

У-14038  
✓ П299575

# ВЕСТНИК

---

ХАРЬКОВСКОГО  
УНИВЕРСИТЕТА

№ 195

ПРОБЛЕМЫ ОНТОГЕНЕЗА, ГЕТЕРОЗИСА  
И ЭКОЛОГИИ ЖИВОТНЫХ

1 р. 10 к.



Вестн. Харьк. ун-та, 1980, № 195, 1—105+7.

V.N. Karazin Kharkiv National University



00279830

7

ВЕСТНИК ХАРЬКОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

№ 195

Проблемы онтогенеза, гетерозиса и экологии животных

Редактор А. Л. Алиева  
Художественный редактор В. Б. Мартыняк  
Технический редактор Л. Т. Момот  
Корректор Н. В. Певко

Информ. бланк № 4398

Сдано в набор 01.06.79. Подп. в печать 18.01.80.  
БЦ 09045. Формат 60×90/16. Бумага типогр. № 3.  
Лит. гарн. Выс. печать. 7 усл. печ. л. 8,2 уч.-изд. л.  
Тираж 1000 экз. Изд. № 728. Зак. 1238. Цена 1 р. 10 к.

Издательство при Харьковском государственном  
университете издательского объединения «Вища школа»,  
310003, Харьков-3, ул. Университетская, 16.

Харьковская городская типография № 16 Областного  
управления по делам издательств, полиграфии  
и книжной торговли. 310003, Харьков-3, ул. Универ-  
ситетская, 16.

МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО  
СПЕЦИАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ УССР

---

**ВЕСТНИК**  
ХАРЬКОВСКОГО  
УНИВЕРСИТЕТА  
№ 195

---

ПРОБЛЕМЫ ОНТОГЕНЕЗА, ГЕТЕРОЗИСА  
И ЭКОЛОГИИ ЖИВОТНЫХ

---

Основан в 1964 г.

ХАРЬКОВ  
ИЗДАТЕЛЬСТВО ПРИ ХАРЬКОВСКОМ  
ГОСУДАРСТВЕННОМ УНИВЕРСИТЕТЕ  
ИЗДАТЕЛЬСКОГО ОБЪЕДИНЕНИЯ «ВИЩА ШКОЛА»  
1980

**Проблемы онтогенеза, гетерозиса и экологии животных.** — Вестн. Харьк. ун-та, № 195.—Харьков: Вища школа. Изд-во при Харьк. ун-те, 1980, 105+7 с.

В вестнике представлены результаты исследований кафедр биологического факультета и отделов НИИ биологии Харьковского университета по физиологии и биохимии, генетике, систематике, экологии и географии животных организмов. Рассмотрены проблемы возрастной физиологии, биохимии и биофизики гетерозиса, биоэкологического изучения фауны беспозвоночных и позвоночных животных, влияния антропогенного фактора на ее формирование и вопросы охраны среды. Публикуются сведения из истории развития Музея природы в Харьковском университете.

Для научных работников и аспирантов, изучающих проблемы современной биологии.

Списки лит. в конце статей.

*Редакционная коллегия:* акад. АН УССР В. Н. Никитин (*отв. ред.*), проф. В. Г. Шахбазов (*зам. отв. ред.*), проф. П. А. Калиман (*зам. отв. ред.*), проф. Е. В. Парина, проф. Н. Г. Шестопалова, канд. биол. наук, В. С. Солодовникова (*отв. секр.*), доц. А. С. Лисецкий, доц. В. П. Кудокоев.

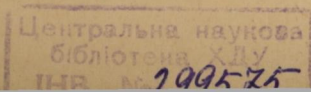
Печатается по решению Ученого совета биологического факультета Харьковского государственного университета от 17 ноября 1978 г.

*Адрес редакционной коллегии:* 310077, Харьков-77, пл. Дзержинского, 4, Харьковский государственный университет, биологический факультет, тел. 40-18-50, 40-18-71, 40-17-49.

Редакция естественнонаучной литературы:

В 21005—002  
M226(04)-80

© Харьковский  
государственный  
университет, 1980



УДК 577.1:547.96:591.1.15:612.6

В. Н. НИКИТИН, академик АН УССР, д-р биол. наук,  
А. И. КЛИМЕНКО, канд. биол. наук, А. Ф. КОЧЕНКОВ,  
Л. Н. БЛОК, канд. биол. наук, Г. А. НЕСТЕРЕНКО, канд. биол. наук,  
Л. Я. ПОПОВА, канд. биол. наук, Г. А. АНОХИНА, канд. мед. наук,  
Л. М. БАСАНЕЦ, канд. биол. наук, Н. С. БЕЛОКОНЬ,  
канд. биол. наук, А. Б. МАЛЫШЕВ, канд. биол. наук,  
М. Я. ШЕВЦОВА, канд. биол. наук, Н. А. БАБЕНКО  
Отдел молекулярной биологии и биофизики онтогенеза НИИ биологии ХГУ,  
ИРЭ АН УССР

## ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МАКРОМОЛЕКУЛЯРНОГО СОСТАВА ЯДЕРНЫХ СТРУКТУР И ТОТАЛЬНОГО ЯДРА КЛЕТОК ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС

Изменениям макромолекулярного состава целостного ядра и ядерных структур, особенно хроматинового аппарата ядер клеток, характера и интенсивности межмолекулярных связей в них и динамике онтогенеза матричной функции ядер и ее нейрогуморальной регуляции придается большое значение в ведущей группе современных теорий старения [1]. Впервые положение о ведущей роли изменений в составе генома и нарушений его матричной функции в процессах онтогенеза было выдвинуто одним из авторов в 1940 [2] и 1954 [3] годах.

В настоящей работе представлены данные о возрастных изменениях макромолекулярного состава ядер клеток печени, состава и функциональной активности генетического аппарата у белых крыс в условиях нормы и при ряде воздействий на организм. Исследовались 1-, 3-, 12- и 24-месячные животные.

Установлено, что значительное увеличение в онтогенезе объема ядер гепатоцитов (с 116 до 299 мк<sup>3</sup>) у крыс исследованных возрастных групп сопровождается повышением во второй половине жизни животного концентрации ДНК в цельной ткани печени и в каждом клеточном ядре. Концентрация РНК в тканях уменьшается к 3-месячному возрасту, мало изменяясь на более поздних этапах индивидуального развития. Увеличение массы ядра сопровождается накоплением в нем различных фракций белков (до 138%), особенно богатых аргинином гистонов и

негистоновых белков (НГБ). С возрастом увеличивается отношение НГБ/гистоны и соотношение фракций белков с ДНК как в ядрах гепатоцитов, так и в цельной ткани печени [4].

Под действием половых гормонов — тестостерона и андростанозола у молодых (1—3-месячных) крыс в цельной ткани и ядерной массе значительно повышается концентрация РНК. В этом же возрасте увеличивается содержание суммарного белка в ядерной массе и в ней происходит перераспределение фракций белков — падает отношение аргининбогатых к лизинбогатым гистонам и возрастает содержание НГБ. У взрослых животных описанных изменений не происходит [5]. Инъекции инсулина повышают концентрацию РНК в ядрах клеток и цельных гепатоцитах у животных всех исследованных возрастных групп при изменении соотношения между белковыми фракциями и ДНК.

Учитывая важную роль хромосомальных белков в поддержании структуры хроматинового комплекса и в регуляции активности генома, представляется важным изучить макромолекулярный состав хроматина и особенно его белков, различных по транскрипционной активности фракций хроматина у интактных животных разного возраста, а также при различных воздействиях на организм. Установлено, что с возрастом хроматин обедняется РНК и негистоновыми белками; содержание гистонов, стабильное до позднего зрелого возраста, несколько повышается к старости [6]. Электрофоретический анализ гистонов компактного (низкоактивного) и диффузного (активного) хроматина интактных крыс показал, что в обеих фракциях хроматина присутствуют все основные классы этих белков и их набор не изменяется на всех этапах постнатального онтогенеза животных. Электрофоретическая подвижность фракций этих белков также не претерпевает возрастных изменений. О консерватизме набора гистонов и их электрофоретической подвижности у животных разного возраста свидетельствуют также результаты исследования этих белков на уровне клеточных ядер и тотальных препаратов хроматина [7].

Изучение гетерогенности НГБ хроматина с помощью электрофореза показало (рис. 1), что их набор в обеих фракциях хроматина различен [8]. При совместном электрофорезе в полиакриламидном геле (ПААГ) гистонов и негистоновых белков компактного хроматина общее количество зон в геле в зависимости от возраста подопытных животных составляет 20—23, причем присутствие некоторых из них имеет возрастную специфику. Электрофорез в аналогичных условиях белков диффузного хроматина показал их значительно более высокую гетерогенность по сравнению с белками компактного хроматина. Наиболее заметно эти различия выявляются при сопоставлении зон в геле, где локализуются белки с высоким молекулярным весом

и замедленной электрофоретической подвижностью. Так, если в компактном хроматине в этой области геля в зависимости от возрастной группы животных локализовано 7—10 электрофоретических зон, то для диффузного хроматина это число составляет 31—32 зоны. У наиболее старых животных

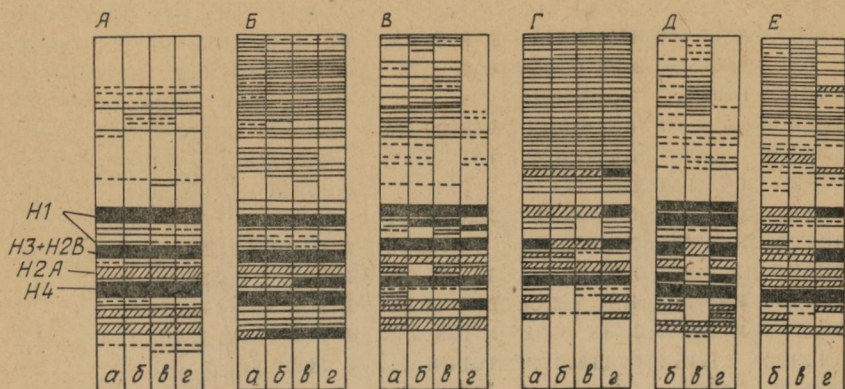


Рис. 1. Схема электрофореграмм в ПААГ белков фрагментированного хроматина печени крыс разного возраста:

А, В, Д — низкоактивный хроматин (компактный); Б, Г, Е — активный хроматин (диффузный);

А, Б — интактные животные; В, Г — влияние тироксина; Д, Е — влияние периодического калорийно-недостаточного питания (возраст животных, месяцы: а — 1; б — 3; в — 12; г — 24).

(24-месячных) общее число зон в геле диффузного хроматина составляет 41, в то время как у более молодых животных (1—12-месячных) оно равняется 44—45. В диффузном хроматине не наблюдается возрастных изменений гетерогенности низкомолекулярных НГБ с высокой электрофоретической подвижностью (движущихся впереди гистонов Н4), в то время как в компактном хроматине такие изменения имеют место. Изменение набора НГБ с возрастом животных на уровне тотального хроматина показано для печени крыс и кур.

Параллельная разгонка препаратов НГБ фракций хроматина печени животных разного возраста и отдельно изолированной из ядер клеток печени этих животных РНК-полимеразы показала, что часть электрофоретических зон в геле, занимаемых белками с большим молекулярным весом и пониженной электрофоретической подвижностью может принадлежать РНК-полимеразам.

Установлено, что после инъекций тироксина в компактном хроматине печени животных всех возрастных групп (за исключением старых) относительное содержание НГБ заметно нарастает, а содержание гистонов и отношение гистоны/НГБ

понижается. Такая же динамика отмечена и в активном хроматине 3-месячных крыс; однако у неполовозрелых животных в этой фракции хроматина относительное содержание НГБ под влиянием тироксина несколько падает, а содержание гистонов и величина отношения гистоны/НГБ немного нарастают. Таким образом, реакция животных на тироксин имеет заметно выраженную возрастную специфику: хроматин старых животных практически не изменяет своего состава при введении гормона.

По данным электрофореза [8], в компактном хроматине обработанных тироксином 1-, 3- и 12-месячных животных по сравнению с интактными животными тех же возрастных групп заметно увеличивается состав НГБ с высоким молекулярным весом локализованных в верхней половине столбика ПААГ. У старых (24-месячных) крыс в этой области геля количество электрофоретических полос заметно не отличается от контроля, однако их топография в геле по сравнению с нормой иная. Некоторое уменьшение гетерогенности белков отмечается под воздействием тироксина в зоне локализации в геле минорных компонентов лизинбогатых гистонов Н1 у животных 3- и 24-месячного возраста, а также в группе низкомолекулярных белков, обладающих более высокой, чем гистоны Н4, электрофоретической подвижностью. В диффузном хроматине обработанных тироксином животных общее количество электрофоретических зон в геле несколько понижается (за исключением 24-месячных крыс) и составляет для 1-, 3- и 12-месячных соответственно 41, 40 и 40 зон (для нормы — 45, 44 и 45). У старых животных общее число электрофоретических зон возрастает под влиянием тироксина от 41 до 43.

У животных, периодически получающих низкокалорийное, но полноценное по составу питание, приводящее к сдерживанию роста и продлению их жизни, обе фракции хроматина содержат все пять основных классов гистонов с электрофоретической подвижностью, аналогичной для этих белков у интактных животных. У крыс с задержанным ростом в условиях нормы и при обработке тироксином меняется относительное содержание отдельных фракций гистоновых белков. В этих условиях в компактном хроматине молодых и взрослых животных происходит существенное обогащение НГБ с высоким молекулярным весом. У старых животных спектр этих белков незначительно отличается от такового для нормальных крыс. По сравнению с нормой в диффузном хроматине животных с задержанным ростом некоторые фракции НГБ исчезают: у интактных 3-, 12- и 24-месячных крыс их общий спектр представлен в ПААГ соответственно 44-й, 45-й и 41-й зоной, а у подопытных животных он уменьшается соответственно до 40-й, 38-й и 28-й зон.

Таким образом, в условиях нормы и при воздействии на организм тироксина и периодического калорийно-недостаточного

питания как компактный, так и диффузный хроматин печени крыс содержат все пять классов гистоновых белков на всех изученных этапах постнатального онтогенеза, но гистон/гистоновые соотношения при этом заметно изменяются. Можно допустить, что консерватизм в наборе гистонов, показанный в данной работе для различных фракций хроматина, а также для цельных ядер клеток печени и суммарного хроматина интактных животных разного возраста и при различных воздействиях на организм, установленный нами ранее [7], является важным фактором стабилизации на должном уровне структуры хроматинового комплекса клеток. Изменение белок/белковых и белок/нуклеиновых соотношений, вероятно, может быть одним из важных путей регуляции информационного состояния и функциональной активности хроматинового комплекса. Исследования показали также, что у животных всех возрастных групп в изученных условиях диффузный хроматин значительно богаче негистоновыми белками, а в компактном хроматине основная масса белка представлена гистонами. В противоположность выраженному консерватизму в наборе гистонов спектр НГБ претерпевает некоторые возрастные сдвиги у интактных животных и заметно меняется при нагрузке тироксином и в условиях периодического недостаточно-калорийного питания. Учитывая возможное дерепрессорное влияние НГБ на активность генома, обогащение этими белками компактного хроматина у животных разного возраста (кроме старых) в условиях индукции тироксином и низкокалорийного питания может, вероятно, сдвинуть в ядре соотношение низкоактивный/активный хроматин в пользу последнего и повысить таким образом функциональные возможности всего хроматинового комплекса клетки.

По некоторым данным, ацетилирование гистонов понижает их репрессорные свойства в системе матричного синтеза РНК. Изучение динамики ацетилирования этих белков в процессе постнатального развития крыс показало (рис. 2), что наиболее интенсивно ацетилирование гистонов происходит в печени неполовозрелых животных. Об этом свидетельствует стремительное начальное включение меченого ацетата в белок и интенсивное его выведение в последующее время. Последнее характерно также и для молодых (3-месячных) животных. У взрослых и старых крыс ацетилирование гистоновых белков происходит менее интенсивно, о чем говорит более позднее по сравнению с неполовозрелыми животными начало нарастания включения ацетатной метки и замедленное ее выведение из гистонов после достижения максимального значения. Следует отметить, что наиболее высокий уровень ацетилирования гистоновых белков в печени неполовозрелых животных находится в прямой корреляции с более интенсивным по сравнению с уровнем синтеза РНК в печени неполовозрелых животных других возрастных групп, показанным в ряде исследований наших лабораторий. Прямая

корреляция этих двух процессов, вероятно, свидетельствует в пользу их тесной взаимосвязи и говорит в пользу важной роли процесса ацетилирования гистонов в регуляции их репрессорных потенций в матричном синтезе РНК.

Изучение полученных с помощью  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -зависимой

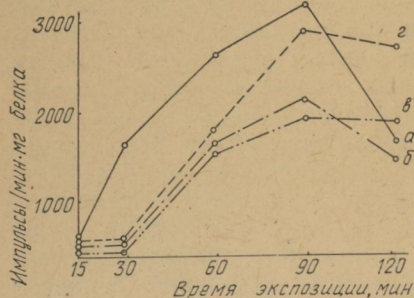


Рис. 2. Динамика включения  $2-^{14}\text{C}$  — ацетата натрия в гистоны печени крыс разного возраста (возраст животных, месяцы: а — 1; б — 3; в — 12; г — 24).

ядерной эндонуклеазы фракций хроматина показало более высокое содержание липидов в диффузном хроматине по сравнению с конденсированным у крыс всех исследованных возрастных групп. Это свидетельствует, очевидно, о важной роли фосфолипидов в активной (диффузной) фракции хроматина [9].

Введение инсулина подопытным животным вызывает повышение содержания большей части изучавшихся фракций липидов в диффузной фракции хроматина печени. Так, установлено повышение содержания фосфолипидов и холестерина (за исключением 1-месячных животных), а также рост содержания эфиров холестерина и триглицеридов. Эта стимуляция инсулином синтеза липидов в диффузной фракции хроматина связана, очевидно, с индукцией гормоном ферментов синтеза липидов, а также антилиполитическим действием инсулина.

Спектрофотометрическое титрование фосфатных групп ДНК ДНП, полученного из печени белых крыс, показало, что число свободных фосфатных групп изменяется с возрастом животных, достоверно уменьшаясь к старости [10]. Периодическое содержание животных на специальной калорийно-недостаточной диете оказывает некоторое влияние на характер возрастных изменений изучаемого показателя. У подопытных животных (в отличие от нормы) не отмечено достоверного возрастного уменьшения количества фосфатных групп: ДНК из ДНП печени молодых и старых белых крыс, содержащихся на калорийно-недостаточном рационе, содержит практически одинаковое количество свободных фосфатных групп.

Исследование синтеза РНК изолированными ядрами печени и мозга белых крыс проводилось *in vitro* в инкубационной среде с  $\text{Mg}^{2+}$ , при этом согласно данным литературы идет преимущественный синтез РНК, близкой по нуклеотидному составу к рибосомальной РНК, при участии ядрышковой РНК-полимеразы А — и в среде с  $\text{Mn}^{2+}$  и  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  синтезируется ДНК-подобная РНК при участии внеядрышковой РНК-полимеразы [11].

Установлено, что в то время, как синтез РНК в среде с  $Mg^{2+}$  ядрами печени с возрастом заметно снижается [11], РНК-синтез ядрами мозга в этих условиях резко возрастает у 3-месячных животных по сравнению с 1-месячными и также резко снижается у 24-месячных. В среде с  $Mn^{2+}$  и  $(NH_4)_2SO_4$  уровень синтеза РНК ядрами мозга практически не меняется в первую половину онтогенеза крыс (до 12 месяцев), а затем резко увеличивается у 24-месячных животных. Это увеличение, по-видимому, связано с перестройкой работы регуляторных механизмов, обеспечивающей сохранение функциональной полноценности мозга у старых животных.

Таким образом, настоящая работа охватывает часть исследований в области молекулярной биологии старения, проводимой Харьковской школой учеников А. В. Нагорного. В них удалось выявить ряд существенных возрастных сдвигов в макромолекулярном составе и функциональных свойствах цельных ядер и генома клетки, в общей своей сумме указывающих на песимизацию к старости клеточного биохимизма.

**Список литературы:** 1. *Никитин В. Н.* Макромолекулярные аспекты старения. — В кн.: Ведущие факторы онтогенеза. Киев: Наук. думка, 1972, с. 6—43. 2. *Никитин В. Н.* Возрастные изменения в синтезе и распаде белков в животном организме. — В кн.: Старость. Киев: Изд. АН УССР, 1940, с. 235—238. 3. *Никитин В. Н.* О некоторых биохимических основах процессов онтогенеза. — Труды/НИИ биологии Харьк. ун-т, 1954, т. 21, с. 29—71. 4. *Коченков А. Ф., Никифорова Н. А.* Некоторые данные о возрастных изменениях размеров и макромолекулярного состава ядер клеток печени. — В кн.: Физиологические и молекулярные аспекты онтогенеза. Киев, Наук. думка, 1977, с. 74—82. 5. *Коченков А. Ф.* К вопросу о механизме анаболического действия андрогенов. — В кн.: Механизмы действия гормонов (Ташкент, симпозиум 10—12 ноября 1976 г.): Тез. докл. Ташкент: Фан, 1976, с. 50—51. 6. *Никитин В. Н., Мартыненко А. А., Сагалова Н. Б.* Возрастные изменения в составе хроматина ядер клеток печени белых крыс. — Журн. эволюц. биохимии и физиологии, 1972, т. 8, № 2, с. 128—131. 7. *Клименко А. І.* Вікова характеристика гістонів із хроматину і цільних ядер клітин печінки білих щурів. — Доп. АН УРСР, 1974, сер. Б, № 4, с. 372—374. 8. *Клименко А. І., Малышев А. Б., Шевцова М. Я.* Белковый спектр фрагментированного хроматина печени крыс в постнатальном онтогенезе. — Биохимия, 1978, т. 43, вып. 10, с. 1757—1763. 9. *Никитин В. Н., Попова Л. Я., Аборнева Л. И.* Возрастные особенности липидного спектра различных фракций хроматина печени. — В кн.: Актуальные проблемы возрастной физиологии, биохимии и биофизики. Киев: Наук. думка, 1979. 10. *Басанец Л. М.* Определение числа свободных фосфатных групп ДНК в ДНП печени крыс разного возраста. — Докл. АН УССР, 1975, сер. Б, № 3, с. 243—244. 11. *Блок Л. М., Никитин В. М., Білоконь Н. С., Анохіна Г. О.* Синтез РНК ядрами печінки білих щурів різного віку. — В кн.: X з'їзд Укр. фізіол. т-ва (Одеса, 1977 р.): Тез. доп. Київ: Наук. думка, 1977, с. 27—28.

А. А. ПАШКОВА, канд. биол. наук, В. Г. ЛЮБЕЦКАЯ

Кафедра физиологии человека и животных и отдел молекулярной биологии и биофизики онтогенеза

**УРОВЕНЬ ЙОДСОДЕРЖАЩИХ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ В КРОВИ БЕЛЫХ КРЫС В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА И СОСТОЯНИЯ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

Щитовидной железе принадлежит ведущая роль в общем гормональном балансе организма. Она оказывает свое регулирующее влияние на рост, развитие и обмен веществ. Основные йодсодержащие гормоны, секретируемые железой, — тироксин и трийодтиронин.

Изменения функционального состояния щитовидной железы у животных с возрастом обнаружены многими авторами [1, 2]. Ими установлен ряд признаков снижения функции железы к старости: замедление поглощения и выведения радиоактивного йода из железы, уменьшение высоты тиреоидных клеток, снижение массы и объема самой железы.

Цель настоящей работы — выяснить следующее: как меняется уровень тиреоидных гормонов в крови нормальных животных разного возраста; остается ли некоторый уровень тиреоидных гормонов в крови у животных после тиреоидэктомии; создают ли гипертиреоидное состояние в крови инъекции тироксина.

Опыты выполнены на белых крысах линии Вистар 1-, 3-, 12- и 24-месячного возраста. Использованы животные трех групп: первая — контрольные; вторая — тиреоидэктомированные (через месяц после операции); третья — после инъекций тироксина в дозе 120 мкг/100 г массы тела трехкратно в течение недели.

С помощью диагностического набора «Рез-о-мат  $T_4J^{125}$ » в сыворотке крови определялся уровень общего тироксина ( $T_4$ ) и с помощью набора «Рез-о-мат  $T_3J^{125}$ » — тироксинсвязывающая способность (ТСС) тироксинсвязывающего глобулина связывать меченый трийодтиронин ( $T_3$ ). ТСС рассчитывали по отношению к норме каждого возраста. По специальной таблице, прилагаемой к набору «Рез-о-мат  $T_3I^{125}$ », зная тироксинсвязывающую способность, можно определить относительный процент включения трийодтиронина и узнать, в эу-гипо- или гипертиреоидном состоянии находится исследуемое животное. На основании полученных данных определяют также индекс свободного тироксина (в %) по формуле

$$T_7 = \frac{T_4 (\mu g\%) \cdot TCC\%}{100}$$

Содержание общего тироксина ( $T_4$ ), тироксинсвязывающая способность (ТСС), относительный % включения  $T_3$  и индекс свободного тироксина ( $T_7$ ) сыворотки крови крыс разного возраста представлены в таблице.

Возраст, месяцы	Норма	Тиреоидэктомия				Инъекции $T_4$			
		$T_4$ (в $\mu g\%$ )	ТСС	% включения	$T_7$	$T_4$	ТСС	% включения	$T_7$
1	$8,3 \pm 0,7$	$5,0 \pm 0,74$ $p < 0,05$	1,195	22,5	1,12	$5,27 \pm 0,6$	0,62	44,6	2,35
3	$7,85 \pm 0,72$	$3,6 \pm 0,64$ $p < 0,01$	1,45	12,6	0,45	$5,3 \pm 0,2$	0,86	35,4	1,87
12	$7,7 \pm 0,89$	$5,0 \pm 1,17$ $p < 0,01$	1,39	15,0	0,75	$5,14 \pm 0,6$	0,76	39,2	2,01
24	$6,7 \pm 0,64$	$3,3 \pm 0,9$ $p < 0,01$	1,32	17,7	0,58	$6,3 \pm 0,2$	0,89	34,2	2,15

Согласно данным таблицы, уровень общего тироксина наиболее высок в крови у молодых 1-месячных животных, затем к старости (у 24-месячных) снижается примерно на 20%. Это согласуется со сведениями литературы [3], отмечающими неуклонное падение концентрации общего тироксина в крови по мере роста и старения организма.

Тиреоидэктомия приводит к существенному снижению уровня общего тироксина в крови животных всех возрастов, но определенный уровень гормона остается. Возможно, это объясняется не полным удалением железы или выходом тироксина из тех органов, где он мог быть ранее утилизирован.

Наиболее существенно уровень тироксина после тиреоидэктомии снижается у 3- и 24-месячных крыс (примерно на 50%). По данным Вержиковской [2], тиреоидэктомия приводила к выравниванию возрастных различий насыщенности тканей тиреоидными гормонами.

По уровню ТСС и относительному проценту включения триодтиронина тиреоидэктомированные животные всех возрастов относятся к группе гипотиреоидных. Индекс свободного тироксина наиболее низок у 3-месячных тиреоидэктомированных крыс.

У животных третьей группы инъекции тироксина привели даже к некоторому снижению уровня гормона в крови по сравнению с нормой.

По данным литературы известно, что введение тиреоидных гормонов в организм вызывает снижение или полное прекращение

биосинтеза собственных гормонов. Очевидно, здесь аналогичное явление. Возможно также, что введенный гормон частично утилизировался в тканях, о чем свидетельствуют результаты Мирахмедова [4]. Заметных возрастных различий в уровне общего тироксина после инъекций не наблюдается. По показателю тироксинсвязывающей способности и относительному проценту включения триодтиронина 1-, 3- и 12-месячные крысы после инъекций тироксина попадают в группу гипертиреоидных животных, а 24-месячные — в группу эутиреоидных. Индекс свободного тироксина  $T_7$  у животных всех возрастов значительно выше этого показателя у тиреоидэктомированных.

Таким образом, в настоящей работе показано, что в норме уровень общего тироксина крови у животных с возрастом снижается, тиреоидэктомия вызывает гипотиреоз у животных всех возрастов, а инъекции тироксина 120 мкг/100 г массы 3 раза в течение недели приводят молодых и зрелых животных к гипертиреоидному состоянию.

**Список литературы:** 1. Возрастные изменения эндокринных функций./Галавина О. И., Блок Л. Н., Ставицкая Л. И., Соленова-Филиппова И. П. — В кн.: Молекулярные и функциональные основы онтогенеза. М., 1970, с. 309—345. 2. Вержиковская Н. В. Щитовидная железа и возраст: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Киев, 1971. 23 с. 3. Валуева Г. В., Яковлев А. А. Изменение транспортных форм гормонов коры надпочечников и щитовидной железы при старении. — В кн.: Физиология, биохимия и патология эндокринной системы. Киев, 1975, вып.5, с. 38—40. 4. Мирахмедов М. Значение связывания тироксина и периферического превращения его в триодтиронин. — В кн.: Механизм действия гормонов. Ташкент: Фан, 1976, с. 163—169.

УДК 677.15.571.71

А. И. НОВИКОВА, канд. биол. наук, В. В. БАРТЕНЕВА

Кафедра физиологии человека и животных

## К ВОПРОСУ О ГОРМОНАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСПОРТА ИОНОВ

Ключевыми ферментами мембраны возбудимой клетки являются АТФ-азы. Так называемые специфические АТФ-азы активируются одновалентными ионами  $Na^+$  и  $K^+$  и играют особую роль в транспорте ионов через границу клетка — среда, в создании ионных градиентов, а на их основе электрической разности потенциалов (МП), определяющих основные физиологические состояния клетки: покой, возбуждение, торможение [1].

МП и АТФ-азная активность проходит в онтогенезе через ряд стадий, которые можно определить как формирование, стабилизацию и затухание [2].

Наиболее выраженные изменения МП происходят в период незрелости половой системы: устанавливаются оптимальные значения МП с достижением половой зрелости.

Анаболический эффект стероидных гормонов высок. Их действие опосредовано мембранными механизмами [2]. Мышца обнаруживает по ряду параметров сравнительно высокую чувствительность к действию половых гормонов.

Ранее было показано, что половые гормоны могут оказывать заметное влияние на МП клетки [3]. Для выяснения механизмов влияния половых гормонов на МП клетки поставлен вопрос о влиянии этих гормонов на фермент активного транспорта ионов —  $\text{Na}^+$  —  $\text{K}^+$ -активируемую АТФ-азу.

С этой целью проведена первая серия опытов с гонадэктомией. Становление половых желез в онтогенезе происходит в тесной корреляции с тимусом, в связи с чем нами проверено влияние гонадэктомии на фоне выключения тимуса, в специальной серии опытов.

*Методика.* Опыты по исследованию АТФ-азной активности мышечной ткани ставились на белых крысах линии Wistar в возрасте 1, 3, 12 месяцев.

Операции по гонадэктомии выполнены по классическому методу. Операции по гонад + тимэктомии проведены методом, разработанным в нашей лаборатории Е. А. Сазоновой. В качестве контроля использованы животные, возраст которых соответствовал возрасту постоперационных животных. Исследования проводили на 21-й день после операции. Активность АТФ-аз определяли в скелетной мускулатуре задней конечности [1].

Об активности фермента судили по приращению фосфора неорганического после гидролиза АТФ ферментом при инкубации гомогената в инкубационной смеси.

Активность  $\text{Na}^+$  —  $\text{K}^+$ -зависимой АТФ-азы определяли путем ингибирования ее строфантином К. Расчет активности фермента произведен в  $\text{P}/1$  мг белка  $\times 1$  ч.

Полученные данные обработаны статистически по методу Стьюдента (табл. 1, 2, 3).

Активность специфической АТФ-азы мышечной ткани нормальных животных (согласно табл. 1) увеличивается (на протяжении 1—3 месяцев), достигая у 3-месячных максимального значения. В промежутке от 3 до 12 месяцев активность фермента снижается. Полученные нами данные совпадают с результатами проведенных ранее исследований [1, 4].

Изменение активности специфической АТФ-азы мышечной ткани белых крыс идет параллельно с возрастным изменением МП, который достигает максимума у 3-месячных животных, с установлением нормальных [1] концентрационных соотношений  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  между волокном и средой (табл. 1).

Изменение  $\text{Na}^+$  —  $\text{K}^+$ -активируемой АТФ-азной активности мышечной ткани белых крыс в онтогенезе под влиянием гонадэктомии происходит неодинаково в разных возрастных группах животных (табл. 2).

Таблица 1

Возраст, месяцы	Na <sup>+</sup> —K <sup>+</sup> -активируемая АТФ-аза	
	M+m	р
1	38,9±1	р<0,01
3	47,9±2,68	р<0,05
12	39,3±1,85	

Таблица 2

Возраст, месяцы	Норма	Опыт	р
3	47,9±2,68	60,0±4,6	р<0,02
12	39,3±1,85	41,8±3,47	р>0,05

У 1-месячных животных активность повышается почти на 10% по сравнению с нормой, у 3-месячных — более чем на 10% по сравнению с нормой (р<0,02; табл. 2). У 12-месячных животных под влиянием гонадэктомии специфическая АТФ-аза практически не изменяет своей активности (табл. 2).

Половые гормоны управляют ионным обменом, поддерживая внутриклеточный баланс ионов [5, 6]. Повышение АТФ-азной активности у 1- и 3-месячных животных, очевидно, связано со снижением уровня стероидных гормонов. Наиболее активно этот процесс протекает у молодых животных. В 12-месячном возрасте на фоне определенного снижения гормональной активности гонад их удаление незначительно влияет на исследуемый показатель.

Эта серия опытов показала, что степень участия гонад в регуляции активности данной ферментной системы определяется возрастом животного.

Специфическая АТФ-азная активность у 1-месячных крыс, подвергшихся тим + гонадэктомии, практически не изменяется (табл. 3). У 3-месячных животных есть тенденция к увеличению активности фермента (табл. 3), однако разница не достоверна. Можно предположить, что у животных в возрасте 1 и 3 месяцев при наличии между гонадами и тимусом двусторонней связи компенсаторный ответ на гонадэктомию определяется тимусом, так как известно, по данным морфологии, что при гонадэктомии наблюдается увеличение массы тимуса. Поэтому при гонадэктомии имеет место увеличение соответствующей активности, а при двойной операции (тим + гонадэктомии) эта реакция отсутствует.

Таблица 3

Возраст, месяцы	Норма	Опыт	р
1	38,9±1	37,4±0,21	р>0,05
3	47,9±2,68	54,3±2,92	р>0,05
12	39,3±1,85	56,2±5,62	р<0,01

На 21-й день после операции специфическая АТФ-азная активность повышается почти в 1,5 раза по сравнению с нормой (табл. 3).

О влиянии тим + гонадэктомии на величину Na<sup>+</sup>—K<sup>+</sup>-активируемой АТФ-азной активности мышечной ткани белых крыс

в онтогенезе дает представление табл. 3. Полученный эффект показывает, что у 12-месячных крыс тимус играет активную роль. Возможно, знак связи между тимусом и гонадами не остается постоянным на протяжении онтогенеза.

С возрастом может изменяться и непосредственное участие тимуса в регуляции мембранных АТФ-аз.

**Список литературы:** 1. Skou J. C. Enzymatic basis for active transport of  $\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$  across cell membrane. — *Physiol. Rev.*, 1965, 45, p. 596—617. 2. Новикова А. И., Мальшев А. Б. Возрастные изменения механизмов активного транспорта ионов через мембрану мышечного волокна. — В кн.: Молекулярные и физиол. механизмы возрастного развития. К., 1975, с. 342—345. 3. Новикова А. И., Екимова В. И. Влияние половых гормонов на становление мембранного потенциала скелетных мышечных волокон в раннем онтогенезе. — *Вестн. Харьк. ун-та*, № 135. Проблемы онтогенеза, гетерозиса и биоэкологии животных, 1976, с. 35—37. 4. Новикова А. И., Гербет А. В. Возрастные особенности влияния гормонов щитовидной железы на АТФ-азную активность скелетных мышц. — В кн.: Физиол. и молекулярные аспекты онтогенеза. К., 1977, с. 211—215. 6. Юдаев Н. А., Протасова Т. Н. Молекулярные механизмы гормонального контроля у животных. — *Проблемы эндокринологии*, 1973, № 5, с. 109—116.

УДК 577.171:577.112

В. А. МАЛЕЕВ

Кафедра физиологии человека и животных

### ВЛИЯНИЕ ТИРОКСИНА НА ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Влияние тироксина на окислительное фосфорилирование в митохондриях печени с возрастом изучалось манометрическим методом [1]. Работ, посвященных влиянию тироксина на метаболические состояния митохондрий [2] печени разного возраста, в доступной литературе мы не нашли.

В настоящей работе изучали вклад цитоплазматического и внутримитохондриального белкового синтеза в повышение интенсивности окислительного фосфорилирования в митохондриях печени крыс разного возраста под влиянием тироксина. С этой целью были использованы специфические ингибиторы цитоплазматического (циклогексимид) и внутримитохондриального (хлорамфеникол) синтеза белков.

**Материал и методы исследования.** В опыте использованы белые крысы линии Вистар в возрасте 1, 3, 12 и 24 месяцев. Животных каждого возраста распределяли на четыре группы. Первая группа — контрольные животные, вторая — животные, которым вводили тироксин ( $\text{T}_4$ ) из расчета 500 мкг/100 г массы; третья — животные, которым вводили тироксин в той же дозе и циклогексимид (ЦГИ) в дозе 50 мкг/100 г массы трижды за 48 ч; четвертая — животные, которым вводили тироксин

в той же дозе и хлорамфеникол (ХФ) в дозе 1400 мкг/100 г массы через каждые 6 часов. Опытных животных забивали через 48 ч после введения гормона. Митохондрии выделяли по общепринятой методике. Окислительное фосфорилирование митохондрией изучали в сахарозной среде с ионами  $Mg^{++}$  и  $K^+$  полярографическим методом. Субстратом окисления служил сукцинат. Обработка полярограмм заключалась в определении интенсивности поглощения кислорода на фоне субстрата  $V_0$ , после добавления АДФ (0,2 мм) —  $V_3$ , после исчерпания АДФ —  $V_4$ . Мерой сопряженности окисления и фосфорилирования служил дыхательный контроль (ДК). Белок митохондрий определяли по Лоури.

*Результаты и их обсуждение.* Изучая возрастные особенности влияния тироксина на метаболические состояния митохондрий печени, мы обнаружили высокую стабильность исследуемых показателей в норме у животных различных возрастных групп при окислении сукцината (таблица). Как считает Разумович А. Н. [3], поддержание стабильности системы окислительного фосфорилирования в старости, возможно, связано со значительной мобилизацией резервных возможностей энергетических процессов в клетке. Поэтому изучение стимулирующего влияния тироксина на биоэнергетику митохондрий в онтогенезе представляет большой интерес относительно оценки резервных возможностей энергетических процессов в разные возрастные периоды. В наших опытах тироксин увеличил потребление кислорода во всех метаболических состояниях в одинаковой степени на 30—40% по сравнению с контролем. Дыхательный контроль остался на том же уровне, хотя ясно, что реальные возможности выработки АТФ под влиянием тироксина возросли. Это обнаруживалось для всех изученных возрастных групп при окислении сукцината. Применение ингибиторов белкового синтеза позволяет определить локализацию процессов, приводящих к образованию различных митохондриальных компонентов в клетке. Оказалось, что циклогексимид полностью снимает стимулирующее действие тироксина на окислительное фосфорилирование (таблица).

Интенсивность окисления сукцината в 3 и 4 метаболических состояниях и Д. К. близки к таковым в норме. Хлорамфеникол в такой постановке опытов практически не изменил эффекта тироксина. Результаты ингибиторного анализа были одинаковы во всех возрастных группах животных. Полученные данные могут свидетельствовать о том, что белки-ферменты, определяющие повышение окислительной и фосфорилирующей активности митохондрий под влиянием тироксина за 48 ч, синтезируются в цитоплазме.

Одновременно Н. М. Новикова [4] исследовала роль митохондриальной и цитоплазматической систем белкового синтеза в реализации влияния тироксина на биогенез митохондрий

ВОзраст, месяцы	V <sub>3</sub>				V <sub>4</sub>				ДК			
	Н	T <sub>4</sub>	T <sub>4</sub> +XФ	T <sub>4</sub> +ЦГИ	Н	T <sub>4</sub> +	T <sub>4</sub> +XФ	T <sub>4</sub> +ЦГИ	Н	T <sub>4</sub>	T <sub>4</sub> +XФ	T <sub>4</sub> +ЦГИ
1 n=8	59,3 ±1,65	78,03 ±3,7	81,10 ±2,14	62,2 ±2,0	9,73 ±0,3	13,08 ±0,89	14,83 ±0,73	10,26 ±0,90	5,6	5,7	5,7	5,7
P		<0,001	<0,001	>0,05		<0,02	<0,01	>0,05				
3 n=8	56,7 ±1,35	83,8 ±2,56	81 ±3,05	60,3 ±1,38	11,8 ±0,77	13,16 ±0,66	14,7 ±0,76	10,42 ±0,52	6,1	6,1	5,6	5,4
P		<0,001	<0,001	>0,05		<0,05	<0,05	>0,05				
12 n=8	60,05 ±1,45	80,04 ±1,0	79,1 ±2,44	63,8 ±2,2	11,9 ±0,5	13,7 ±0,29	13,17 ±0,67	11,3 ±0,77	5,7	5,7	5,5	5,6
P		<0,001	<0,01	>0,05		<0,01	<0,05	>0,05				
24 n=8	58,5 ±0,89	80,3 ±2,15	81,6 ±2,55	64,7 ±2,3	11,1 ±0,39	14,5 ±0,51	13,7 ±0,60	11,1 ±0,7	5,5	5,9	5,6	5,5
P		<0,001	<0,01	>0,05		<0,001	<0,001	>0,05				

в разные возрастные периоды по включению *in vitro* C<sup>14</sup> лейцина в белки митохондрий. Наши исследования разграничивались после этапа выделения митохондрий печени, поэтому очень важно проанализировать корреляцию полученных результатов. Показано, что T<sub>4</sub> увеличивает включение C<sup>14</sup> лейцина в белки митохондрий в 1,5—2 раза, а циклогексемид снижает эффект тироксина. Это согласуется с нашими данными. Хлорамфеникол снимал повышение включения C<sup>14</sup> лейцина под влиянием T<sub>4</sub> у 1- и 12-месячных крыс, частично у 24-месячных и не влиял на 3-месячных. Данные об ингибирующем влиянии хлорамфеникола согласуются лишь частично и требуют дальнейшей проверки.

**Список литературы:** 1. Кондрашова М. Н. Регуляция янтарной кислотой энергетического обеспечения и функционального состояния ткани: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Пущино, 1971. 24 с. 2. Вержиковская Н. В. Щитовидная железа и возраст: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук, Киев, 1971. 23 с. 3. Разумович А. Н. Биоэнергетические процессы и старение организма. — Минск: Наука и техника, 1972. 82 с. 4. Новикова Н. М., Шнейдер И. Роль митохондриальной и цитоплазматической систем белкового синтеза в реализации влияния тироксина на биогенез митохондрий в разные возрастные периоды. — В кн.: Механизм действия гормонов, патогенез, лечение, профилактика и эпидемиология эндокринных заболеваний. — Киев: Наук. думка, 1977, с. 57.

Л. А. ЖУБРИКОВА, Э. А. ГОРДИЕНКО, канд. биол. наук  
Отдел нейрогуморальных регуляций в онтогенезе

### АКТИВНОСТЬ МОНОАМИНОКСИДАЗЫ (ФОРМА А) МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ СУБФРАКЦИЙ В ОНТОГЕНЕЗЕ КОРЫ И ГИПОТАЛАМИЧЕСКОЙ ОБЛАСТИ КРЫС

Для проведения наших экспериментов особое значение имели те факты, которые демонстрировали роль серотонина, норадреналина в регуляции активности системы гипоталамус — гипофиз — эндокринные железы (кора надпочечников, гонады) [1].

Развитие ферментных систем образования и катаболизма серотонина и норадреналина в мозге у разных видов животных на ранних этапах онтогенеза описаны довольно полно, тогда как относительно второй половины постнатального развития сведения недостаточны. При этом опыты на развивающихся и взрослых крысах, в основном, проведены с гомогенатами и митохондриями, полученными из мозга или его областей.

В данной работе активность моноаминоксидазы (МАО) изучена на протяжении развития и старения. Для исследования были взяты две области мозга — кора и гипоталамическая область, отличающиеся по концентрации субстратов деятельности МАО — серотонина и норадреналина. Из этих областей выделены с помощью центрифугирования в градиенте плотности сахарозы подфракции, обогащенные митохондриями (МХ), легкими (ЛСП) и тяжелыми (ТСП) синаптосомами. В них определена активность МАО типа А с тем, чтобы выявить вклад морфологически и функционально различных субклеточных структур в интенсивность основного для мозга крыс процесса инактивации биологически активных веществ в разные периоды развития.

*Методика исследований.* Опыты поставлены на крысах линии Вистар (самцы и самки) 6 возрастных групп: 14-, 21-дневных, 1-, 3-, 12-, 24-месячных. Кору больших полушарий, гипоталамическую область и субклеточные фракции из них получали, как ранее [2]. Активность МАО определяли по количеству аммиака, выделившегося после инкубации в течение 40 мин в атмосфере  $O_2$  с серотонином в качестве субстрата при  $t=37^\circ C$  [3]. Активность МАО выражена в наномолях аммиака (мг белка/1 мин) и в наномолях аммиака/г сырой массы ткани. Средние получены из данных 4—8 опытов. Статистическая обработка результатов проводилась по методу Стьюдента — Фишера и Колмогорова — Смирнова [4].

*Результаты исследований.* Ранее было показано, что в целом мозге 1-, 3-, 12- и 24-месячных крыс уровень серотонина не меняется [5], концентрация норадреналина существенно снижает-

ся у 3-месячных животных [6]. Уровень серотонина в гипоталамической области резко уменьшается у 12- и 24-месячных крыс по сравнению с этим показателем у молодых животных (рис. 1). Учитывая данные о взаимосвязи уровней серотонина и норадреналина в областях мозга, в частности гипоталамической, и активности секреторных процессов ряда эндокринных органов, это снижение может быть одним из приводов в биохимических механизмах обеспечения онтогенетических характеристик нейроэндокринной регуляции. Поэтому изучение активности MAO как продолжение исследований механизмов поддержания уровней биоактивных веществ в мозге достаточно обосновано. Удельная активность MAO субфракций коры больших полушарий не обнаруживает резких возрастных и половых различий. Но у самок во фракции чистых митохондрий можно видеть выраженную тенденцию к росту активности во второй половине онтогенеза  $p < 0,05$

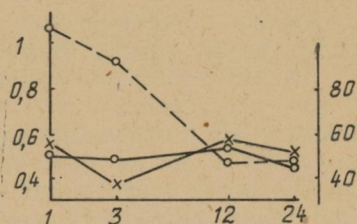


Рис. 1. Концентрация серотонина в мозге (— · —), гипоталамической области (— · —) и норадреналина в мозге (— × —) крыс разного возраста (по оси ординат — слева — мкг серотонина на 1 г, справа — мкг% норадреналина на сырую массу; по оси абсцисс — lg возраста в неделях).

(рис. 2). В ЛСП- и ТСП-фракциях у самок и самцов колебания активности не отличаются значительной амплитудой. Анализ хода кривых удельной активности во фракции ГМХ, МХ гипоталамической области оставляет впечатление, что к старости активность MAO у самок несколько снижается, а у самцов повышается по сравнению с ее уровнем у молодых (3-месячных) животных (рис. 2). Во фракции ЛСП не выявлено значительных возрастных изменений.

Возрастные отличия активности фермента в ТСП-фракции зависят от пола: у ♀♀ отмечена тенденция к повышению активности в период 14 дней — 24 месяца, у ♂♂ этому росту предшествует существенное снижение активности от 14 дней к 3 месяцам жизни (рис. 2).

Результаты расчета активности фермента на сырую массу ткани, иллюстрирующие концентрационные отношения в разные периоды развития, представлены на рис. 3. Для ГМХ коры показан рост активности у крыс от 14 дней к 1 месяцу жизни; в последующие периоды развития у самцов активность MAO не меняется, а у самок она резко снижается к 24 месяцам. Сходная закономерность возрастных различий с учетом пола отмечена и для ТСП-фракции. В ЛСП-фракции коры самцов можно видеть лишь рост активности в период 14 дней — 1 месяц.

Активность MAO в гипоталамической области с возрастом меняется неоднозначно и зависит от пола, вида фракции (рис. 3).

В ГМХ ♀♀ она снижается от 14 дней к 1 месяцу жизни, в дальнейшем повышается, последнее подтверждается лишь статистической вероятностью. У ♂♂ отмечена тенденция к росту активности от 14 дней к 3 месяцам, в более поздние периоды резких изменений нет. Для ТСП-фракций ♀♀ характерно повышение активности от 14 дней к 3 месяцам жизни, оно достигает статистической значимости в 24 месяца. Для ЛСП и МХ в этих опытах не выявлено резких изменений активности.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что степень и направление возрастных изменений активности MAO в отдельных субфракциях (рис. 2, 3) не всегда коррелирует с ходом онтогенетических изменений субстратов ее деятельности (серотонина и норадреналина), определяемых в целой ткани. При обсуждении причин возрастных изменений значимых концентрационных различий серотонина, норадреналина (например, в гипоталамической области) важна также скорость обратного захвата (захват 1) медиаторов субклеточными образованиями, которая определяется проницаемостью мембран, существенно различающейся на ранних и поздних этапах онтогенеза. При увеличении или снижении скорости этих процессов в субклеточных структурах уровень биогенных аминов может существенно меняться и при стабильной активности MAO.

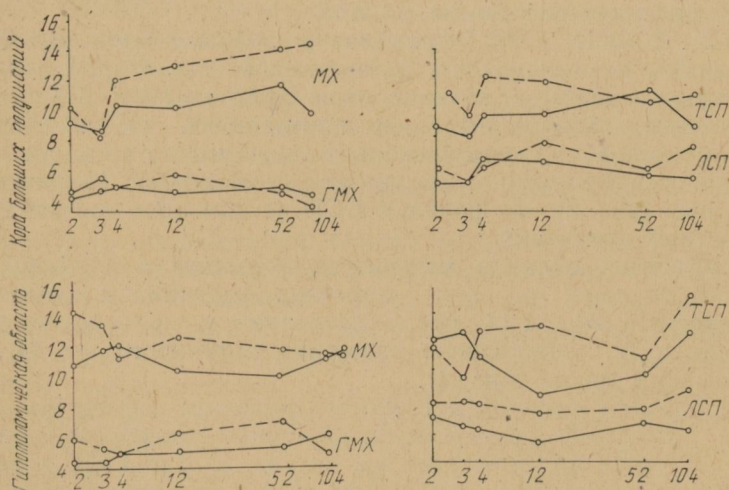


Рис. 2. Удельная активность моноаминоксидазы в ГМХ-, МХ-, ЛСП-, ТСП-фракциях коры больших полушарий и гипоталамической области крыс разного возраста (по оси абсцисс —  $\lg$  возраста в неделях; по оси ординат — наномоли аммиака, 1 мг белка/1 мин; — — — ♂♂; — — — ♀♀ — статистическая вероятность для различия активности MAO ТСП гипоталамической области: 21 день — 24 месяца,  $p < 0,1$ ; 14 дней — 3 месяца,  $p < 0,05$ ; 3 — 24 месяца,  $p < 0,1$ ).

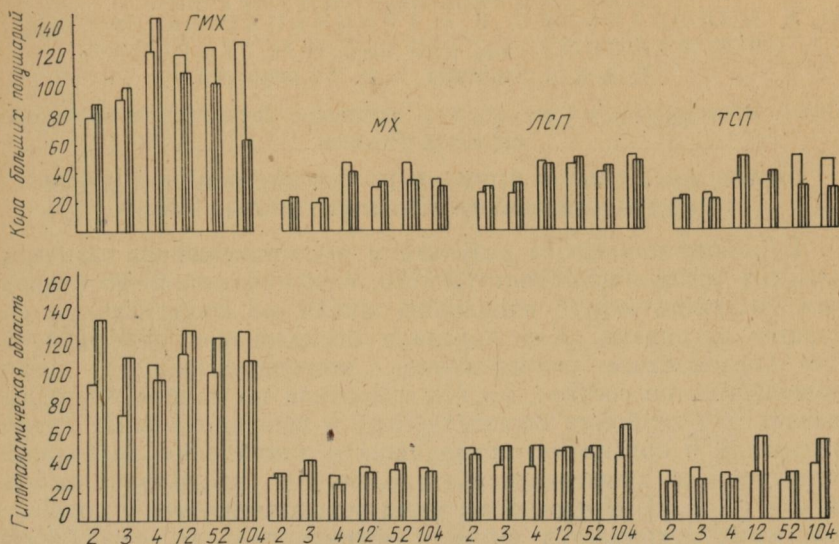


Рис. 3. Активность моноаминоксидазы (наномоли аммиака на 1 г сырой массы) в митохондриальных субфракциях коры больших полушарий и гипоталамической области крыс разного возраста: □ — ♂♂; ▤ — ♀♀ (обозначения оси абсцисс и оси ординат, как на рис. 2). Статистическая вероятность различия активности МАО для фракций коры больших полушарий (1 — ГМХ: ♂♂ 14 дней — 1 месяц,  $p < 0,1$ ; 1—24 месяца,  $p < 0,05$ ; ♂♂ 14 дней — 1 месяц,  $p < 0,05$ ; 2 — ЛСП: ♂♂ 14 дней — 1 месяц,  $p < 0,01$ ; 3 — ТСП: ♀♀ 14 дней — 1 месяц,  $p < 0,05$ ; 1—12 месяцев,  $p < 0,1$ ; ♂♂ 14 дней — 1 месяц,  $p < 0,1$ ; 14 дней — 12 месяцев,  $p < 0,05$ ) и гипоталамической области: (1 — ГМХ ♀♀ 14 дней — 1 месяц,  $p < 0,05$ ; 14 дней — 24 месяца,  $p < 0,1$ ; ♂♂ 14 дней — 3 месяца,  $p < 0,1$ ; 14 дней — 24 месяца,  $p < 0,1$ ; 3 — ТСП: ♀♀ 14 дней — 3 месяца,  $p < 0,1$ ; 14 дней — 24 месяца,  $p < 0,05$ ).

**Список литературы:** 1. Науменко Е. В., Попова Н. К. Серотонин и мелатонин в регуляции эндокринной системы. — Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1975. — 218 с. 2. Гордиенко Э. А., Жубрикова Л. А. Зіставлення онтогенетичних відмін активності ферментів медіаторного обміну (моноаміноксидаз та глутаматдекарбоксилази) у мітохондріальних фракціях коры великих півкуль і гіпоталамічної області. — Доп. АН УССР, 1978, серія Б, № 5, с. 441—445. 3. Горкин В. З. Методы исследования активности и специфического торможения моноаминоксидаз митохондрий. — В кн.: Современные методы в биохимии/В. З. Горкин, И. В. Веревкина, Л. И. Гриднева и др. М.: Медицина, 1968, с. 155—177. 4. Терентьев П. В., Ростова Н. С. Практикум по биометрии. — Л.: Изд. Ленинг. ун-та, 1977, с. 55—59. 5. Гордиенко Э. А., Боянович В. В. Дикарбоксильные аминокислоты, ГАМК и серотонин в гипоталамической области крыс разного возраста. — Журн. эволюц. биохимии и физиологии, 1974, т. 1, с. 17—21. 6. Жубрикова Л. А. Онтогенетические различия концентрации катехоламинов и активности моноаминоксидазы в органах белых крыс. — Вестн. Харьк. ун-та, № 184. Проблемы онтогенеза, гетерозиса и экологии животных, 1978, с. 19—22.

О. А. КОНОВАЛЕНКО, Е. С. ГРИНЧЕНКО, канд. биол. наук,  
Р. К. МАКОВОЗ, канд. биол. наук, В. М. ЗБАРСКАЯ,  
В. А. ГЛЯНЬКО, Г. П. ТУРЧИНА

Отдел нейрогуморальных регуляций в онтогенезе научно-исследовательского  
института биологии

### ОБМЕН ИНСУЛИНА В НОРМЕ И ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПРОДЛЕНИИ ЖИЗНИ У ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС

В работе приведены результаты исследований по изучению влияния калорийно-недостаточного, сдерживающего рост питания, способствующего продлению жизни, на гормональную ситуацию организма. Как показали исследования онтофизиологов Харьковского университета, экспериментальная диета, полноценная по составу, но недостаточная по калорийности, вызывает ряд глубоких биохимических и функциональных преобразований в организме, приводящих к замедлению возрастных изменений и существенно увеличению продолжительности жизни [1, 2, 3]. В частности, нами установлено, что у подопытных крыс сохраняется высокая функциональная способность инсулярного аппарата поджелудочной железы [4].

Цель данной работы — изучить особенности некоторых сторон обмена иммунореактивного инсулина у 3-месячных крыс, находящихся на экспериментальной диете.

*Материал и методы исследования.* Исследования проведены на самцах белых крыс линии Вистар в возрасте 3 месяцев, содержащихся на длительном периодическом калорийно-недостаточном питании [5] (опыт) и на обычном лабораторном рационе (норма). Сравнение проводили с однопольными самцами, получавшими обычное питание. Иммунореактивный инсулин (ИРИ) определяли общепринятым радиоиндикационным методом с изотопом  $^{125}\text{I}$ . Инсулин из поджелудочной железы и печени выделяли по методу Петтинга в модификации С. А. Моренковой [6], а из эритроцитов — по методу Л. И. Сандуляка [7]. Полученные результаты обработаны статистически.

*Результаты исследований и их обсуждение.* При изучении ИРИ в поджелудочной железе обнаружено, что у крыс, находящихся на экспериментальной диете, концентрация этого гормона (в пересчете на 1 г ткани) выше, чем в норме, хотя общее содержание гормона в железе значительно меньше (таблица).

Однако, если учесть, что относительная масса поджелудочной железы (отношение массы поджелудочной железы к массе тела) у крыс экспериментальной группы выше, чем в норме, то обеспеченность организма инсулином у них даже превосходит таковую в норме. Таким образом, диета с ограниченным содержанием углеводов не приводит к снижению продукции инсулина поджелудочной железой.

Содержание иммунореактивного инсулина (мк. ед.) в органах, крови и моче белых крыс-самцов линии Вистар

Объект исследования	Возраст, месяцы		
	1*	3*	3**
Поджелудочная железа (на 1 г ткани)	420·10 <sup>3</sup> ±78·10 <sup>3</sup> n=5	586·10 <sup>3</sup> ±50·10 <sup>3</sup> n=12	730·10 <sup>3</sup> ±40·10 <sup>3</sup> n=11
Поджелудочная железа (на орган)	230·10 <sup>3</sup> ±54·10 <sup>3</sup> n=5	710·10 <sup>3</sup> ±56·10 <sup>3</sup> n=12	350·10 <sup>3</sup> ±18·10 <sup>3</sup> n=12
Плазма крови (в 1 мл)	12 ±1,2 n=13	33 ±3,3 n=14	14 ±1,2 n=9
Эритроциты (в 1 мл)	111 ±12,0 n=9	176 ±21,0 n=12	256 ±10,0 n=8
Печень (на 1 г ткани)	137 ±55,0 n=7	181 ±26,4 n=20	134 ±41,3 n=5
Моча (на 1 мл суточного количества)	17,9 ±3,4 n=3	21,4 ±8,3 n=5	198,4 ±31,5 n=5

Примечание. 1) *n* — число опытов; 2) при сравнении 2 групп (норма и опыт) 3-месячного возраста:  $p < 0,001$  для поджелудочной железы в расчете на орган для мочи,  $p < 0,05$  для поджелудочной железы в расчете на 1 г ткани для плазмы крови, для эритроцитов; 3) \* — норма, \*\* — опыт.

Концентрация инсулина в крови, отражающая транспорт гормона к таргетным органам и тканям, в норме и опыте различны. Исследования показали, что концентрация ИРИ в плазме крови крыс опытной группы в 2 раза ниже, чем у животных того же возраста в норме, и почти не отличается от концентрации гормона у одномесячных животных.

Концентрация ИРИ в эритроцитах крови крыс значительно превышает таковую в плазме (особенно в опытной группе). За счет увеличения содержания ИРИ в эритроцитах суммарный уровень гормона в крови животных опытной группы выше, чем в норме, и гораздо меньше снижается с возрастом.

При исследовании ИРИ в печени крыс обнаружены значительные индивидуальные колебания концентрации этого гормона. Этот показатель в печени экспериментальных животных находился на уровне одномесячных крыс и был ниже, чем у 3-месячных в норме, хотя эта разница и не достигала статистически значимой величины. Следует отметить, что в печени крыс контрольной группы довольно четко проявляются возрастные различия в концентрации инсулина (таблица).

Нами проведено также изучение экскреции ИРИ с мочой. Выявлено, что количество инсулина, выделенное с мочой в течение суток, у крыс опытной группы в несколько раз выше, чем в норме (таблица).

Проведенные исследования показали, что под влиянием периодического, калорийно-недостаточного питания, способствующего продлению жизни, в организме белых крыс-самцов возникают адаптационные сдвиги в обмене инсулина. Так, выявленная у крыс опытной группы большая по сравнению с нормой концентрация ИРИ в поджелудочной железе, свидетельствует, с одной стороны, о повышении функциональной активности инсулярного аппарата под влиянием экспериментальной диеты, а с другой — об образовании некоторого избытка гормона, в связи с ограниченным содержанием углеводов в рационе. Интенсивное выведение ИРИ с мочой у крыс опытной группы является, очевидно, адаптационным механизмом, связанным с поддержанием гомеостаза в этих условиях.

Распределение ИРИ в плазме крови и эритроцитах крыс опытной группы также имеет характерные особенности. При более высокой общей концентрации ИРИ в крови крыс в условиях пролонгирования жизни содержание гормона в плазме крови у них значительно ниже, чем в норме, тогда как «загруженность» эритроцитов инсулином больше. Это отражает сниженную потребность в гормоне у этих крыс при высокой интенсивности их синтеза.

Следовательно, калорийно-недостаточная диета уже на ранних этапах ее применения приводит к возникновению адаптационных сдвигов в обмене инсулина, что создает благоприятные условия для формирования гормонального статуса организма, способствующего продлению жизни.

**Список литературы:** 1. *Никитин В. Н.* Экспериментальные подходы к продлению жизни. — В кн.: Проблемы возрастной физиологии, биохимии и биофизики. Киев: Наук. думка, 1974, с. 3—17. 2. *Ставицкая Л. И.* Возрастные особенности CRF-активности гипоталамуса и АКГГ-функции гипофиза при пролонгировании жизни периодическим, задерживающим рост питанием. — В кн.: Физиол. и молекулярные аспекты онтогенеза. Киев: Наук. думка, 1977, с. 142—145. 3. *Дружинина М. П.* Фолликулстимулирующая функция гипофиза крыс в онтогенезе при экспериментальном продлении жизни. — В кн.: Физиол. и молекулярные аспекты онтогенеза. Киев: Наук. думка, 1977, с. 183—185. 4. *Маковоз Р. К., Коноваленко О. А., Гунько М. В.* Инсулярный аппарат в онтогенезе белых крыс при пролонгировании жизни факторами питания. — В кн.: Физиол. и молекулярные аспекты онтогенеза. Киев: Наук. думка, 1977, с. 150—157. 5. *Ставицкая Л. И.* Влияние длительной задержки роста на возрастные изменения некоторых эндокринных функций. Дис. ... канд. биол. наук. Харьков, 1968, 323 с. 6. *Моренкова С. А.* Биосинтез инсулина в норме и при стимуляции инсулярного аппарата поджелудочной железы. Дис. ... канд. биол. наук. М., 1965. 186 с. 7. *Сандуляк Л. И.* Эритроциты как депо и система транспорта гормонов. — Докл. АН УССР, серия Б 1, 1976, с. 61—63.

Л. А. УТЕВСКАЯ, канд. биол. наук, Ю. А. МОРОЗ, канд. биол. наук,  
Е. Э. ПЕРСКИЙ, канд. биол. наук

Отдел молекулярной биологии и биофизики онтогенеза  
**КОЛЛАГЕН И ЭЛАСТИН КРЫС ПРИ ПЕРИОДИЧЕСКОМ  
СДЕРЖИВАЮЩЕМ РОСТ ПИТАНИИ**

Одним из эффективных подходов к увеличению средней продолжительности жизни лабораторных животных (крыс и мышей) является содержание их на сдерживающей рост периодической калорийно недостаточной, но полноценной по составу диете. Некоторые результаты исследований по влиянию этой диеты на основные структурные белки животного организма — коллаген и эластин — освещались ранее [1, 2]. В настоящем сообщении кратко подводятся итоги исследований последних лет по изучению структуры и свойств этих белков в онтогенезе белых крыс, содержащихся на периодическом сдерживающем рост питании.

В качестве экспериментальных животных использовали белых крыс-самцов линии Вистар в возрасте 1, 3, 12 и 24 месяцев, получавших обычную диету (норма), и в возрасте 3, 12, 24 месяцев, содержащихся, начиная с 1-месячного возраста, на периодической калорийно ограниченной диете (опыт). У нормальных и подопытных животных в процессе их развития сравнивали содержание коллагена и эластина в коже, содержание коллагена в различных типах сухожилий, его кристалличность и устойчивость к действию бактериальной коллагеназы, а также эластолитическую активность сыворотки крови. Кристалличность коллагена измеряли рентгенографически [3]. Эластолитическую активность сыворотки определяли по методу, представленному в работе [4].

Ранее были описаны характерные возрастные изменения коллагеновых структур — повышение общей концентрации коллагена, рост упорядоченности (кристалличности) коллагеновых надмолекулярных образований и нарастание их структурной стабильности, отражающееся в снижении растворимости и повышении устойчивости к действию коллагеназы [2, 5].

Результаты исследований показали, что темпы и объем этих изменений значительно уменьшаются при сдерживающем рост питании. Так, у старых подопытных животных (24-месячных) общее содержание коллагена в коже ниже, чем у нормальных, на 10%. Соответствующие различия для многих типов сухожилий составляют от 11—14% (в сухожилиях задней конечности: передней большеберцовой мышцы, длинного сгибателя пальцев, ахилловом и связке надколенника) до 20—22% в сухожилиях длинного разгибателя пальцев задней конечности, диафрагмальном и хвостовых. Растворимость коллагена кожи

в этом возрасте у подопытных животных выше, чем у нормальных, на 26%. Значительно медленнее нарастает с возрастом кристалличность коллагена подопытных животных (рис. 1). Достоверных различий в расщепляемости коллагена нормальных и подопытных животных одного возраста бактериальной коллагеназой не обнаружено.

Если в норме содержание эластина в коже у взрослых, и особенно у старых животных, существенно снижается, то у под-

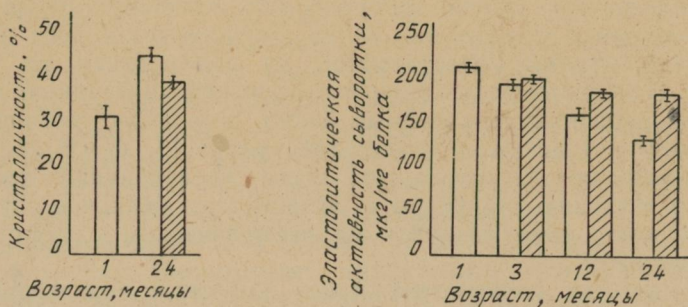


Рис. 1: Кристалличность коллагена хвостовых сухожилий крыс в норме (□) и при задержке роста (косая штриховка), %.

Рис. 2. Эластолитическая активность сыворотки крови крыс в норме (□) и при задержке роста (косая штриховка), мкг эластина, расщепляемого 1 мг суммарного белка сыворотки.

опытных животных всех возрастных групп оно остается на уровне, характерном для молодого возраста. Эластолитическая активность сыворотки крови, значительно снижающаяся с возрастом у нормальных животных, у старых подопытных уменьшается незначительно и в 24 месяца превышает норму на 42% (рис. 2).

Полученные результаты свидетельствуют, что периодическое сдерживающее рост питание приводит к согласованному замедлению развития всех компонентов опорных белковых структур.

**Список литературы:** 1. Мороз Ю. А., Никитин В. Н., Ставицкая Л. И. О биохимических и эндокринных механизмах экспериментального продления жизни. — В кн.: Проблемы возрастной физиологии, биохимии и биофизики. Киев: Наук. думка, 1974, с. 186—211. 2. Никитин В. Н., Перский Е. Э., Утевская Л. А. Возрастная и эволюционная биохимия коллагеновых структур. — Киев: Наук. думка, 1977. — 279 с. 3. Lin Y., Sterling C., Shimazu F. Effect of age on the crystallinity of collagen. I. X-ray evidence. — J. Gerontol., 1968, 23, № 2, p. 220—225. 4. Hall D. A. The identification and estimation of elastase in serum and plasma. — Biochem. J., 1966, 35, № 11, p. 1651—1659. 5. Перский Е. Э., Мороз Ю. А., Утевская Л. А. Структура и стабильность коллагена в онтогенезе. — Вестн. Харьк. ун-та, № 164. Проблемы онтогенеза, гетерозиса и экологии животных, 1978, с. 31—33.

Е. В. ПАРИНА, д-р биол. наук, И. В. ШУБА

Кафедра биохимии

**АКТИВНОСТЬ ФОСФОНОЛПИРУВАТКАРБОКСИКИНАЗЫ  
И ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТАЗЫ В ПЕЧЕНИ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА  
ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ЦИКЛОГЕКСИМИДА**

Одним из экспериментальных подходов к изучению возрастных особенностей механизмов регуляции активности ферментов является применение ингибиторов белкового синтеза. Использование их дало возможность установить различия в путях индукции фосфонолпируваткарбоксикиназы (ФЕПҚК-азы) и глюкозо-6-фосфатазы (Г6Ф-азы) в печени крыс разного возраста при голодании [1, 2, 3].

Учитывая возможности применения ингибиторов белкового синтеза для определения различий скорости обновления ферментов, целесообразно изучить их действие на активность ферментов в тканях интактных животных в зависимости от возраста. В связи с этим в настоящей работе исследовалось влияние циклогексимида на активность ФЕПҚК-азы и Г6Ф-азы в печени крыс линии Вистар в разные периоды онтогенеза. В опытах использованы 1-, 12- и 24-месячные крысы. Животным вводили циклогексимид в общей дозе 0,2 мг/100 г массы тела. Крыс 1-й группы убивали через 6 ч после введения, 2-й — через 10 ч, 3-й — через 24 ч после первого введения\*. В данных случаях опыты проводили с 1-месячными и годовалыми крысами. Кроме того, в одной группе 1-месячных крыс циклогексимид вводили животным 3 раза в сутки по 0,1 мг/100 г массы тела через 6—7 ч и убивали через 24 ч после последнего введения. Двухгодовалые крысы брались для исследования только через сутки при двукратном введении циклогексимида. Активность ФЕПҚК-азы определялась по Нордли и Ларди [4] в постмитохондриальной фракции печени, полученной после центрифугирования гомогенатов печени (приготовленных на растворе сахарозы 0,25 М) в течение 20 мин при 12 000 об/мин в центрифуге ЦЛР-1. Активность Г6Ф-азы определяли в гомогенате печени по Свенсону [5]. Одновременно в гомогенатах определялась концентрация белка по Лоури [6]. Параллельно активность ферментов изучалась в печени контрольных животных. Результаты (в единицах активности на 1 г массы печени или на 100 мг белка) статистически обрабатывали по Стьюденту — Фишеру.

Данные табл. 1 указывают на существенные различия в действии циклогексимида на активность ФЕПҚК-азы у 1-месячных

\* Крысы 3-й группы получали эту дозу отдельно (по 0,1 мг); второй раз через 10 ч после первого введения.

и годовалых крыс. У первых она возросла уже через 6 ч после введения, а через 10 ч увеличилась более чем вдвое по сравнению с нормой. Через 24 ч активность также превышала норму, но в меньшей степени (как в случае двукратного введения в общей дозе 0,2 мг, так и после троекратного в общей дозе 0,3 мг).

Таблица 1

Активность ФЕПКК-азы в печени крыс разного возраста после введения циклогексимида (мкМ фосфоенолпирувата/г ткани/мин)

Норма	После введения циклогексимида			
	через 6 ч	через 10 ч	через 24 ч (двукратно)	через 24 ч (троекратно)
1	2	3	4	5

1-месячные крысы

6,6±0,56	9,3±0,59	15,3±2,3	7,9±0,82	8,8±0,14
100%	140%	232%	120%	133%

12-месячные крысы

9,4±0,49	9,7±1,1	10,2±0,13	7,3±0,18	—
100%	103%	108%	78%	

Примечание.  $p < 0,05$  при сравнении 1—2; 2—3; 1—4; 1—5 у 1-месячных крыс; 1—3; 3—4 у 12-месячных.

У 12-месячных крыс незначительное повышение имело место только через 10 ч после действия ингибитора, а через 1 сут обнаружилось четко выраженное понижение по сравнению с уровнями в норме и в предыдущем периоде действия. Первое предположение о причинах наблюдаемых различий могло основываться на разной доступности мест приложения действия ингибитора и скорости его проникновения в клетки печени неполовозрелых крыс и крыс зрелого возраста. Однако результаты исследований в тех же условиях активности Г6Ф-азы (табл. 2) показали, что указанные различия характерны только для ФЕПКК-азы и отсутствуют у Г6Ф-азы.

Активность данного фермента в печени у крыс обоих возрастных групп сравнительно мало увеличивается через 10 ч после введения циклогексимида, причем в большей степени у животных зрелого возраста; затем у них же снижается в последующие периоды до уровня, более низкого, чем в норме. У 1-месячных крыс такое снижение не наблюдается и активность в тех же условиях сохраняется в пределах нормы. Таким образом, большой подъем активности ФЕПКК-азы в печени 1-месячных крыс, вызванный введением циклогексимида, определяется особенностями регуляции ее активности в данном возрасте. Известно много исследований, в которых было установле-

но повышение активности ряда ферментов после введения ингибиторов белкового синтеза. Такой эффект наблюдается главным образом при введении актиномицина Д [7] и др., но также и при использовании пурамицина [8]. Предполагаемые механизмы данного эффекта заключаются в торможении синтеза какого-то белка, который участвует в регуляции актив-

Таблица 2

Активность Г6Ф-азы в печени крыс разного возраста после введения циклогексимида (мкМ неорганического фосфата/г ткани/мин)

Норма	После введения циклогексимида			
	через 6 ч	через 10 ч	через 24 ч (двукратно)	через 24 ч (троекратно)
1	2	3	4	5

1-месячные крысы

30,92±2,2 100%	27,1±2,4 87%	33,5±0,71 108%	30,2±2,3 97%	31,6±0,25 102%
-------------------	-----------------	-------------------	-----------------	-------------------

12-месячные крысы

12,7 ±0,7 100%	12,5±0,5 98%	15,2±0,7 119%	10,9±0,2 86%	—
-------------------	-----------------	------------------	-----------------	---

Примечание.  $p < 0,05$  при сравнении 1—3 у 1-месячных крыс; 1—3; 1—4; 2—3; 3—4 у 12-месячных крыс.

ности этого фермента и характеризуется высокой скоростью обновления, т. е. коротким периодом полураспада. Таким белком может быть белок репрессор, тормозящий синтез ФЕПҚК-азы, специфическая протеиназа или белок ингибитор, угнетающий ее активность. Во всяком случае отсутствие того же эффекта у годовалых крыс свидетельствует о глубоких различиях в путях регуляции ФЕПҚК-азы в изучаемые возрастные периоды. Основываясь на факте значительного снижения ее активности у крыс зрелого возраста после двукратного введения циклогексимида в течение суток (табл. 1), можно предположить, что скорость обновления данного фермента у них выше, чем у неполовозрелых животных, у которых в данных условиях сохраняется еще высокий уровень активности ФЕПҚК-азы. Аналогичная картина наблюдается и в случае с Г6Ф-азой, активность которой снижается после двукратного введения циклогексимида только у 12-месячных крыс (табл. 2); у них же происходит более заметное ее повышение через 10 ч после введения.

Результаты действия двукратного введения циклогексимида в течение суток старым животным показали, что активность ФЕПҚК-азы составляла у них  $13,5 \pm 0,1$  мкМ ФЕП/г ткани/мин и была на 62% выше, чем уровень ее в норме ( $8,3 \pm 0,42$ ).

Активность Г6Ф-азы в этих условиях оставалась на уровне нормы ( $13,6 \pm 0,9$  и  $14,6 \pm 0,4$  соответственно). Таким образом, результаты введения циклогексимида позволили установить значительные различия в регуляции активности ФЕПКК-азы и Г6Ф-азы, а также выявить глубокие возрастные изменения в регуляции ФЕПКК-азы.

**Список литературы:** 1. *Парина Е. В., Дриняев В. А., Хоткевич Т. В.* Адаптивные изменения активности фосфоенолпируваткарбоксикиназы печени и их механизмы у крыс разного возраста. — В кн.: Проблемы возрастной физиологии, биохимии, биофизики. Киев: Наук. думка, 1974, с. 97—107. 2. *Парина Е. В.* Роль факторов регуляции в возрастных изменениях активности ферментов. — В кн.: Ведущие факторы онтогенеза. Киев: Наук. думка, 1972, с. 130—150. 3. *Дриняев В. А.* Адаптация и гормональная индукция ферментов глюконеогенеза в печени животных разного возраста: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Харьков. 1974. — 23 с. 4. *Nordlie R., Lardy H.* Mammalian liver phosphoenolpyruvate carboxykinase activities. — I. *Biol. Chem.*, 1963, 232, № 7, p. 2259—2264. 5. *Swanson M. A.* Glucose-6-phosphatase from liver. — I. *Biol. Chem.*, 1950, 184, p. 647—652. 6. *Lowry O.* et al. Protein measurement with Folin phenol reagent. — I. *Biol. Chem.*, 1951, 193, p. 265—275. 7. *Rosen F., Raine P., Milholland R.* et al. Induction of severall adaptore enzymes by actinomycin. — *D. Science*, 1964, 146, № 3644, p. 661—665. 8. *Blatt L., Scamhorn V., Kim K.* Mechanism of puromycin activation of tadpole liver glycogen Synthetase. — *Biochim. et biophys. acta*, 1969, 177, № 3, p. 553.

УДК 577.153.3:591.147:577.95

П. А. КАЛИМАН, д-р биол. наук, Д. ОРАВЦОВА,  
Л. А. ЧЕРНОВА, Н. М. НОВИКОВА, канд. биол. наук  
Кафедра биохимии и отдел биохимии онтогенеза

### ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ АКТИВНОСТИ И ИНДУКЦИИ ТИРОКСИНОМ АТФ-СИНТЕТАЗЫ МИТОХОНДРИЙ СЕРДЦА И ПЕЧЕНИ КРЫС

Изучение активности ферментов в онтогенезе и способов ее регуляции, в том числе гормональной, является весьма важным для понимания механизмов индивидуального развития и старения организмов. Особый интерес представляет исследование в онтогенезе активности и механизмов регуляции ферментов энергетического обмена, так как процессы образования и утилизации АТФ непосредственно связаны с регуляцией потока метаболитов на нужды пластического и энергетического обмена [1].

Основная часть АТФ у аэробных организмов образуется при участии АТФ-синтетазного комплекса митохондрий [2]. АТФ-синтетаза подвержена многочисленным регуляторным воздействиям, в частности гормональным. Среди последних особое место занимают тиреоидные гормоны, обладающие выраженным влиянием на окислительные процессы во многих периферических тканях [3]. В настоящее время обсуждается несколько

путей включения тиреоидных гормонов в регуляцию внутриклеточного метаболизма, в том числе энергетического обмена [4].

В данной работе исследовали активность АТФ-синтетазы митохондрий сердца и печени 1-, 3-, 12- и 24-месячных крыс линии Вистар в норме, а также под влиянием тироксина и совместного введения тироксина и ингибиторов белкового синтеза (циклогексимида и хлорамфеникола).

Митохондрии выделяли общепринятым методом [5]. Активность АТФ-синтетазы определяли по обратной реакции-расщеплению АТФ [6] и белок — по Лоури и др. в модификации Миллера [7]. Тироксин вводили однократно в дозе 250 мкг на 100 г массы тела. (Дозы и ритм введения антибиотиков такие же, как в статье Н. М. Новиковой, И. Шнейдер, опубликованной в настоящем сборнике).

Полученные данные обработаны методом связанных выборок [8].

Об АТФ-синтетазной активности митохондрий сердца крыс в норме при введении тироксина ( $T_4$ ), а также после совместного введения гормона с циклогексимидом ( $T_4+Ц$ ) или хлорамфениколом  $T_4+X$  (мкг Р на 1 мг белка за 1 мин.) дает представление табл. 1.

Таблица 1.

Возраст, месяцы	Норма	$T_4$	$\Delta\bar{X} \pm S\bar{X}$	p	$T_4+Ц$	$T_4+X$
1	58	81	$+23,12 \pm 9,7$	$< 0,05$	$56 \pm 2,5$	$62 \pm 2,3$
3	71	93	$+21,11 \pm 8,2$	$< 0,05$	$75 \pm 4,8$	$73 \pm 2,3$
12	57	76	$+20,87 \pm 8,6$	$< 0,05$	$61 \pm 4,2$	$64 \pm 3,2$
24	$57 \pm 2,4$	$58 \pm 2,7$			$52 \pm 1,9$	$56 \pm 3,1$

Согласно данным табл. 1, активность АТФ-синтетазы митохондрий сердца повышается у 3-месячных крыс, а затем снижается до уровня ее у 1-месячных животных. Введение тироксина сопровождается повышением активности АТФ-синтетазы у молодых и взрослых животных, а у старых (24-месячных) тироксин не влияет на активность фермента. Циклогексимид-ингибитор трансляции, введенный одновременно с тироксином, полностью снимает прирост активности АТФ-синтетазы, вызванный тироксином. Такой же блокирующий эффект на прирост активности АТФ-синтетазы после введения тироксина оказывает и хлорамфеникол-ингибитор белкового синтеза на митохондриальных рибосомах.

В табл. 2 приведены данные АТФ-синтетазной активности митохондрий печени крыс в норме, при введении тироксина ( $T_4$ ), а также после совместного введения гормона с циклогексимидом ( $T_4+Ц$ ) или хлорамфениколом  $T_4+X$  (мкг Р на 1 мг белка за 1 мин).

В печени удельная активность АТФ-синтетазы значительно ниже, чем в сердце. В этой серии экспериментов не обнаружено статистически значимых различий в активности фермента у 1- и 3-месячных крыс, которые отмечены ранее [9].

Таблица 2

Возраст, месяцы	Норма	$T_4$	$\Delta X \pm S \Delta \bar{X}$	$p$	$T_4 + Ц$	$T_4 + X$
1	10,6	13,7	$+3,07 \pm 0,56$	-0,001	$10,8 \pm 0,76$	$10,9 \pm 0,74$
3	11,7	15,3	$+3,6 \pm 0,48$	-0,001	$11,4 \pm 1,13$	$12,1 \pm 1,13$
12	10,3	14,2	$+3,8 \pm 0,5$	-0,001	$11,5 \pm 0,82$	$10,4 \pm 1,0$
24	10,1	12,2	$+2,05 \pm 0,27$	-0,001	$11,4 \pm 0,38$	$10,0 \pm 0,95$

В отличие от сердца в печени тироксин, вводимый подопытным животным во все возрастные периоды, повышает активность АТФ-синтетазы у 1-, 3- и 12-месячных крыс на 30% и у старых — на 20%. Циклогексими́д и хлорамфеникол так же, как и в сердце, полностью снимают прирост активности, вызванный тироксином.

Таким образом, проведенные исследования показали, что активность АТФ-синтетазы митохондрий сердца изменяется с возрастом, тогда как в печени уровень ее сохраняется постоянным. Тироксин (в используемой дозе) оказывает стимулирующий эффект на активность АТФ-синтетазы в митохондриях сердца только у молодых и взрослых животных, а в печени — во все возрастные периоды, что, очевидно, связано с различной чувствительностью этих органов к тироксину. Одновременное введение с тироксином циклогексими́да или хлорамфеникола полностью снимает и в сердце, и в печени стимулирующий эффект гормона. Эти данные свидетельствуют о том, что в реализации индуцирующего действия тироксина принимают участие как цитоплазматическая, так и митохондриальная белоксинтезирующие системы.

**Список литературы:** 1. Хочачка П., Сомеро Дж. Стратегия биохимической адаптации. — М.: Мир, 1977.—398 с. 2. Скулачев В. П. Трансформация энергии в биомембранах. — М.: Наука, 1972.—298 с. 3. Рачев Р. Р., Ещенко Н. Д. Тиреоидные гормоны и субклеточные структуры. — М.: Медицина, 1975.—294 с. 4. Sterling K. The mitochondrial route of thyroid hormone action. — Bull. N. Y. Acad. Med., 1977, 53, p. 260—276. 5. Weinbach E. C. A procedure for isolating stable mitochondria from liver and kidney. — Analyt. Biochem., 1961, 2, p. 335—343. 6. Nolton F. A., Hulsmann W. C., Myers D. K., Slater E. S. A comparison of the properties of mitochondria isolated from liver and heart. — Biochem. J., 1957, 87, p. 579—594. 7. Miller G. L. Protein determination for large numbers of samples. — Analyt. Chem., 1959, 31, № 5, p. 964—966. 8. Бейли Н. Статистические методы в биологии. — М.: Мир, 1964. —271 с. 9. Новикова Н. М., Оравцова Д. Возрастные особенности влияния инсулина и тироксина на активность олигомицинчувствительной АТФ-азы митохондрий печени белых крыс. — В кн.: Актуальные проблемы возрастной физиологии, биохимии и биофизики. К.: Наук. думка, 1978, с. 102—107.

П. А. КАЛИМАН, д-р биол. наук, В. П. МИЩЕНКО, канд. биол. наук,  
Л. НЕЧЕПУРЕНКО, Л. И. МАМОН  
НИИ биологии ХГУ

### ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ АКТИВНОСТИ СИСТЕМ ТРАНСПОРТА ПИРУВАТА, АТФ-ЦИТРАТЛИАЗЫ, НАД- И НАДФ-ЗАВИСИМОЙ МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗ В ПЕЧЕНИ КРЫС

Превращение углеводов в жиры в печени млекопитающих осуществляется главным образом при участии цитрат-пируватного цикла, обеспечивающего транспорт внутримитохондриального ацетил-КоА в цитоплазму, где происходит синтез жирных кислот. Система ферментов и переносчиков цитрат-пируватного цикла включает внутримитохондриальные пируватдегидрогеназу (ПДГ) и цитратсинтазу, а также цитоплазматические АТФ-цитратлиазу, НАД-малатдегидрогеназу (МДГ) и НАДФ-малатдегидрогеназу (декарбоксилирующую), а также транслоказы пирувата и цитрата. В связи с тем, что в процессе онтогенеза, и особенно при старении, наблюдаются значительные изменения метаболизма липидов [1], представляло интерес изучить отдельные звенья цитрат-пируватной системы в печени крыс разного возраста.

Общепринятым методом выделяли две фракции митохондрий: тяжелую получали из безъядерного супернатанта центрифугированием при 4500g в течение 10 мин, легкую — центрифугированием надосадочной жидкости, полученной после выделения тяжелой фракции, при 12 500g на протяжении 10 мин. Источником АТФ-цитратлиазы и НАД- и НАДФ-МДГ служила надосадочная жидкость, полученная после центрифугирования постмитохондриальной фракции при 40 000g в течение 60 мин. Об активности пируваттранслоказы судили по разнице в содержании пирувата в среде до и после инкубации митохондрий. Активность АТФ-цитратлиазы и МДГ определяли спектрофотометрически и выражали в мкг НАДН/мг/мин белка для АТФ-цитратлиазы, в М НАДН/мг/мин белка для НАД-МДГ и нМ НАФН/мг/мин белка для НАДФ-МДГ.

В табл. 1 представлены данные активности АТФ-цитратлиазы, а также НАД- и НАДФ-МДГ в цитозоле печени крыс в возрасте 1, 3, 12 и 24 месяцев.

Таблица 1

Ферменты	Возраст, месяцы			
	1	3	12	24
АТФ-цитратлиаза	12,3±0,5	14,3±0,6	11,2±0,8	9,6±0,6
НАД-МДГ	5,0—0,5	7,8—0,9	не определяли	
НАДФ-МДГ	34,9—2,1	19,2—0,5	10,1—0,6	8,3—0,3

Вероятно, причиной противоположного характера изменений активности функционально связанных энзимов в 3-месячном возрасте является усиленный отток яблочной кислоты через малатный шунт в митохондри в связи с удвоением последних на одно ядро в период между первым и третьим месяцами жизни крыс [2]. В таком случае резкое понижение активности малик-фермента в период половой зрелости следует рассматривать как один из возможных механизмов регуляции потока восстановительных эквивалентов в митохондри. Вместе с тем следует отметить, что характер возрастных изменений во второй половине имел одинаковую направленность для всех трех ферментов.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что по мере старения крыс обеспеченность липогенеза предшественниками жирных кислот (ацетил-КоА и фондом НАДФН, образуемым малик-ферментом) снижается.

Другим продуктом реакции декарбоксилирующей НАДФ-МДГ является пируват, транспорт которого в митохондри усиливается за счет переноса цитрата в противоположном направлении [3]. О результатах определения активности систем транспорта пирувата (в нмоль/мг/мин белка) в тяжелой и легкой фракциях митохондрий, выделенных из печени крыс разного возраста, можно судить по данным табл. 2.

Таблица 2

Фракции митохондрий	Возраст, месяцы			
	1	3	12	24
Тяжелая	18,4—1,6	19,9—1,8	17,0—1,0	13,5—0,9 p>0,05 12—24
Легкая	26,7—1,4 p<0,002	25,4—1,3 p<0,05	21,9—1,8 p<0,05	16,4—1,8 p>0,05

В легкой фракции органелл снижение активности переносчика пирувата наступает в 12 месяцев и вторично наблюдается у двухгодичных животных, что в большей степени коррелирует с возрастной динамикой активности АТФ-цитратлиазы, НАД- и НАДФ-МДГ во второй половине онтогенеза. Если учесть, что для координированной регуляции липогенных ферментов печени мелкочитающих необходим инсулин, то следует принять во внимание результаты наших исследований, свидетельствующих о том, что пируваттранслоказа именно легкой популяции митохондрий, выделенных из печени 1- и 3-месячных крыс, чувствительна к данному гормону. Вышесказанное дает право предполагать, что в состав пируват-цитратной циркуляторной системы входят «легкие» митохондрии.

Относительно ферментов цитрат-пируватного цикла, функционирующих в митохондриальном компартменте, необходимо

сказать, что активность цитратсинтазы в значительной степени определяется доступностью оксалоацетата из малатдегидрогеназной НАД-зависимой реакции и ацетил-КоА — из пируватдегидрогеназной реакции [4]. Результаты определения активности митохондриальной НАД-МДГ показали, что максимальная обеспеченность оксалоацетатом из малатдегидрогеназной реакции достигается у молодых половозрелых животных, однако резерв оксалоацетата, образуемый данной реакцией, резко сокращается в старости: 1-месячные —  $1,98 \pm 0,2$ ; 3-месячные —  $2,68 \pm 0,3$ ; 24-месячные —  $1,55 \pm 0,1$  мкмоль НАДН/мг белка митохондрий/1 мин. Аналогичная возрастная закономерность установлена и для ПДГ [5]. Представленные данные позволяют допустить, что активность цитратсинтазы понижается в поздний период онтогенеза.

**Список литературы:** 1. Пашкова А. А., Попова Л. Я. Липиды и липидный обмен в онтогенезе. В кн.: Молекулярные и функциональные основы онтогенеза. М.: Медицина, 1970, с. 158—190. 2. Rosse M., Ely J. Agein and enzyme activity. — J. Franklin Inst., 1954, 258, № 1, p. 63—66. 3. Titheradge M., Coore H. Preparation and propertion of mitochondria from lactating rat mammary gland in particular relation to lipogenesis. — Int. J. Biochem., 1977, 8, № 6, p. 433—436. 4. Великий Н. Н., Пархомец П. К. Ферментативные аспекты регуляции внутриклеточного распределения кофакторов и метаболитов в печени крыс. — В кн.: Биохимия животных и человека. Киев, 1978, вып. 2, с. 46—58. 5. Савицкий И. В., Гирля Ю. И., Савченко Э. С. Онтогенетические особенности активности дегидрогеназ. — В кн.: Митохондрии, регуляция процессов окисления и сопряжения, М.: Наука, 1974, с. 140—144.

УДК 577.12+616.088.9

Н. М. НОВИКОВА, канд. биол. наук, И. ШНЕЙДЕР

Кафедра биохимии и отдел биохимии онтогенеза

### **ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТА И ТИРОКСИНА НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ВКЛЮЧЕНИЯ АМИНОКИСЛОТ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ БЕЛОКСИНТЕЗИРУЮЩЕЙ СИСТЕМОЙ**

Ранее Е. В. Париной, В. П. Мищенко и др. [1] было показано, что включение меченых аминокислот в белки митохондрий печени, происходящее в результате координированного действия двух белоксинтезирующих систем — цитоплазмы и самих митохондрий [2], к старости снижается. Однако ряд исследователей отводит митохондриальному аппарату белкового синтеза ведущую роль в формировании ферментативных ансамблей митохондрий и самих органоидов в целом [2]. Поэтому представляло интерес выяснить, как с возрастом меняется активность митохондриальной системы белкового синтеза, что можно определить по включению метки в белки митохондрий в системе *in vitro*, где чистые митохондрии инкубируются в определенных условиях с соответствующей меченой аминокислотой [3].

В связи с изложенным задача настоящей работы заключалась в изучении интенсивности включения  $C^{14}$ -гидролизата белка или  $C^{14}$ -лейцина в митохондриальные белки печени белых

крыс разного возраста в норме, а также при введении тироксина, усиливающего митохондриогенез.

Исследования проводили на белых крысах линии Вистар в возрасте 1, 3, 12 и 24 месяцев, которые были разбиты на 4 группы: контрольные (норма); получившие однократно тироксин в дозе 500 мкг на 100 г массы; получившие на фоне тироксина циклогексимид (3 инъекции в течение 48 ч по 50 мкг на 100 г массы каждая) и хлорамфеникол (через каждые 6 ч в количестве 1400 мкг на 100 г массы однократно). Животных забивали через 48 ч после введения гормона. Из печени подопытных крыс выделяли митохондрии, в них определяли белок, как описано в работе [4], а также включение  $C^{14}$ -гидролизата или  $C^{14}$ -лейцина по методу D. Beattie e. a. [3]. Определение радиоактивности в отмытых после инкубации митохондриях проводили в жидкостном сцинтилляционном счетчике СБС-1 с эффективностью счета по углероду 80%. Все данные включения метки в белки митохондрий печени крыс разного возраста в системе *in vitro* (имп. в мин/1 мг белка) статистически обработаны и представлены в таблице и на рисунке в виде средних арифметических из 6—8 повторностей. Из полученных результатов видно, что уровень включения аминокислот  $C^{14}$ -гидролизата, так же как и внедрение  $C^{14}$ -лейцина, специфичного для гидрофобных полипептидов, синтезируемых митохондриальным аппаратом [2], с возрастом животных практически не изменяется, что согласуется с данными А. Я. Литошенко [5], изучавшим *in vitro* включение метки в митохондрии печени взрослых и старых крыс.

Сопоставление ранее полученных данных [1] по включению меченых аминокислот в митохондрии печени, отражающих работу обеих белоксинтезирующих систем, с нашими результатами,

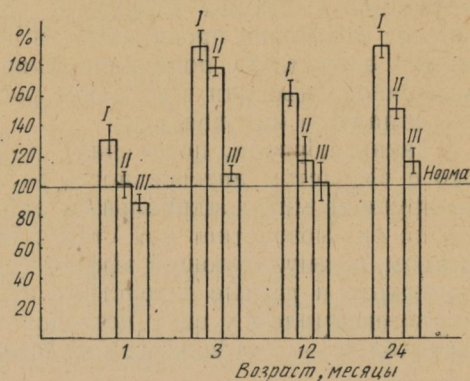
Возраст, месяцы	$C^{14}$ -гидролизат-белка		$C^{14}$ -лейцин	
	Значение	Процент	Значение	Процент
1	1756±242	100%	459±42	100%
3	1968±85	112%	417±38	91%
12	1591±183	90%	438±60	95%
24	1663±191	95%	398±38	87%

характеризующими интенсивность работы митохондриальной системы протеосинтеза, не обнаруживает корреляции в направленности их возрастных изменений. Отсюда следует, что у молодых животных (1- и 3-месячных) в формировании

митохондрий большую роль играет ядерно-цитоплазматическая система. Это, по-видимому, связано с тем, что митохондрии печени животных в начальные периоды постнатального онтогенеза еще не полностью укомплектованы ферментами, синтезируемыми в цитоплазме [6].

Однократное введение животным разных возрастов тироксина приводит к резкому увеличению включения  $C^{14}$ -лейцина

в белок митохондрий (см. рисунок), что обусловлено не возра-  
 станием аминокислотного пула внутри органелл в результате  
 изменения проницаемости митохондрий, а отражает усиление  
 синтеза митохондриальных белков [7]. Тироксин в наименьшей  
 степени влияет на включение в белки митохондрий неполовозре-  
 лых крыс, повышая его только на 30%, тогда как у остальных  
 подопытных животных, особенно у 3- и 24-месячных, он приво-  
 дит почти к двукратному



Изменение уровня включения  $C^{14}$ -лейцина в белки митохондрий печени *in vitro* при введении тироксина (I), а также тироксина с хлорамфениколом (II) или циклогексимином (III) белым крысам разного возраста (в % от уровня нормы).

увеличению уровня включения. Аналогичным образом меняется при воздействии тироксина и синтез отдельных ферментных систем митохондрий: олигомицинчувствительной АТФ-азы [8], образующейся за счет совместного участия митохондриальной и цитоплазматической систем белкового синтеза [2], и сукцинатдегидрогеназы [4], синтезирующейся в цитоплазме [2]. Это, по-видимому, отражает синхронность в изменении активности двух аппаратов белкового синтеза при действии тироксина и свидетельствует о сохранении в онтогенезе тех регуляторных систем, которые обеспечивают их взаимодействие в формировании белков данных органелл.

Поскольку известно, что многие компоненты митохондриальной белоксинтезирующей системы имеют цитоплазматическое происхождение [2], то представляло интерес выяснить, осуществляется ли на разных этапах онтогенеза стимуляция тироксином при выключении циклогексимином цитоплазматической белоксинтезирующей системы. Как видно из рисунка, одновременное введение циклогексимида с тироксином полностью снимает стимулирующий эффект гормона. Этот факт убедительно свидетельствует в пользу того, что на всех этапах онтогенеза функционирование цитоплазматической белоксинтезирующей системы одинаково необходимо для работы митохондриального аппарата белкового синтеза. Кроме того, эти данные показывают, что для реализации гормонального действия тироксина в разные возрастные периоды необходима активация и цитоплазматической системы белкового синтеза.

Введение хлорамфеникола — ингибитора митохондриального аппарата белкового синтеза совместно с тироксином обнаружило неодинаковый эффект в разном возрасте. Судя по ри-

сунку, хлорамфеникол полностью снимает стимулирующее действие тироксина у 1- и 12-месячных крыс, лишь частично у 24-месячных и практически не влияет на включение у 3-месячных. По всей вероятности, у 3-месячных животных те дозы хлорамфеникола и ритм его введения, которые мы избрали, не обеспечивали эффективной концентрации антибиотика в крови (5 мкг на 1 мл крови [9]), возможно, в связи с интенсивным его выведением. У старых животных, по-видимому, основную роль играют изменения проницаемости различного рода мембран, что может затруднять попадание хлорамфеникола после внутримышечной инъекции в кровяное русло, а из него — внутрь клеток и далее в митохондрии.

Таким образом, полученные данные позволяют утверждать, что с возрастом интенсивность включения метки в белки, синтезируемые митохондриальным аппаратом *in vitro*, не изменяется, но она возрастает при стимуляции митохондриогенеза тироксином. Стимулирующий эффект гормона, который выражен неодинаково в разные возрастные периоды, полностью снимается циклогексимином у всех исследованных животных, а хлорамфениколом — в отдельные возрастные периоды.

**Список литературы:** 1. *Е. В. Парина, Н. М. Новикова, В. П. Мищенко.* О составе и свойствах митохондрий и микросом в онтогенезе. — В кн.: I Всесоюз. биохим. съезд: Тез. докл., ч. 2, М.—Л., изд-во АН СССР, 1963, с. 48. 2. *Нейфах С. А.* Роль митохондрий в клеточной наследственности. — В кн.: Молекулярная генетика митохондрий. Л.: Наука, 1977, с. 8—18. 3. *Beattie D., Patton G. M., Stuchell R. M.* Studies *in vitro* on amino acids incorporation into purified components of rat liver mitochondria. — *J. Biol. Chem.*, 1970, 245, N 8, p. 2177—2184. 4. *Новикова Н. М., Филатова В. А.* Влияние тироксина и совместного введения его с ингибиторами белкового синтеза на активность сукцинатдегидрогеназы в печени крыс разного возраста. — В кн.: Актуальные проблемы возрастной физиологии, биохимии и биофизики. К.: Наук. думка, 1978. 5. *Лигошенко А. Я.* Биосинтез митохондриальных белков. — В кн.: Генетические механизмы старения и долголетия. — К.: Наук. думка, 1977, с. 86—90. 6. *Levy M., Toury R.* Etude de l'évolution des activités des enzymes mitochondriales de l'hépatocyte au cours du développement du rat. — *Biochim. et biophys. acta*, 1970, 216, N 2, p. 318—327. 7. *Buchanan J., Primatek M. P., Tapley D. F.* The effect of thyroxine *in vitro* on the specific activity of the mitochondrial pool of amino acid. — *Biochim. et biophys. acta*, 1970, 222, N 2, p. 536—539. 8. *Новикова Н. М., Оравцова Д.* Возрастные особенности влияния инсулина и тироксина на активность олигомицинчувствительной АТФ-азы митохондрий печени белых крыс. — В кн.: Актуальные проблемы возрастной физиологии, биохимии и биофизики. К.: Наук. думка, 1978. 9. *Kroon A. M., Vries H. de.* The effect of chloramphenicol on the biogenesis of mitochondria of rat liver *in vivo*. — *FEBS letters*, 1969, N 3, p. 208—210.

В. М. ФИЛАТОВА, Д. В. ПУСТОВАРОВА

Кафедра биохимии

**АКТИВНОСТЬ АРГИНИНСУКЦИНАТ СИНТЕТАЗЫ В ПЕЧЕНИ  
МОЛОДЫХ И ВЗРОСЛЫХ КРЫС ПРИ ИЗБЫТОЧНОМ  
ПОТРЕБЛЕНИИ БЕЛКА В СОЧЕТАНИИ С ВВЕДЕНИЕМ  
ГИДРОКОРТИЗОНА**

Способность гидрокортизона повышать активность ферментов синтеза мочевины [1, 2] является одним из звеньев общего действия данного гормона на обмен аминокислот, усиливающего их использование в глюконеогенезе. В результате исследований установлены различия в действии гидрокортизона на активность аргининсукцинат синтетазы (АСС) и аргиназы в печени животных разного возраста [3].

В связи с дальнейшим изучением возрастных особенностей регуляции этих ферментов и ее механизмов было целесообразно выяснить характер действия гидрокортизона в условиях повышенного катаболизма белков в организме, вызванного их избыточным потреблением. Этому вопросу посвящена настоящая работа, в которой изучалось действие гидрокортизона на активность АСС в печени молодых крыс и крыс зрелого возраста на фоне диеты с разным содержанием белка.

В опытах использовались крысы линии Вистар в возрасте 1 и 12 месяцев. Животные разделены на несколько групп: 1-я (контрольная) — животные находились на рационе вивария, содержащем около 9% белка, значительную часть которого составляли белки растительного происхождения; 2-я и 3-я — крысы получали рацион с 15% и 70% казеина соответственно в течение 3 сут; 4-я и 5-я — крысы, содержавшиеся в тех же условиях, что и во 2-й и 3-й группах, получали гидрокортизон в дозе 25 мг на 1 кг массы тела внутримышечно (один раз в сутки в течение 3 сут). Животных убивали декапитацией через сутки после последнего введения гидрокортизона и в навеске извлеченной печени определяли активность АСС по указанной выше методике [4].

Статистическая обработка полученных результатов производилась по Стьюденту—Фишеру. О влиянии введения гидрокортизона в сочетании с разным содержанием белка в пище на активность АСС в печени крыс (в мкмольх цитруллин/1 г печени/60 мин) дает представление таблица.

Анализируя результаты исследований (таблица), следует прежде всего остановиться на зависимости активности АСС от содержания белка в рационе.

Как видно, уже при сравнительно небольшом увеличении белка в рационе (15% казеина) активность фермента значи-

Возраст, месяцы	У с л о в и я о п ы т а				
	Контроль а	15% казеина б	70% казеина в	15% казеина +ГК г	70% казеина +ГК д
1	66,98±3,12 100%	81,88±3,41 122%	102,35±2,57 153%	107,37±4,62 161%	115,9±2,87 173%
12	83,62±3,98 100%	131,23±6,00 158%	139,47±6,63 167%	120,84±4,50 145%	137,3±3,87 164%

\*  $p < 0,05$  при сравнении а—б 1- и 12-месячных; б—в, б—г и в—д 1-месячных крыс.

тельно возрастает, что свидетельствует о повышении интенсивности синтеза мочевины, вызванного усилением катаболизма аминокислот и освобождением аммиака. При этом разная степень повышения активности АСС у 1-месячных и годовалых крыс, по-видимому, отражает возрастные различия в характере аминокислотного обмена.

У неполовозрелых растущих животных значительная часть аминокислот, образовавшихся из поступившего белка, утилизируется для синтеза собственных белков. У крыс же зрелого возраста, ввиду снижения интенсивности синтетических процессов, количество аминокислот, включающихся в биосинтез белка, значительно меньше.

Отсюда возникают обратные отношения в интенсивности аминокислотного распада. Он слабее выражен у 1-месячных крыс, чем у 12-месячных. В соответствии с этим у последних в большей мере растет активность АСС, что приводит к усилению функции цикла Кребса—Гензелейта. Дополнительное увеличение содержания белка в рационе (70% казеина) приводит к дальнейшему повышению уровня данного фермента только в печени молодых животных, тогда как у животных зрелого возраста он практически не изменяется. Наблюдаемые различия также отражают соотношения в путях утилизации аминокислот у ранних возрастных групп.

У годовалых крыс уже в условиях меньшего содержания белка в пище создавался большой избыток аминокислот, не утилизируемых в процессе синтеза, что приводило к максимальному возрастанию активности АСС и исчерпывало дальнейшие возможности ее повышения в данных условиях. Следует отметить, что при большой нагрузке белком степень повышения оказывалась одинаковой у крыс обеих возрастных групп.

Введение гидрокортизона на фоне разного содержания белка в пище выявило существенные возрастные различия в реакции животных на данное воздействие. У 1-месячных крыс оно вызвало существенный дополнительный прирост активности на

фоне диеты с 15% казеина и значительно слабее выраженный при большой нагрузке организма белком. В результате, разница в уровнях активности АСС после введения гидрокортизона при изменении содержания белка в пище составляет 15%. У годовалых крыс введение гидрокортизона в тех же условиях не вызвало дополнительного прироста активности. Более того, она даже несколько снизилась на диете с 15% казеина, что, возможно, является случайным и требует дальнейшей проверки. Полученные данные свидетельствуют о том, что эффект действия гидрокортизона на активность АСС зависит от содержания белка в пище, у 1-месячных крыс он менее выражен при усиленной белковой нагрузке. У крыс зрелого возраста в данных условиях гидрокортизон вовсе не повышает активность АСС, несмотря на то что введение его на фоне обычного рациона вивария вызывает повышение активности АСС в поздние периоды онтогенеза [5].

На основании полученных данных можно предположить, что существуют какие-то общие звенья в механизме действия избыточного потребления белка и гидрокортизона на системы, контролируемые уровень АСС в печени. Поскольку гидрокортизон индуцирует синтез этого фермента, очевидно, подобным образом действует на АСС и усиленный катаболизм аминокислот.

**Список литературы:** 1. *Schimke R. T.* Studies on Factors Affecting the levels of Uree Cycle Enzymes in Rat liver.— I. Biol. Chem., 1963, N 3, 238, p. 1012—1018. 2. *Mc Lean P., Gurney M. W.* Effect of adrenalectomy and of growth hormone on enzymes concerned with urea synthesis in rat liver.— I. Biochem., 1963, 87, 1, p. 96—104. 3. *Филатова В. М., Шевкина Т. В.* Активность аргининсукцинат синтетазы в печени крыс разного возраста после введения гидрокортизона. Материалы симпозиума. Механизм действия гормонов. Ташкент, изд. ФАН, 1976, с. 11. 4. *Филатова В. М., Шевкина Т. В.* Активность аргининсукцинат синтетазы в печени крыс разного возраста. — В кн.: Физиологические и молекулярные аспекты онтогенеза.— Киев: Наук. думка, 1977.— 242 с.

УДК 575.18.595.772:570.22

В. Г. ШАХБАЗОВ, д-р биол. наук, А. В. НЕКРАСОВА,  
канд. биол. наук, Г. Е. ЛАПТА, О. В. ТАГЛИНА, В. Н. ГРИШИНА  
Кафедра генетики и цитологии, отдел генетики и биофизики гетерозиса НИИ  
Биологии Харьковского университета

**ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТА РОДИТЕЛЬСКОГО ПОКОЛЕНИЯ  
DROSOPHILA MELANOGASTER НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ  
ПОТОМКОВ И ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГОМОЛОГИЧНЫХ  
ХРОМОСОМ**

Вопросы влияния старения репродуцирующих особей на проявление количественных признаков у потомства имеют важное значение как для сельского хозяйства, так и для медицины. Генетические основы этого явления изучены недостаточно. Ранее было показано, что увеличение возраста родителей влияет на плодовитость и продолжительность жизни потомков при голодании [1].

В данной работе эти исследования были продолжены и введены новые показатели, характеризующие взаимодействие гомологичных хромосом.

Жизнеспособность имаго дрозофилы оценивали по продолжительности жизни и теплоустойчивости [2]. Степень взаимодействия хромосом характеризовали по изменению рекомбинации на участке *b-vg* второй хромосомы и по нарушению конъюгации гомологичных хромосом в клетках слюнных желез личинок [3]. Эксперименты проводили на инбредных линиях различного географического происхождения.

Установлено, что старение родительского поколения отрицательно влияет на продолжительность жизни потомков. Различия между контрольным и опытным вариантом составляют от 9,5 до 20% (табл. 1). Увеличение возраста имаго до 22-х дней значительно снижает устойчивость потомков к действию высокой температуры. Процент выживших после температурной обработки особей в этой группе меньше, чем в контроле в 1,4—1,8 раза (табл. 2). Наряду со снижением жизнеспособности у потомков более старых родителей отмечены изменения во взаимодействии гомологичных хромосом. Исследование кроссинговера показало, что при увеличении возраста родителей до 20 дней происходит уменьшение числа рекомбинаций (рис. 1, б). В этом же возрасте частота встречаемости асиапсиса для

каждой хромосомы увеличивается по отношению к норме (рис. 1, а). Полученные результаты подтверждают обнаруженную ранее связь между старением родительского поколения дрозофилы и снижением жизнеспособности потомков, причем эти изменения жизнеспособности явно проявляются в отношении

Таблица 1

Влияние возраста родителей на продолжительность жизни потомков, сут

Линии	Пол	Возраст родителей		р
		1—3 дня, контроль	12 дней	
Мерефянская	м	37,7±1,0	31,6±1,8	0,01
	ж	40,6±1,9	32,3±1,9	0,001
Домодовская 18	м	28,7±1,0	26,0±0,9	0,05
	ж	30,0±1,7	22,6±1,8	0,001

Таблица 2

Проявление теплоустойчивости у потомков родителей разного возраста (% живых особей после температурной обработки)

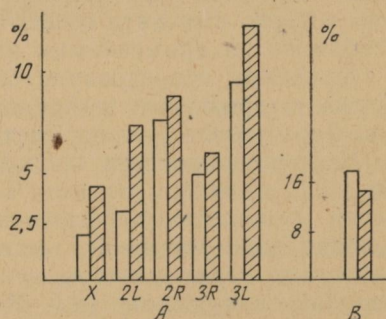
Линии	Пол	Возраст родителей		р
		1—3 дня, контроль	20—22 дня, опыт	
Курган	м	75,3±2,0	44,0±1,9	0,001
	ж	72,4±2,0	44,2±1,8	0,001
Мерефянская	м	44,9±2,4	27,6±2,6	0,001
	ж	44,3±2,1	32,1±2,7	0,001
Ленинградская	м	49,6±2,5	37,1±2,8	0,001
	ж	43,9±2,1	30,9±2,8	0,001

теплоустойчивости. Обнаруженное повышение асинапсиса во всех пяти плечах гомологичных хромосом и снижение процента кроссинговера по 2-й хромосоме у потомков старых родителей показывает, что в данном случае уменьшение связи между

Изменение характера взаимодействия хромосом у дрозофилы в зависимости от возраста родителей:

А — частота встречаемости асинапсиса для каждого плеча политенных хромосом;

В — процент рекомбинации на участке *b-vg* II хромосомы. (возраст родителей 1—2 дня (□) и 20 дней)



гомологами сопровождается снижением жизнеспособности и теплоустойчивости. Природа синапсиса и асинапсиса хромосом изучена пока недостаточно. Повышение асинапсиса отмечено нами у гетерозисных гибридов дрозофилы [3]. Изложенные выше данные позволяют предположить, что в зависимости от состояния организма процесс асинапсиса может иметь разную природу.

Список литературы: 1. Некрасова А. А. Влияние возраста родителей на некоторые характеристики жизнеспособности двух поколений дрозофилы. — Вестн. Харьк. ун-та, 1974, 103. Биология, вып. 6, с. 54—56. 2. Некрасова А. В., Шахбазов В. Г. Об изменениях теплоустойчивости имаго дрозофилы в зависимости от возраста родителей. — Цитология и генетика, 1972, т. 6, с. 544—547. 3. Ланга Г. Е., Шахбазов В. Г. Нарушение конъюгации поли-тенных хромосом инбредных линий и межлинейных гибридов *Drosophila melanogaster*. — Вестн. Харьк. ун-та, 1974, № 105. Биология, вып. 6, с. 57—61.

УДК 575.222.78.013

З. П. ДЕРЮГИНА, А. Л. НАБОКОВ,  
В. Г. ШАХБАЗОВ, д-р биол. наук

Отдел генетики и биофизики гетерозиса НИИ биологии

### О ВЛИЯНИИ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ПРОЦЕСС РЕПАРАЦИИ ТЕПЛООВОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПРОРОСТКОВ РАСТЕНИЙ

В области изучения теплоустойчивости и тепловых воздействий на ткани и клетки растений проведено большое число исследований [1]. Однако по вопросу, которому посвящена настоящая статья, литературные сведения нам не известны.

Прежними исследованиями установлена связь теплового повреждения с электронной деполяризацией клеток меристемы корней проростков растений [2]. В связи с этим представлялось важным выяснить возможность снятия или снижения теплового повреждения клеток путем дополнительного электрического воздействия.

Ранее была показана повышенная теплоустойчивость гетерозисных гибридов и отличие гибридов по биоэлектрическим свойствам клеточных ядер после прогрева [3, 4]. Поэтому представляло интерес выяснить генетические различия в реакции линий и гибридов на применяемые электрические воздействия.

Объектами исследования служили 4-дневные проростки кукурузы гетерозисного гибрида Буковинский-3 и его родительских форм: сорта Глория Янецкого и линии Харьковская-44.

Прогрев проростков проводили в водном ультратермостате при 43° С в течение 10 мин. Через 30 мин после прогрева проростки подвергали действию постоянного электрического тока в специальной установке, где к меристеме и зоне роста корней проростков через платиновые электроды и агаровые мостики подвели напряжение (2,5—3,0 В).

Контролем служили проростки, прораставшие в нормальных условиях, а также прогретые проростки, но не подвергнутые электрическому воздействию.

В качестве показателя теплового повреждения проростков и влияния электрического тока учитывали прирост через сутки после воздействия. Этот показатель отражал активность репарационных процессов, восстановление митотической активности и рост корней проростков.

Как было установлено, направление тока имело важное значение. О влиянии постоянного электрического тока (2,5  $\mu a$ ) в течение 30 мин на прирост корней проростков кукурузы разных по генотипу после теплового повреждения дают представление данные варианта меристема—катод, оказавшегося более благоприятным для растений (таблица).

Объект	п	Вариант	Прирост за сутки			Уровень значимости между						
			мм	% от N	% от $K_t$	вариантами $K_t-t, I$	формами					
							1-2	2-3	3-1			
Сорт (1)	30	N	21,3±1,2	100±5,4		p > 0,99						
		$K_t$	8,4±0,8	39,9±4,3	100±9,8							
		t, I	12,6±2,0	59,2±9,8	157±4,0							
Линия (2)	100	N	31,7±0,1	100±0,2		p > 0,99	p < 0,95	p > 0,99	p < 0,95			
		$K_t$	8,8±0,1	27,7±0,2	100±0,6							
		t, I	10,3±0,2	32,5±0,6	150,7±2,4							
Гибрид (3)	75	N	25,4±0,1	100±0,2		p > 0,99						
		$K_t$	10,6±0,1	41,7±0,2	100±0,5							
		t, I	13,3±0,2	51,6±0,7	133,5±1,7							

Как видим, электрическое воздействие способно существенно (на 33—57%) повышать прирост проростков после прогрева, что подтверждает результаты наших прежних исследований о связи теплового повреждения с электронной деполяризацией клеток меристемы корней проростков растений.

Приведенные данные указывают на генетические различия в процессах репарации теплового повреждения родительских форм и гибрида на применяемые электрические воздействия, заключающиеся в пониженной стимуляции у гибрида.

Таким образом, в результате проведенной работы впервые доказана возможность снижения теплового повреждения клеток дополнительным электрическим воздействием.

**Список литературы:** 1. Клетка и температура среды.—Труды международного симпозиума по цитозологии.—М.—Л.: Наука, 1964.—304 с. 2. Шахбазов В. Г. О связи теплоустойчивости и теплового повреждения клеток с их биоэлектрическими свойствами.— В кн.: Устойчивость к экстремальным температурам и температурные адаптации. Харьков, Изд-во при Харьк. ун-те, 1971, с. 40—47. 3. Шахбазов В. Г., Попель А. Т. Теплоустойчивость гибридных семян и методика ее определения.— В кн.: Биологические основы повы-

шения качества семян с.-х. растений. М.—Л.: Наука, 1964, с. 51—53. 4. Изменения электрических потенциалов клеток, разных по генотипу, под влиянием высокой температуры /В. Г. Шахбазов, Л. В. Котенко, Е. Ф. Копейка, А. Л. Набоков.—Цитология и генетика, 1971, т. 4, № 4, с. 352—355.

УДК 576.315:577.3:615

Л. А. ТРАМЕНТОВА, канд. биол. наук, Т. П. КИРИЧЕНКО

Кафедра генетики и цитологии

### ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ МУТАГЕННОЙ ПРИРОДЫ НА ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА (ЭКС) КЛЕТОЧНЫХ ЯДЕР

В связи с обнаруженной ранее связью между уровнем мутирования клеток и ЭКС ядер [1] руководитель этих исследований В. Г. Шахбазов высказал предположение о возможной роли электрического заряда клеточных ядер в индуцировании хромосомных аберраций. Цель данной работы — продолжить начатые исследования и сравнить влияние лекарственных средств мутагенной и немутагенной природы на ЭКС ядер. Исследованы широко известные лекарственные средства: аминазин, кофеин, норсульфазол, мутагенная активность которых доказана [2]; экспериментальные лекарственные препараты, полученные из Харьковского медицинского института: аймалин и АСБ, мутагенное действие которых установлено на кафедре генетики и цитологии ХГУ. Изучены также диметилсульфоксид — соединение, являющееся, по мнению одних авторов, мутагеном, а других — антимуагеном [2]; глюкоза, которая не обладает мутагенным действием. Пленку эпидермиса лука замачивали в водных растворах указанных соединений, после чего промывали в водопроводной воде и учитывали процент подвижных ядер и направление их смещения методом внутриклеточного микроэлектрофореза. Учитывали также ядра с подвижным хроматином, который обладает устойчивым отрицательным зарядом. Исследовали различные концентрации и экспозиции указанных веществ на чешуях различного возраста. Установлено, что действие указанных веществ на ЭКС ядер сильнее выражено при более высокой концентрации и возрастает с увеличением экспозиции. В таблице представлены варианты с наиболее четкими различиями между контролем и опытом.

Установлено, что аминазин на 20% по отношению к контролю снижает долю ядер с положительным зарядом ( $p > 0,999$ ) и в 2,5 раза увеличивает количество ядер с подвижным хроматином ( $p > 0,999$ ). Кофеин уменьшает долю катодных на 10% ( $p = 0,99$ ) и увеличивает процент ядер с подвижным хроматином в 2,2 раза ( $p > 0,999$ ). Норсульфазол практически не влияет на

ядра с положительным зарядом и в 1,5 раза ( $p=0,99$ ) повышает процент ядер с подвижным хроматином. Диметилсульфоксид снижает количество катодных ядер на 15% ( $p>0,999$ ), при этом процент ядер с подвижным хроматином увеличивается в 2,3 раза ( $p>0,999$ ). Аймалин и АСБ, снижая количество ядер с положительным зарядом на 6% и 8% ( $p=0,91$  и  $p=0,95$ ), соответственно в 2,2 ( $p=0,95$ ) и 1,5 ( $p=0,99$ ) раза повышают долю

Вещество	Концентрация, %	Чешуя	Время обработки, мин	Количество ядер %	Катодные ядра	Ядра с подвижным хроматином, %
Контроль		1	—	371	76,5±2,2	16,7±1,9
Аминазин	2,5	1	5	379	60,9±2,5	39,5±2,5
Контроль		5	—	297	90,7±1,2	7,5±0,6
Кофеин	20,0	5	1	296	82,0±0,6	16,5±0,8
Контроль		3	—	298	86,1±4,1	9,7±1,4
Норсульфазол	3,0	3	5	299	80,9±3,1	14,7±1,1
Контроль		3	—	315	85,3±1,9	9,5±1,7
Диметилсульфоксид	50,0	3	1	304	73,7±2,5	22,3±2,3
Контроль		2	—	281	87,5±0,7	4,9±0,3
Аймалин	2,5	2	10	270	81,8±1,7	10,7±1,0
Контроль		1	—	478	79,4±2,1	14,6±0,9
АСБ	0,1	1	10	485	73,1±1,3	21,8±1,5
Контроль		2	—	271	85,2±2,2	9,2±1,2
Глюкоза	4,5	2	10	294	85,0±3,7	5,4±0,4

ядер с подвижным хроматином. Глюкоза не влияет на подвижность катодных ядер и недостоверно снижает процент ядер с подвижным хроматином. В целом исследованные лекарственные препараты мутагенной природы снижают положительный и увеличивают отрицательный заряд клеточных ядер, что может в какой-то мере отражать премутационное состояние ядерного генетического аппарата [3].

**Список литературы:** 1. Атраментова Л. А., Шахбазов В. Г., Попа Н. Е. О связи электрокинетического потенциала клеточных ядер с уровнем естественного и индуцированного мутагенеза.— В кн.: Молекулярная генетика и биофизика. Киев: Наук. думка, 1977, т. 2, с. 72—77. 2. Золотарева Г. И., Исхакова Э. И., Остапенко Н. Г. Использование семян *Allium fistulosum* L. в качестве предварительного теста при изучении мутагенных факторов окружающей среды (лекарственных средств).— Цитология и генетика, 1977, т. II, № 1, с. 62—65. 3. Дубинин Н. П. Продленный мутагенез и проблема репараций.— Изв. АН СССР. Сер. биол., 1975, № 3, с. 349—356.

В. Г. ШАХБАЗОВ, д-р биол. наук, Н. Н. БРОВИНА, канд. мед. наук,  
Т. В. КОЛУПАЕВА, Г. В. ТЕРЕЩЕНКО, Л. П. НАМИТОВА

Отдел генетики и биофизики гетерозиса НИИ биологии ХГУ  
Харьковский НИИ неврологии и психиатрии

### О НЕКОТОРЫХ ОСОБЕННОСТЯХ КЛЕТОЧНЫХ ЯДЕР БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ БОЛЬНЫХ ШИЗОФРЕНИЕЙ

Изучению этиологии шизофрении посвящены многочисленные и разносторонние исследования, однако природа этого заболевания, как известно, все еще остается недостаточно ясной. В связи с этим оправданы поиски новых подходов и методов для дальнейших исследований в этой области. В этом плане проведено и данное разведывательное исследование.

Цитологические исследования проявлений шизофрении проводились и ранее. Описаны изменения формы тромбоцитов [1] и повышение процента физиологически активных лимфоцитов у больных шизофренией [2—4]. Эти исследования свидетельствуют о проявлениях шизофрении на уровне клеток, непосредственно не связанных с нейронами.

Эта работа посвящена выяснению возможности выявления изменений клеточных ядер в клетках буккального эпителия у больных шизофренией до и после лечения. Нами применены методы карิโอметрии и внутриклеточного микроэлектрофореза, которые с этой целью, судя по доступной литературе, ранее не применялись. Второй из этих методов — измерение электрокинетических свойств (ЭКС) клеточных ядер для клеток растений, животных и человека разработан на кафедре генетики и цитологии Харьковского университета [5].

Исследование проведено на группе женщин в возрасте от 23 до 37 лет, больных параноидной формой шизофрении и находившихся на лечении в 15-й психоневрологической больнице г. Харькова. Контрольную группу составляли женщины тех же возрастов — сотрудники лабораторий института и университета, в которых проводились исследования.

Методика карิโอметрии достаточно хорошо разработана [6]. В данном исследовании микрокопирование вели в основном на микроскопе МБИ-15 при увеличении в 640 раз, посредством окуляр-микрометра измеряли два диаметра ядер, объем (в  $\mu\text{м}^3$ )

вычисляли по формуле  $V = \frac{\pi}{6} aB^2$  [6].

Методика внутриклеточного микроэлектрофореза нативных клеточных ядер описана ранее [5]. Нами использована камера с платиновыми электродами, электрофорез вели при напряжении на электродах 50 В и токе 0,5 мА.

Как показано ранее, ядра клеток буккального эпителия человека всегда имеют анодное смещение, однако отрицательный

заряд проявляется не у всех ядер, что зависит от возраста донора и некоторых воздействий [7]. В качестве показателя ЭКС учитывали процент клеток, в которых ядра смещались к аноду.

Для кариометрии в каждом варианте учета использовали 900—1000 ядер, при измерении ЭКС на каждую пробу готовили по 6—10 препаратов и в каждом препарате учитывали по 100 ядер.

С целью уточнения методики изучено также влияние среды, в которой находились клетки, на состояние клеточного ядра.

Соскобы клеток буккального эпителия проводили в 10 ч после предварительной подготовки ротовой полости донора путем легкого нажатия тупого шпателя. Влияние на состояние ядер содержания клеток в разных средах при комнатной температуре показано в табл. 1. Судя по изучаемым показателям, клетки хорошо сохранялись в водопроводной воде в течение суток. Из таблицы также видно, что повреждение, вызываемое дистиллированной водой, проявилось в уменьшении размеров клеточных ядер и в снижении их электрофоретической подвижности. В основной серии опытов кариометрия и внутриклеточный электрофорез проводились в течение одного часа после взятия пробы клеток, содержащихся в водопроводной воде, что, как было показано выше, не изменяло существенно их состояния по изучаемым показателям.

Таблица 1

Вариант	Время после взятия пробы	Среда переливания	Размеры ядер, мк	Различия между вариантами p, %	Клетки с подвижными ядрами, %	Различия между вариантами p, %
1		Слюна донора	380,9±28,2		55,2±2,2	
2	30—60 мин	Водопроводная вода	—	—	57,4±2,2	2—3 99,9
3		Дистиллированная вода	—	—	45,2±2,2	
4		Слюна донора	388,5±27,8		54,4±2,2	
5		Водопроводная вода	295,4±13,6	4—5 99,9	57,0±2,0	
6	24 ч	Дистиллированная вода	245,7±18,6	4—6 99,9	34,2±2,0	3—6 99,9
7		Физиологический р-р	270,6±25,9	4—7 99,9		

В табл. 2 приведены сведения о средних данных кариометрии и электрофореза клеточных ядер здоровых и больных женщин. Больные обследовались также после трехнедельного лечения. Лечение проводилось нейролептиками (галоперидолом, амизаном, модитен-депо), инсулином и другими препаратами. При этом состояние больных улучшилось: исчезли бред и галлюцинации, нормализовался сон и аппетит.

Согласно данным табл. 2, объем ядер в клетках буккального эпителия у больных увеличен, а в процессе лечения снижается. Процент ядер, смещающихся в поле, у больных в начале обследования снижен, а в процессе терапии повышается.

Таблица 2

Вариант	Состояние донора	Размеры ядер, мк	Различия между вариантами Р, %	Клетки с подвижными ядрами, %	Различия между вариантами Р, %
1	Здоровые женщины	306,6±2,7		67,0±1,7	
2	Больные в начале лечения	406,1±4,1	1—2 99,9	60,3±1,6	1—2 99,9
3	Больные через 3 недели лечения	373,3±4,4	2—3 99,9	66,2±1,5	2—3 99,9

Для окончательных выводов по двум измеренным показателям полученных данных пока недостаточно. Проведенное исследование является разведывательным. Однако оно, по нашему мнению, свидетельствует о перспективности применения предложенных показателей как дополнительных биологических тестов при изучении патогенеза шизофрении. В дальнейших исследованиях в этой области необходимо уточнение форм болезни, применяемых лекарственных препаратов и других условий, которые должны оказывать дополнительное влияние на изучаемые показатели.

**Список литературы:** 1. *Ксалабардер К.* Патологические изменения тромбоцитов у больных шизофренией.—Мед. реф. журн., 1974, № 14, 5, с. 14. 2. *Богданова Е. Д., Лидерман Р. Р.* О некоторых особенностях морфологии лимфоцитов у больных шизофренией и их родственников.—Журн. невропатологии и психиатрии, 1967, № 6, с. 924—929. 3. *Бонарцев П. Д., Буразлев В. М.* Электронномикроскопические исследования взаимодействия между лимфоцитами больных шизофренией и клетками мозга эмбрионов человека в условиях культуры ткани.—Журн. невропатологии и психиатрии, 1976, № 4, с. 683—688. 4. *Прилипко Л. Л., Курилова И. И., Богданова Е. Д.* Выделение субпопуляции активированных лимфоцитов из периферической крови больных шизофренией.—Журн. невропатологии и психиатрии, 1977, № 1, с. 78—82. 5. *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, т. 16, вып. 3, с. 457—461. 6. *Хесин Я. Е.* Размеры ядер и функциональное состояние клеток.—М.: Медицина, 1967.—423 с. 7. *Шахбазов В. Г., Колупаева Т. В.* О связи возраста, пола и утомления человека с электрокинетическими свойствами клеточных ядер.—Вестн. Харьк. ун-та, 1978, № 164. Проблемы онтогенеза, гетерозиса и экологии животных, с. 34—36.