 8 282
<i>P</i> ₍₁₋₃₎	>0,1	>0,1	>0,1	<0,05
3	15,9±1,4	84,1±1,4	44 629±23 388	57 013±16 913
<i>P</i> ₍₃₋₂₄₎	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1
24	14,4±1,1	85,6±1,1	58 665±14 086	43 488± 9 087
<i>P</i> ₍₁₋₂₄₎	>0,1	>0,1	>0,1	<0,01
<i>n</i>	17—20	17—20	4	4

факт подтверждает предположение о возрастающей роли митохондриального генома в регуляции митохондриогенеза при старении [2]. Возможно, что обнаруженный диссонанс во взаимодействии двух геномов клетки в процессе митохондриогенеза в стареющем организме компенсирует ранее отмеченное существенное увеличение содержания митохондрий в 1 мг белка на 1 г печени у старых крыс [2].

Применявшаяся нами экспозиция включения метки (20 мин) мала для того, чтобы судить об интенсивности обмена белков обеих исследуемых митохондриальных фракций. Однако отсутствие возрастных изменений в соотношении фракций белков митохондрий при резком снижении синтеза гидрофильных белков митохондрий печени 3- и 24-месячных крыс дает основание полагать, что достигается это параллельным снижением процессов деградации данной группы белков митохондрий, т. е. удлинением времени их жизни, что также может иметь компенсаторное значение.

Список литературы: 1. *Нейфах С. А.* Роль митохондрий в клеточной наследственности. — В кн.: Молекулярная генетика митохондрий. Л.: Наука, 1977, с. 8—18. 2. *Новикова Н. М., Шредер Х., Мазаев А. Г., Нетцель У.* Особенности ядерно-митохондриальных взаимоотношений в процессе митохондриогенеза у белых крыс разного возраста. — В кн.: Актуальные проблемы возрастной физиологии, биохимии и биофизики. К.: Наук. думка, 1979, с. 46—54. 3. *Werner S.* Synthesis and assembly of mitochondrial membrane proteins. — Biol. Chem. Organelle Format.: 31 Collog. Ges. Biol. Chem. Mesbach—Baden, 14—19 Apr. 1980, Berlin e. a., 1980, p. 43—58. 4. *Kitagawa Y., Sugimoto E.* Estimation of the in vitro translational of rat liver mitochondria without use of an antibiotic. — J. Biochem., 1980, 88, N 3, p. 689—693.

Поступила в редколлегия 23.10.84.

Ю. В. БОЯНОВИЧ, Т. А. СУББОТА, Л. М. ФОКОВА

О ФУНКЦИОНАЛЬНОМ ЗНАЧЕНИИ НЕКОТОРЫХ ТИПОВ ОРГАНИЗАЦИИ РИТМА СЕРДЕЧНЫХ СОКРАЩЕНИЙ И ДЫХАНИЯ У БЕЛЫХ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Ранее нами было показано, что организация ритма сердечных сокращений и дыхания осуществляется одним из способов, называемых нами «тактиками». Это так называемая линейная (Л), дискретная (Д) и параллельная (П) тактики¹. Более детальный анализ позволил выделить «линейную с возмущениями» (ЛВ) тактику — такую Л-тактику, которая включает одно или два колебания, значительно отличающихся по своим параметрам от элементов, характерных для тактики в целом. Цель работы — выяснить возможное функциональное значение разных типов организации ритма сердечных сокращений и дыхания.

Для исследований брали 24 белые крысы линии Вистар в возрасте 1, 3, 12 и 24 мес по 6 животных каждого возраста. Проводили 3-разовую запись электрокардио- и пневмограммы непосредственно после помещения в тепловую камеру (40 °C), на 5, 30 и 40 мин пребывания в ней. Вторая и третья записи проводились соответственно на 2—3 и 4—6 сут после первой. В качестве регистрирующего устройства использовали 4-канальный электроэнцефалограф 4-ЭЭГ-3. Данные обрабатывались статистически.

В результате исследований установлено, что по мере предъявления нагрузки, особенно у животных 1-й половины онтогенеза, закономерно растет доля представленности Л-тактик. Так, в организации ритма дыхания их доля менялась у 1-месячных крыс от 30,0—59,0 % (в зависимости от времени пребывания в тепловой камере) при I предъявлении тепловой нагрузки до 66,7—74,0 % при III и от 33,3—39,6 % до 49,0—53,8 % — у 3-месячных. В организации ритма сердечных сокращений доля Л-тактик менялась у 1-месячных животных от 68,8—73,4 % в I предъявлении до 76,3—91,0 % в III и от 33,0—41,0 % до 63,6—76,4 % — у 3-месячных.

Возрастание доли Л-тактик происходит с одновременным пропорциональным снижением доли ЛВ-, П- и особенно Д-тактик. Так, доля Д-тактик в организации ритма дыхания падает у 1-месячных крыс от 21,0—31,6 % в I предъявлении до 9,0—

¹ Боянович Ю. В., Бондарь Т. Н., Решетникова Т. И., Зайцева Л. Н. Возрастные особенности временной организации ритма сердечных сокращений и дыхания в условиях адаптации к тепловой нагрузке. — Вестн. Харьк. ун-та, 1984, № 262. Механизмы онтогенеза, эволюции и гетерозиса, с. 36—38.

13,1 % — в III, а у 3-месячных крыс — от 23,7—29,9 % до 9,3—13,0 %. В организации ритма сердечных сокращений доля Д-тактик у 1-месячных крыс падает от 13,1—18,0 % в I предъявлении до 2,5—13,5 % в III предъявлении, а у 3-месячных — от 20,0—22,9 % до 10,4—23,6 % (статистически недостоверно).

У 12—24-месячных животных наблюдается сходная тенденция изменения представленности изучаемых тактик, однако ни для ритма дыхания, ни для ритма сердечных сокращений она не достоверна.

Полученные данные позволяют высказать предположение о существовании двух видов поиска: активном и проверочном. Активный поиск включается в новой для организма ситуации, когда проверяются все возможные варианты режима работы системы. Выработка адекватного данным условиям режима прекращает этот вид поиска, однако включает так называемый проверочный поиск, обеспечивающий периодическое отслеживание границ режима. Этот вид поиска, видимо, осуществляется прежде всего с помощью Д-тактик, доля которых особенно возрастает в ходе адаптации к нагрузке.

У животных старших возрастных групп соотношение Л-тактик, с одной стороны, и ЛВ-, П- и Д-тактик, с другой, исходно устанавливается на том уровне, который к 40 мин пребывания в тепловой камере при III предъявлении нагрузки мы встречаем у молодых животных. Это позволяет объяснить механизмы приспособления животных старших возрастных групп к стрессовым нагрузкам, осуществляемого прежде всего за счет сокращения периода поиска адекватных режимов функционирования физиологических систем.

Поступила в редколлегию 06.12.84.

УДК 612.017:616.006

И. Я. КАЛМЫКОВА, канд. биол. наук,

И. А. ЯРЕЩЕНКО, Л. А. ГАЙСЕНЮК, канд. мед. наук,

М. В. ГУНЬКО, канд. биол. наук

ИЗУЧЕНИЕ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ИЗОЛИРОВАННО ОБЛУЧЕННОЙ КРОВИ НА ИММУНИТЕТ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ ПРИ ХИМИОТЕРАПИИ

Одним из основных патогенетических моментов опухолевой болезни является иммунодепрессия. Использование в системе комплексного лечения опухолевых заболеваний лучевой и химиотерапии, наряду с противоопухолевым эффектом, неизбежно приводит к поражению активно пролиферирующих нормальных тканей и снижению функциональной активности лимфоцитов периферической крови больных. Работами А. И. Несиса [1]

Группа	Время обследования	n	Е-РОК общие		Е-РОК гигантские		РБТ
			%	абс.	%	абс.	
Повторная химиотерапия	До лечения	13	50,8±3,4	0,59±0,08	21,5±2,9	0,14±0,02	109 ±15
	После лечения	15	54,1±4,9	0,27±0,03	16,3±1,6	0,06±0,007	64,1±10,2
ИОК с ухудшением	До лечения	5	40,3±3,6	0,44±0,04	13,4±2,1	0,06±0,001	81,7±13,3
	После лечения	5	41,0±6,9	0,15±0,04	9,3±3,1	0,013±0,006	33,1± 3,8
ИОК с улучшением	До лечения	7	49,8±4,6	0,37±0,05	16,5±2,9	0,06±0,01	129,2±20,8
	После лечения	7	53,5±4,1	0,49±0,07	11,7±3,0	0,12±0,03	92,5±13,0

и А. А. Жаворонковой [2] в эксперименте и в клинике показана возможность использования изолированно облученной крови (ИОК) с целью стимуляции кроветворения и дана рекомендация использовать ИОК для поддержания иммунологического статуса онкологических больных при применении лучевой и химиотерапии.

Целью данной работы было изучение действия ИОК на иммунологический статус онкологических больных, получавших повторные курсы химиотерапии.

Методика применения ИОК заключалась в следующем: из локтевой вены больного забиралось 200 мл крови в стерильный флакон с консервантом («ЦОЛИПК-7Б» или «Глюцир»). Облучение крови проводилось на аппарате РУМ-17 при следующих условиях: расстояние от источника 11,5 см, без тубуса и фильтра, И-200кУ, I-10 мА, мощность дозы — 3,96 гР/мин, время облучения 1 ч, поглощенная доза — 220 Гр. Введение облученной крови осуществлялось внутривенно капельно.

Нами было обследовано 17 больных раком молочной железы, которым профилактически была проведена ИОК-терапия, и 15 больных, получавших только цитостатики. У всех больных изучали состояние иммунной системы по реакциям бласттрансформации (РБТ) и Е-розеткообразования до и после курса химиотерапии. Результаты исследования показателей клеточного иммунитета представлены в таблице. У больных, прошедших очередной плановый курс химиотерапии, происходит значимое

снижение абсолютного количества Е-розеткообразующих клеток и их функциональной активности. В группе больных (17 человек), которым до проведения химиотерапии была введена изолированно облученная аутокровь, к концу курса лечения практически не обнаружено изменений показателей иммунитета. Однако по результатам индивидуальных исследований эта группа больных оказалась очень не однородной, и мы сочли необходимым разделить ее на две подгруппы. Из 12 человек, обследованных до лечения и после, в 1 группу вошли больные с угнетением иммунологического статуса (5 человек), во 2 — без такового (7 человек). У больных 1 подгруппы значительно снижаются абсолютное количество Т-лимфоцитов и их функциональная активность. Во 2 подгруппе отмечается некоторое увеличение относительного и абсолютного содержания лимфоцитов, образующих общие и гигантские розетки. Бласттрансформационная активность Т-лимфоцитов снижается, но остается в пределах физиологической нормы. При сопоставлении результатов иммунологического обследования с клинической картиной течения болезни выявлено, что у 4 из 5 больных 1 подгруппы отмечалось прогрессирование процесса основного заболевания, что, по-видимому, обусловило угнетение показателей системы иммунитета.

Таким образом, химиотерапевтическое лечение вызывает снижение показателей Т-системы иммунитета. Использование ИОК с целью стимуляции кроветворения перед очередным курсом плановой химиотерапии в безрецидивном периоде может оказать благоприятное воздействие и на показатели клеточного иммунитета. Результаты иммунологического обследования четко коррелируют с клиническим течением заболевания.

Список литературы: 1. Несис А. И. Влияние однократной трансфузии облученной аутокрови (ИОАК) на организм — В кн.: Облучение крови вне организма. Ставрополь, 1979, с. 162—167. 2. Жаворонкова А. А. Клинико-иммунологическая оценка выраженности лучевого синдрома. — В кн.: Тез. докл. IV науч. конф. по проблеме клин. иммунодиагностики. Таллин, 1979, с. 187—188.

Поступила в редколлегию 04.01.85.

УДК 581.14:576.312:577.37

В. Г. ШАХБАЗОВ, д-р биол. наук,
Н. Н. ГРИГОРЬЕВА, А. И. БОЖКОВ, канд. биол. наук

ОБ ИЗМЕНЕНИИ НЕКОТОРЫХ ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В МЕРИСТЕМЕ КОРНЕЙ БОБОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПОСТОЯННОГО ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ТОКА

Ранее нами показано, что постоянный электрический ток может модифицировать мутагенный эффект гамма-радиации [1]. Чтобы выяснить механизм этого явления, предпринята попытка изучить параллельно его митотическую активность, хромосомные aberrации и скорость синтеза ДНК. В эксперимент брали проростки бобов *Vicia faba*, которые подвергали действию постоянного электрического тока на специальном устройстве, позволяющем менять полярность на меристеме корня при силе тока 10 мА на один корень и экспозиции 30 мин. Через 22 ч корни фиксировали в уксусном спирте (3:1) и окрашивали по Фельгену. Учитывали митотический индекс и структурные aberrации хромосом в анафазах и телофазах. Скорость синтеза ДНК в меристеме корней определяли по интенсивности включения радиоактивной метки через 60 мин и 22 ч после обработки проростков током. Обработанные током проростки инкубировали в H^3 -тимидином в течение 1 ч (20 мкк H^3 -тимидина на 1 мл воды). Инкубацию проводили на свету при комнатной температуре. Через час проростки помещали в сосуд с охлажденной водой и промывали в течение 10 мин в проточной воде. После чего из кончиков корней готовили гомогенат, который количественно переносили в пробирку с помощью 5 %-ного раствора $NaClO_4$.

Полученный осадок анализировали по Блобелу и Поттеру 2. Концентрацию ДНК определяли по Спирину [3]. Радиоактивность ДНК считали на сцинтилляционном счетчике SL-40, «Intertechnique» в диаксановом синтиллаторе (5 г 2,5-дифениллоксазола, 250 мл и 1,4-ди-(S-фениллоксазолил)-бензол, 100 г нафталина на 1 л диоксана).

Установлено, что при контакте меристемы с катодом наблюдается тенденция к уменьшению aberrантных клеток на 3,34 % ($P=0,8788$) по сравнению с контролем (таблица). В этом же варианте отмечено некоторое снижение количества aberrаций на 100 клеток ($P=0,7660$) и увеличение митотического индекса на 2,38 % относительно контроля ($P=0,9643$). При контакте

Показатель	Контроль	Действие тока	
		анод	катод
Митотический индекс	$9,08 \pm 0,71$	$5,43 \pm 0,85$	$11,46 \pm 0,87$
Число анафаз и телофаз	1 525	712	2 033
Клетки с абберациями, %	$10,12 \pm 1,82$	$11,10 \pm 1,79$	$6,78 \pm 1,15$
Число аббераций на 100 клеток	$12,5 \pm 0,9$	$15,6 \pm 1,5$	$10,6 \pm 0,7$
Удельная радиоактивность, имп/мин на мг ДНК			
через 60 мин	349 131 $\pm$ 86 130	216 831 $\pm$ 98 150	625 218 $\pm$ 90 440
через 22 ч	341 741	339 990	476 017

меристемы с анодом обнаружена противоположная реакция: незначительно увеличивается количество абберантных клеток, более значительно возрастает число аббераций на 100 клеток ($P=0,9283$), митотический индекс снижается на 3,63 % ($P=0,998$) относительно контроля. При контакте меристемы с катодом наблюдается достоверное увеличение скорости синтеза ДНК относительно контроля, при контакте меристемы с анодом — некоторое снижение. Различия между вариантами в скорости синтеза ДНК в меристеме корней, определенные сразу после обработки корней током, сохраняются и через 22 ч.

Результаты свидетельствуют о возможности регулировать процесс редупликации электрическим воздействием, что сказывается также на митотической активности и выходе хромосомных аббераций.

Список литературы: 1. Григорьева Н. Н., Шахбазов В. Г. Модификация генетического эффекта гамма-облучения электрическим током. — Генетика, 1983, 19, с. 64—67. 2. Blobel C., Potter V. K. Distribution of radioactivity between the acid soluble pool and the pools of RNH in the nuclear nonsedimentable and ribosome fractions of rat liver after a single injection of labeled orotic acid. — Biochim. biophys. Acta, 1968, 166, p. 48—67. 3. Спирин А. С. Спектрофотометрическое определение суммарного количества нуклеиновых кислот. — Биохимия, 1958, 23, № 4, с. 656—662.

Поступила в редколлегию 01.12.84.

УДК 577.37:576.312

Т. В. КОЛУПАЕВА, В. Г. ШАХБАЗОВ, д-р биол. наук

О ВЛИЯНИИ НЕКОТОРЫХ КАТИОНОВ НА ПОКАЗАТЕЛЬ ЭЛЕКТРООТРИЦАТЕЛЬНОСТИ КЛЕТОЧНЫХ ЯДЕР

При исследовании электрокинетических свойств клеточных органоидов методом электрофореза было установлено, что ядро, хроматин, ядрышко несут, как правило, отрицательный заряд.

Согласно работе [1] в клетках растений наряду с анодными ядрами часто встречаются и катодные. Причем их соотношение определяется генотипом, физиологическим состоянием, стадией онтогенетического развития и зависит от ряда физических и химических факторов.

При изучении влияния ионов металлов на электрокинетический потенциал клеток микроорганизмов [2] было показано, что катионы металлов вызывают снижение электрического заряда клеток, адсорбируясь на их поверхности и нейтрализуя отрицательно заряженные группы. С увеличением концентрации ионов может происходить не только снижение потенциала, но и изменение его знака.

Нами изучено действие ионов Na^+ , K^+ , H^+ . Препараты подвергались действию 0,2 %-ных растворов солей NaCl и KCl и HCl с рН 3 в течение 20 мин. Исследования проводили на клетках буккального эпителия человека методом внутриклеточного микроэлектрофореза в режиме: 20 В/см, 0,1 мА. Донорами клеток были лица разного пола в возрасте от 21 г. до 60 лет. Заметные половые различия изучаемого показателя не обнаружены. Результаты приведены в таблице.

Возраст доноров, лет	Вариант	Количество изученных клеток	Ядра клеток, %	
			электроотрицательные	электроположительные
I группа 21—25	Контроль	500	68,9±2,1	
	Натрий	800	62,1±1,7	
	Калий	800	60,0±1,7	
	Водород	900		43,0±1,6
II группа 35—40	Контроль	1000	58,0±1,6	
	Натрий	400	51,5±2,5	
	Калий	400	51,0±2,5	
	Водород	1594		25,5±1,1
III группа 50—60	Контроль	600	33,0±1,9	
	Натрий	600	30,8±1,9	
	Калий	600	24,3±1,7	
	Водород	400		32,3±2,3

Согласно таблице под действием ионов Na^+ и K^+ во всех обследованных возрастных группах происходит снижение показателя электроотрицательности клеточных ядер, а в присутствии H^+ ионов наблюдается смена заряда ядер на положительный. Этот эффект наиболее выражен у доноров третьей группы.

Полученные результаты свидетельствуют о закономерностях в формировании электрического заряда клеточных ядер.

Список литературы: 1. *Шахбазов В. Г., Чешко В. Ф.* Развитие представлений о биохимических и биофизических механизмах эффекта гетерозиса. — *Биохимия животных и человека*, 1984, вып. 8, с. 21—30. 2. *Кононенко К. И., Чайкина Л. А.* Влияние ионов металлов на электрический заряд клеток. — *Биофизика*, 1970, 15, вып. 6, с. 1127—1129.

Поступила в редколлегию 01.12.84.

УДК 577.222.8:581.14

Л. В. КОТЕНКО, В. Г. ШАХБАЗОВ, д-р биол. наук

ИЗМЕНЕНИЯ СЕКСУАЛИЗАЦИИ ГИБРИДНЫХ И СОРТОВЫХ ОГУРЦОВ ПРИ ТЕМПЕРАТУРНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ НА СЕМЕНА ПЕРЕД ПОСЕВОМ

В растительном мире изменения половых признаков широко распространены. Известно, что, воздействуя на семена или растения различными факторами, можно значительно увеличить урожай сельскохозяйственных культур [1]. Исследований пола у растений в связи с гетерозисом очень мало, и они касаются вопросов селекции на гетерозис [2].

Нами изучалась реакция огурцов гетерозисного гибрида Успех 221 и его родительских форм Посредник 96 и Рустем на воздействия экстремальных температур. Обработка семян перед посевом температурами 55 и 58 °С проведена по методу термотеста [3]. В варианте с температурой 5 °С семена помещали в холодильник на 6 ч в течение 3 дней. Посев проводили рядковым способом. Показателем реакции служит отношение количества соцветий разных полов, выраженное в процентах.

В 1982 г. у всех трех форм как в контроле, так и в опыте увеличилось количество женских соцветий (таблица), чему спо-

Год	Варианты опыта	Посредник 96		Рустем		Успех 221	
		♀	♂	♀	♂	♀	♂
1981	Контроль	47,7	52,3	24,4	75,6	47,2	52,8
	5°	54,4	45,6	23,1*	76,9*	56,2	43,8
	55°	44,5	55,5	20,4	79,6	44,4	55,6
	58°	45,1	54,9	20,6	79,4	54,9	45,1
1982	Контроль	56,9	43,1	30,9	69,1	56,7	43,3
	5°	58,3*	41,7*	31,3*	68,7*	66,2	33,8
	55°	61,6	38,4	31,7*	68,3*	51,1	48,9
	58°	59,8	40,2	29,5*	70,5*	65,0	35,0

* Различия между контролем и опытом статистически недостоверны.

собствовали более благоприятные условия развития (повышенная влажность) растений, по сравнению с засушливым летом 1981 г. Характер изменений в соотношении полов в опытных вариантах относительно контроля у родительских форм проти-

воречив. Это особенно заметно у феминизированного сорта Посредник 96. У сорта Рустем в опыте 1981 г. усиливался присущий ему мужской пол, и почти не изменялось соотношение полов в 1982 г. Для гибрида характерна однозначная реакция: усиление женского пола при обработке семян температурами 5 и 58 °С и усиление мужского — при 55 °С. Причем процент увеличения женских соцветий в опытных вариантах по сравнению с контролем у гибрида выше, чем у родительских сортов (на 9,5—7,7 % и 6,7—3,1 % соответственно). Итак, выявлена генетическая обусловленность реакции огурцов на воздействие экстремальных температур. Наибольшее изменение в сторону женской сексуализации отмечено у гибрида.

Список литературы: 1. Минина Е. Г. Смещение пола у растений воздействием факторов внешней среды. — М.: Изд-во АН СССР, 1952.— 198 с. 2. Мауриня Х. А. Значение физиологических особенностей родительских растений для получения гетерозисного потомства кукурузы.—Уч. зап. ЛГУ им. П. Стучки, 1965, 71, с. 79—97. 3. Шахбазов В. Г., Попель А. Т. Теплоустойчивость гибридных семян и методика ее определения. — В кн.: Биологические основы повышения качества семян. М.: Наука, 1964, с. 29—33.

Поступила в редколлегию 06.12.84.

УДК 577.222.8:591.5:577.37

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

МОДИФИКАЦИЯ ТЕПЛОУСТОЙЧИВОСТИ ЛИНИЙ И ГИБРИДОВ ДРОЗОФИЛЫ ДЕЙСТВИЕМ ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКОГО ПОЛЯ

Устойчивость линий и гибридов дрозофилы и других объектов к действию различных физических факторов изучалась на кафедре генетики и цитологии ХГУ ранее. Установлена повышенная устойчивость гетерозисных гибридов к действию высокой температуры, УФ-радиации и других факторов [1, 2]. Нами изучены реакции гетерозисных гибридов *Drosophila melanogaster* на действие электростатического поля (ЭСП). Для выявления реакции линий и гибридов на действие поля был применен метод термотеста [2].

Объекты исследования — мутантные линии *b*, *j*, *pr*, *cn*, инбредная линия Домодедовская-32 (Д-32) и гибриды F_1 между мутантными линиями и линией Д-32. Опытные мухи подвергались воздействию ЭСП ($E = 13\,500$ В/м) на эмбриональной и личиночных стадиях. Опытные и контрольные мухи содержались в экранирующих камерах. Теплоустойчивость (ТУ) определяли по проценту выживших мух после прогрева (41 °С, 20 мин).

Данные о ТУ линий и гибридов дрозофилы и об изменении ее под влиянием ЭСП приведены в таблице. В контроле гетеро-

Линии, гибриды	Самки		Самцы	
	ТУ, % контроль	ТУ, % опыт	ТУ, % контроль	ТУ, % опыт
Д-32	18,2±3,1	8,8±1,9	25,6±3,5	9,2±2,1
<i>b</i>	13,9±2,8	16,0±3,8	22,7±3,4	6,0±2,6
<i>b</i> ×Д-32	39,2±4,9	12,8±3,8	40,4±4,8	9,6±3,3
<i>j</i>	37,0±3,3	10,6±2,4	34,2±3,5	14,7±2,8
<i>j</i> ×Д-32	36,8±3,6	9,7±3,1	53,1±3,8	10,9±4,2
<i>pr</i>	65,2±10,1	48,2±9,8	81,8±8,4	59,3±9,6
<i>pr</i> ×Д-32	59,2±7,1	65,4±9,5	61,9±7,6	40,0±10,0
<i>cn</i>	13,8±2,9	16,9±3,3	13,7±3,1	9,5±2,9
<i>cn</i> ×Д-32	18,0±2,3	14,3±3,7	27,3±4,3	18,3±4,6

зисный эффект по ТУ проявляет гибрид *b*×Д-32, а также гибридные самцы *j*×Д-32. ЭСП угнетающе действует на линии и гибриды дрозофилы, понижая их ТУ. Однако угнетающее действие ЭСП в большей степени проявляется у гетерозисных гибридов. Под влиянием поля у них исчезает гетерозисный эффект. В этом состоит особенность действия ЭСП по сравнению с влиянием других физических факторов. Большую чувствительность гетерозисных гибридов дрозофилы к действию ЭСП можно объяснить более высокими биоэлектрическими потенциалами и поверхностными зарядами клеточных ядер гибридов, вследствие чего они испытывают более интенсивное влияние поля. Этот вывод согласуется с данными, полученными ранее прямыми методами на растениях [1, 3].

Список литературы: 1. Шахбазов В. Г. Биофизический аспект в изучении явлений инбредной депрессии гетерозиса. — Молекул. генетика и биофизика, 1976, вып. 1, с. 110—117. 2. Шахбазов В. Г. Гетерозис и теплоустойчивость. — Бюл. Моск. отд-ние ин-та природы. Отд. биол., 1966, 71, вып. 3, с. 120—127. 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.

Поступила в редколлегию 26.01.85.

УДК 577.222.8:591.3

А. В. НЕКРАСОВА, канд. биол. наук, М. ГОНСАЛВЕС

ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА РАЗВИТИЕ И ДЛИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ ЛИНИЙ И ГИБРИДОВ DROSOPHILA MELANOGASTER

Изучение динамики онтогенеза при гетерозисе у межлинейных гибридов дрозофилы показало, что гибриды отличаются от родительских линий ускоренным развитием на предимагиналь-

ных стадиях при значительно удлиненной стадии имаго*. Это противоречит представлению о том, что ускоренное развитие приводит к меньшей продолжительности жизни.

Исследовали длительность жизни имаго инбредных линий Харьковская (X) и Canton-S (C-S), а также прямых и рецессивных гибридов F_1 ($X \times C-S$) и F_1 ($C-S \times X$). Развитие мух от яйца до имаго проходило при разных температурах: 22 °C (контроль) и 29 °C (опыт). Продолжительность жизни имаго определяли при 22 °C.

Высокая температура значительно ускоряет предимагинальные стадии развития дрозофилы. Развитие от яйца до имаго в опытном варианте проходило на 5—6 сут быстрее. Продолжительность жизни имаго в опытном варианте была значительно ниже, чем в контроле. Отрицательное влияние высокой температуры особенно четко проявилось в инбредных линиях. В опытном варианте средняя продолжительность жизни самок линии Canton-S была в 3,4, а самцов в 3,6 раза меньше, чем в контроле. У мух линии Харьковская продолжительность жизни имаго в опыте снизилась у самок на 19,2 %, у самцов — на 53,4 %. Уменьшение продолжительности жизни в группе гибридов менее выражено. В опытном варианте количество живых мух на 25 сут в этой группе лишь на 11—27 % меньше по сравнению с контролем, у инбредных линий на 53—62 % (таблица).

Линия, гибрид	Пол	Живые особи на 25 день, %	
		опыт	контроль
Canton-S (C-S)	♀	0,5	62
	♂	0,5	54
Харьковская (X)	♀	21,0	24
	♂	2,0	58
F_1 (C-S $\times$ X)	♀	78,0	58
	♂	58,0	85
F_1 (X $\times$ C-S)	♀	66,0	77
	♂	60,0	78

Продолжительность жизни гибридных имаго дрозофилы значительно больше, чем у мух инбредных линий, как в контрольном, так и в опытном варианте.

Таким образом, воздействие высокой температуры на протяжении предимагинальных стадий дрозофилы приводит к уменьшению продолжительности жизни имаго. Реакция на это воздействие по-разному выражена у мух инбредных линий и гибридов. Менее значительное уменьшение продолжительности

* Некрасова А. В., Шахбазов В. Г. Длительность онтогенеза и возрастные изменения плодовитости и теплоустойчивости дрозофилы в связи с эффектом гетерозиса. — Цитология и генетика, 1981, 15, № 3, с. 49—53.

жизни у гибридов подтверждает факт их повышенной устойчивости и свидетельствует о том, что особенности онтогенеза гибридов определяются не интенсивностью метаболизма, а более сложными различиями в функционировании генома.

Поступила в редколлегию 05.01.85.

УДК 595.773.4:575.222.78

Л. И. ВОРОБЬЕВА

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ МУТАЦИЙ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ ЛИНИЙ И ГИБРИДОВ ДРОЗОФИЛЫ

Исследования о влиянии генотипа на продолжительность жизни (ПЖ) имаго дрозофилы появились в начале XX века. Было установлено, что гибриды первого поколения от скрещивания дикой линии с мутантной имеют большую ПЖ по сравнению не только с мутантной, но и с дикой линией [1]. Как правило, внимание исследователей привлекают специфические эффекты отдельных мутантных генов и их сочетаний, где сравниваемые мутантные линии не были выравнены в генетическом отношении, что не исключало влияния других генов на ПЖ.

Рассмотрим влияние ряда мутаций в гомо- и гетерозиготном состоянии на ПЖ имаго *Drosophila melanogaster*. Использовали следующие мутантные линии: по хромосоме 1 — yctv (y — 0,0; ct — 20,0; v — 33,0); по хромосоме 2 — bvgbw (b — 48,5; vg — 67,0; bw — 104,5); по хромосоме 3 — seste (se — 26,0; st — 44,0; e — 70,7). Эти линии возвратно скрещивали с инбредной линией Canton-S (инбридинг — 119 поколений) 19 раз в течение 38 поколений [2]. Учет продолжительности жизни линий с «выравненными» генотипами и гибридов первого поколения с линией Canton-S проводили по общепринятой методике. Результаты эксперимента представлены в таблице. Согласно полученным данным му-

Линия, гибрид	Продолжительность жизни, дни		% по отношению к средней ПЖ для родительских форм	
	♀	♂	♀	♂
Canton-S	45,3±1,8	47,5±1,3		
yctv	14,9±1,3	14,7±1,6		
F ₁ yctv×C-S	44,5±1,6	26,5±0,7	114,4	67,5
bvgbw	20,1±1,6	16,9±1,9		
F ₁ bvgbw×C-S	47,0±0,9	36,5±0,8	117,4	85,3
seste	29,0±1,5	27,1±0,9		
F ₁ seste×C-S	42,1±1,0	41,1±1,9	108,1	104,5

тантные линии и их гибриды имеют меньшую ПЖ по сравнению с инбредной линией Canton-S, за исключением гибрида $bvgbw \times C-S$. Причем самки мутантных линий и гибридов, как правило, имеют большую ПЖ по сравнению с самцами.

По отношению к средней ПЖ родительских форм эффект гетерозиса достоверно наблюдается только у самок. Самцы гибридов в данном случае имеют меньшую ПЖ за исключением гибрида $seste \times C-S$, но это различие недостоверно. Полученные данные согласуются с исследованиями Л. Н. Зиминой [3], что, по-видимому, объясняется «выравненными» генотипами родительских форм.

Список литературы: 1. Pearl R., Parker S. L., Gonzalez B. M. Experimental studies on the duration of life. — J. Am. Naturalist, 1923, 57, p. 153—192. 2. Воробьева Л. И., Страшнюк В. Ю., Шахбазов В. Г. О роли мутаций по второй хромосоме в эффекте гетерозиса у дрозофилы. — К., 1983. — Рукопись деп. Укр. НИИНИИ, № 602, Ук-Д83. 3. Зиминая Л. Н. Межлинейный гетерозис у дрозофилы. — Журн. общ. биологии, 1977, 38, № 6, с. 595—602.

Поступила в редколлегию 05.01.85.

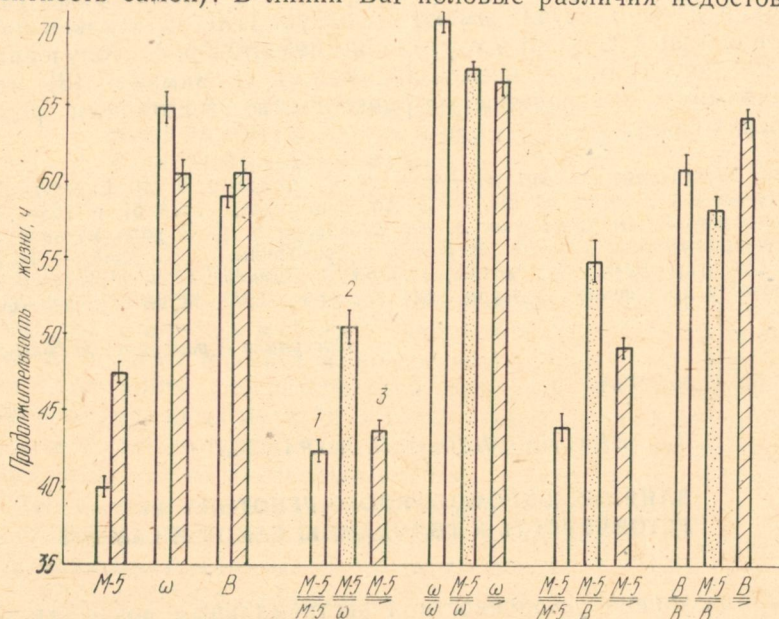
УДК 575.11:595.773.4

З. Т. НИКОЛЬЧЕНКО, А. Н. ЖУРАВЛЕВ

ВЛИЯНИЕ X-ХРОМОСОМНОГО ГЕНОТИПА НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ГОЛОДАНИЮ САМОК И САМЦОВ

При изучении устойчивости к экстремальным воздействиям самок и самцов организмов с мужской и женской гетерогаметностью была установлена большая резистентность гомогаметного пола [1]. Последнее дает основание объяснить наблюдаемые половые различия в жизнеспособности наличием сцепленных с полом леталей, что согласуется с гипотезой, изложенной в работе [2]. Чтобы выяснить влияние I группы сцепления на жизнеспособность особей мужского и женского пола, изучали сравнительную резистентность имаго *D. melanogaster* Mg., различающихся X-хромосомным генотипом. Критерием служила средняя продолжительность жизни мух при полном голодании по методике, описанной в работе [3]. Исследования проводили на мутантных линиях, маркированных по разным локусам X-хромосомы: white (w), Bar (B) и Меллер-5 (M-5). Различия в X-хромосомном генотипе заключались в гетеро-, геми- и гомозиготности по всем локусам X-хромосомы на фоне рекомбинантных, но однотипных остальных групп сцепления. Последнее достигалось путем скрещивания самок линий white и Bar с самцами линии Меллер-5 по методике, предложенной Меллером для учета сцепленных с полом леталей [4]. Данная схема генетического анализа была продолжена нами до третьего поколения.

Результаты исследований представлены на рисунке. Согласно полученным данным, направленность половых различий в резистентности генетически детерминирована, поскольку она неодинакова в разных мутантных линиях. Так, в линии white отмечена обнаруженная ранее закономерность (большая резистентность самок). В линии Bar половые различия недостовер-



Продолжительность жизни при голодании час имаро *D. melanogaster* Mg: 1 — ♀♀; гомозиготы по X-хромосоме; 2 — ♀♀; гетерозиготы по X-хромосоме; 3 — ♂♂; гемизиготы по X-хромосоме

ны. В линии Меллер-5 самки оказались менее устойчивыми к голоданию, чем самцы, возможно, из-за отсутствия кроссинговера в X-хромосоме в связи с наличием двух инверсий в ней [4]. Существенное влияние на характер половых различий в жизнеспособности оказывает взаимодействие разных геномов при скрещивании, что также подтверждает генотипическую детерминацию половых различий в резистентности. Определенный вклад в детерминацию резистентности вносит I группа сцепления, на что указывают различия в средней продолжительности жизни при голодании между гетеро-, гомо- и гемизиготами по X-хромосоме. По-видимому, эта группа сцепления играет существенную роль в детерминации разной жизнеспособности гомо- и гетерогаметного пола. В то же время есть основание полагать, что сцепленные с полом летали не являются основной причиной меньшей жизнеспособности гетерогаметного пола, так как геми- и гомозиготы по всем локусам X-хромосомы отличаются разной резистентностью.

Список литературы: 1. Сало З. Т. Связанные с полом различия в реакции на повреждающие факторы у организмов с разным типом генетической детерминации пола. — Материалы 2-го съезда Укр. о-ва генетиков и селекционеров: Генетика и селекция на Украине. Ч. 2. — К.: Наук. думка, 1971, с. 64.
2. Huxley J. S. Sex determination and related problems. — Med. Sci. Abstr. and Rev., 1924, 10, N 2, p. 91—124. 3. Сало З. Т., Нехаенко Р. Я. О различиях в устойчивости в голоданию особей разного пола дрозофилы и тутового шелкопряда. — Вестн. Харьк. ун-та, 1970, № 39. Сер. биол., вып. 2, с. 32—36.
4. Muller H. J., Oster J. J. Some mutational technique in Drosophila. — In: Methodology in basisge genetics, San-Francisco, 1968, p. 249—278.

Поступила в редколлегию 18.12.84.

УДК 576.3:581.14

Н. Г. ШЕСТОПАЛОВА, д-р биол. наук,
А. А. МАТЮШЕНКО, Л. Н. ГОЛОВИНА

ВЛИЯНИЕ ЕСТЕСТВЕННОГО СТАРЕНИЯ СЕМЯН НА ПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ В КОРНЕВОЙ МЕРИСТЕМЕ ПРОРОСТКОВ РЖИ

Для развития теоретических представлений о жизнеспособности, качестве и долголетию семян важны исследования кинетики пролиферативных процессов на самых ранних этапах онтогенеза растений. Ранее установлено, что уровень синхронности клеточных делений в тканях прорастающих семян является одним из объективных показателей их потенциальных возможностей в отношении урожайности и степени проявления гетерозиса у гибридов [1].

При изучении первой волны митозов в связи со старением семян мы сравнивали свежееубранные (контрольные) и хранившиеся разные сроки семена ржи сортов Харьковская-78 и Вятка. Учет митотических индексов (МИ) в тканях зародышевых корешков проводился с момента проявления первых митозов в течение 18—40 ч (в зависимости от варианта опыта). Приготовление временных давленных препаратов и их анализ осуществлялся по общепринятым методикам.

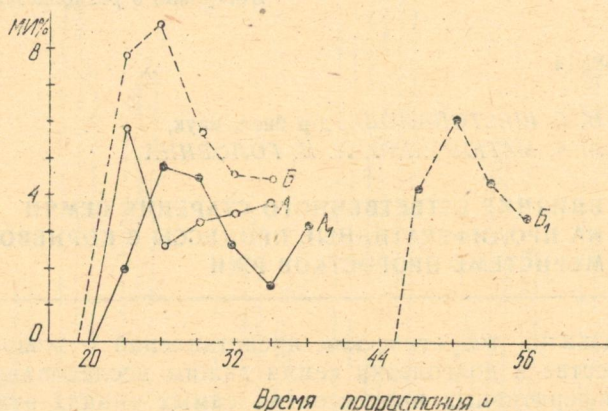
Результаты исследования показали, что клетки меристемы зародышевых корней свежееубранных семян начинают делиться через 18—20 ч после их замачивания. С высокой степенью синхронности они вступают в первый митоз и на 23—26 ч прорастания обнаруживается первый пик митотической активности, достигающий 5,8 % у сорта Харьковская-78 и 8,7 % у сорта Вятка (рисунки, а, б).

Вероятно, значительное количество одновременно делящихся клеток в первые часы роста связано с тем, что в тканях покоящихся зародышей семян ржи урожая 1982/83 гг. определенная часть клеток прекратила цикл в G₂-периоде. Такая гетеро-

генность клеток зародышей, обусловленная остановкой их в определенной фазе клеточного цикла при созревании семян, выявлена для меристем многих растений [2, 4].

В корневой меристеме проростков семян ржи, хранившихся в течение года в условиях лаборатории, первый пик митозов наступает на 3 ч позже, а МИ ниже, чем в контроле и составляет 4,6 % ($t=3,8$) (рисунок, А₁).

Для первой волны митозов контроля характерны крутой подъем и резкий спад кривой, т. е. четко выражена ритмич-



Первая волна митозов в корневой меристеме проростков ржи

ность делений. Так, через 3 ч после наступления максимального значения МИ (Харьковская-78, контроль, 29 ч роста), снижение этого показателя произошло на 55 %, а в опытном варианте МИ на 36 % снизился только через 9 ч (35 ч роста).

С увеличением срока хранения время наступления первых митозов возрастает; появление их зарегистрировано через 40—44 ч после замачивания семян (рисунок, Б₁; урожай 1970 г.). Клетки достаточно синхронно вступают в первый митоз, но максимальное значение МИ составляет 6,1 % против 8,7 % в контроле ($t=4,2$; рисунок, Б).

Через 3 ч после наступления первого цикла, МИ снижается в контроле на 35 %, а в меристеме опытных семян на 27 %.

Обобщая полученные данные, можно заключить, что более высокое в контроле значение первого цикла митозов и менее существенное снижение митотического индекса в последующие часы в опыте свидетельствует об ослаблении синхронности пролиферативных процессов при старении семян. Последнее в свою очередь отразится на конечной урожайности растений — она уменьшится.

По мере увеличения сроков хранения семян снижается всхожесть, а в тканях прорастающих семян уменьшаются делящиеся клетки в первые часы роста — до полного исчезновения,

В условиях естественного старения при хранении семян нарушение нормальных функций прежде всего происходит, по-видимому, в клетках, находящихся в G_2 -периоде цикла. G_1 -клетки покоящегося зародыша продвигаются по циклу и значительно (на 20—30 ч) позже, чем клетки свежесобранных семян, вступают в первый митоз.

Данные о высокой чувствительности G_2 -клеток к фактору старения могут быть полезны при определении условий, способствующих поддержанию высокой жизнеспособности семян при их хранении.

Список литературы: 1. Шестопалова Н. Г. Репродукция клеток при гетерозисе. — Х.: Вища шк. Изд-во при Харьк. ун-те, 1981. — 82 с. 2. Богданов Ю. Ф., Ляпунова Н. А., Шерудило А. И. Цитоморфометрическое и радиоавтографическое исследование состава клеточной популяции в меристеме семян и корешков гороха. — Цитология, 1967, 9, № 5, с. 569—576. 3. Avari S., Brunori A., D'Amato F. Sequential development of meristems in the embryo of *Triticum durum*. — Develop. Biol., 1969, 20, N4, p. 368—377. 4. Савин В. Н., Артемьева В. В. Влияние условий формирования семян на зимостойкость растений озимой пшеницы. — Физиология и биохимия культурных растений, 1983, 15, № 1, с. 73—76.

Поступила в редколлегию 07.12.84.

УДК 576.308

О. В. ОРЛОВА, Н. А. КРАВЧЕНКО, С. А. ДОМАШЕНКО

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
НЕКОТОРЫХ УЛЬТРАСТРУКТУР КЛЕТОК КОРНЕВОЙ
МЕРИСТЕМЫ ИСХОДНЫХ ФОРМ И ГИБРИДОВ
ПОДСОЛНЕЧНИКА**

При изучении ультраструктур клеток гетерозисного гибрида подсолнечника и его исходных форм объектом служила меристема корешков проростков подсолнечника гетерозисного гибрида HS 62×S Одесская популяция и слабогетерозисного гибрида HS 308×S Одесская популяция и их исходных форм.

Была определена площадь (S) ядра, S ядрышка, ядерно-ядрышковое отношение, S митохондрий, пластид и вакуолей, количество липидных капель. На светооптическом уровне определяли содержание двуядрышковых ядер и ядер с ядрышками одинакового размера. Согласно работе [1] эти величины свидетельствуют о синхронной активности гомологичных локусов ядрышковых организаторов.

У гетерозисного гибрида S ядра и S ядрышка больше, а ядерно-ядрышковое отношение ниже, чем у исходных форм (таблица). Тенденция к повышению S митохондрий и пластид прослеживается для гетерозисного гибрида, по содержанию липидных капель и вакуолей он занимает промежуточное положение между родительскими формами. Эти данные косвенно отражают