научны Е Доклады высшей ш колы

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

2 (98)

ГОД ВИНАДЕИ В ПЯТНАДЦАТЫЙ

*6x0/1



РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

С. С. Андреенко (зам. отв. редактора), Е. Я. Борисенко, В. Г. Гептнер, Н. А. Гладков (зам. отв. редактора), М. В. Горленко, В. И. Гусельников, Г. В. Добровольский, Б. Г. Иоганзен, Е. Н. Кондратьева, Г. Б. Мельников, Г. В. Никольский (отв. редактор), Д. С. Орлов, Ф. Н. Правдин, Б. А. Рубин, В. П. Скулачев, А. Н. Сладков, Б. П. Токин, А. А. Уранов, С. С. Хохлов, Н. И. Шапиро, В. В. Юркевич, В. П. Якимов

Отв. секретарь редакции — И. И. Гиндина; ст. редакторы — Л. Я. Мокеичева и И. В. Никитинская

СОДЕРЖАНИЕ

Зоология

Г. Л. Травкина. Апализ реакции яичников самок ерша на воздействие препарата гипофиза в различных дозах	7 11 17				
Физиология и биохимия животных					
И. И. Иванова, В. Ф. Лапшина, О. А. Шевригина. Влияние аутотранс- плантации щитовидной железы и блокады ее функции метилтиоурацилом на белковый состав крови крыс	21 26				
ды в организме тутового шелкопряда в период завивки кокона С. Н. Генык, В. Ф. Сенютович. Особепности белкового и микроэлементного обмена после обширной резекции тонкой кишки у собак					
Биофизика					
В. И. Чернышов, С. М. Якубов, Ю. П. Козлов, Б. Н. Тарусов. Роль липидных антиоксидантов в проявлении некоторых физиологических особенностей организмов рыб. А. А. Чиркин, В. М. Козин. Влияние ультразвука на активность фруктозо-1-фосфатальдолазы в печени, плазме крови и гемолизатах эритроцитов белых крыс.	40 46				
Ботаника					
В. Г. Николаевский. Особенности анатомической структуры листьев злаковсциофитов	51 55 62				
В. Г. Николаевский. Особенности анатомической структуры листьев злаковсциофитов. С. Т. Благовещенская. Большой жизненный цикл зайцегуба шугнанского (Lagochilus schugnanicus Knorr.) на западном Памире	55				
В. Г. Николаевский. Особенности анатомической структуры листьев злаковсциофитов. С. Т. Благовещенская. Большой жизненный цикл зайцегуба шугнанского (Lagochilus schugnanicus Knorr.) на западном Памире. Л. М. Ятайкин. О понятиях спорово-пыльцевой спектр и спорово-пыльцевой комплекс	55				
В. Г. Николаевский. Особенности анатомической структуры листьев злаковсциофитов. С. Т. Благовещенская. Большой жизненный цикл зайцегуба шугнанского (Lagochilus schugnanicus Knorr.) на западном Памире	55 62 67 74				
В. Г. Николаевский. Особенности анатомической структуры листьев злаковсциофитов. С. Т. Благовещенская. Большой жизненный цикл зайцегуба шугнанского (Lagochilus schugnanicus Knorr.) на западном Памире	55 62 67 74				

В. А. Аракелова, В. И. Ушакова, Н. С. Егоров. Сравнительное изучение действия паров диэтилсульфата на актиномицеты разных систематических групп, обладающие фибринолитическими и тромболитическими	98
свойствами	102
Генетика и селекция	
О. В. Генералов. Қонъюгация между патогенными и непатогенными штаммами кишечной палочки и свойства селекционированных рекомбинантов	105
Почвоведение	
Ф. Х. Хазиев. Почвенные ферменты и их роль в плодородии	114
для изучения минералов в шлифах из почв	120 124
Методика биологических исследований	
В. И. Қаплан. Многоканальное программирующее устройство для физиологиче-	
ских исследований	131
телей мягких гнилей в почве	136

УДК 534-8:577.15:599.323.4

БИОФИЗИКА

ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАЗВУКА НА АКТИВНОСТЬ ФРУКТОЗО-1-ФОСФАТАЛЬДОЛАЗЫ В ПЕЧЕНИ, ПЛАЗМЕ КРОВИ И ГЕМОЛИЗАТАХ ЭРИТРОЦИТОВ БЕЛЫХ КРЫС

А. А. Чиркин, В. М. Козин

Исследовали активность фруктозо-1-фосфатальдолазы в печени, плазме крови и гемолизатах эритроцитов при воздействии ультразвуком в пироком диапазоне интенсивностей (0,2—1,8 вт/см²). Установлено, что ультразвуковые колебания относительно небольшой мощности вызывают уменьшение активности фермента в печени и эритроцитах, а также усиливают проницаемость мембран клеток печени.

В настоящее время известны три фермента, лимитирующих скорость метаболизма фруктозы, — фруктокиназа, фруктозо-1-фосфатальдолаза и триокиназа [8, 13]. Фруктозо-1-фосфатальдолаза (кетозо-1-фосфатальдегидлиаза, 4.1.2.7) отнесена к индикаторным органоспецифичным ферментам, так как повышение ее активности в плазме крови сигнализирует о повреждении клеток при паренхиматозных заболеваниях печени [1—3]. Современные взгляды на возникновение внутриклеточных и межклеточных микропотоков, а также интенсификацию диффузионных процессов в ультразвуковом поле сформировались главным образом на основе модельных пробирочных опытов [6, 12]. Сведения о метаболизме углеводов, в частности фруктозы, при воздействии на организм ультразвуковых волн весьма поверхностны [16]. При изучении механизма действия ультразвука іп vivo наиболес эффективен метод параллельного определения активности фермента в плазме крови и печени [11].

В настоящей статье изложены результаты изучения активности фруктозо-1-фосфатальдолазы в печени, плазме и гемолизатах эритроцитов при воздействии ультразвука в широком диапазопе интенсивностей.

Опыты ставили на 169 крысах-самцах весом 250—300 г. Животных содержали в одинаковых условнях. Методика воздействия ультразвуком описана нами ранее [9]. Применяли ультразвуковые колебания интенсивностью 1,8, 0,6 и 0,2 вт/см² в непрерывном и 0,2 вт/см² в импульсном (длительность импульса 4 меек) режимах. Одну группу контрольных животных подвергали однократному, вторую — иятикратному воздействию ультразвуковых волн. С этими животными производили те же эксперименты, что и с опытными крысами, но не включали генератор ультразвука. В опытах первой серии (78 крыс) активность фермента изучали в печени и плазме крови через 24 ч после ультразвукового воздействия (однократного или пятикратного), в опытах второй серии — в плазме крови и гемолизатах эритроцитов через 2, 24 ч и 15 суток после одпократного воздействия ультразвуковых волн. Крыс декапитировали. Плазму крови получали в полиэтиленовых стаканах при 6000 об/мин. Эритроциты отмывали охлажденным физиологическим раствором три раза и гемолизировали дистиллированной водой в соотношении

1:10. Ткань печени гомогенизировали при 2—4° С в гомогенизаторе с тефлоновым пестиком с десятикратным объемом раствора, содержащего 0,05 М трис-буфера, 0,15 М КС1 и 0,01 М ЭДТА; рН 7,8. Растворимую фракцию (содержащую микросомы) выделяли при 18000 g в рефрижераторной центрифуге. Для определения активности фермента использовали разведение растворимой фракции печени 1:500. Активность фруктозо-1-фосфатальдолазы определяли по методу Сиблея и Ленинжера [7, 15]. В качестве субстрата использовали 0,1 М раствор натриевой соли фруктозо-1-фосфата. В первой серии опытов ферментативную реакцию проводили при температуре 37° С, а во второй — при 25° С. Общее содержание белков в растворимой фракции печени определяли по методу Лоури [4]. Полученный цифровой материал обрабатывали методом вариационной статистики с использованием критерия t по Стьюденту — Фишеру [5].

Из данных таблицы 1 следует, что однократное воздействие ультразвуковых колебаний (УЗК) малой (0,2 вт/см 2 в непрерывном и импульсном режимах) и средней (0,6 вт/см 2) интенсивностей приводит к досто-

Таблица 1

	Активность фруктозо-1-фосфатальдолазы, миМ диоксиацетона за 1 мин $(\overline{x}\pm S\overline{x})$ при разной интенсивности ультразвука							
Рассчитано	контроль	1,8 вт/см²	0,6 вт/см²	0,2 вт/см²	0,2 вт/см² — импульсный режим			
Однократное воздействие ультразвуком								
На 1 г печени	41,0±3,1	$41,2\pm 1,7$ (P>0,5)	26.8 ± 4.3 (P<0.02)	$31,2\pm 2,0$ (P<0,02)	$35,3\pm1,7$ (P<0,02)			
На всю печень	$354 \pm 30,8$	348 ± 11.2 (P>0.5)	$236 \pm 27,3$ (P<0,02)	271 ± 21.4 (P ≤ 0.05)	$262 \pm 13,9$ (P<0,02)			
На 1 мг белка	$0,31 \pm 0,016$	0.31 ± 0.014 (P>0.5)	0.20 ± 0.026 (P<0.01)	0.22 ± 0.018 (P<0.01)	0.23 ± 0.014 (P<0.01)			
На 1 л плазмы	$20,4\pm 2,0$	$23,5\pm1,5$ (P>0,2)	$21,5\pm 1,6$ (P>0,5)	23.8 ± 2.2 (P>0.2)	$25,4\pm 2,1$ (P \geqslant 0,05)			
Пятикратное воздействие ультразвуком								
На 1 г печени	$36,0\pm 3,2$ >0,2*	$24,1\pm4,3 \le 0.05$	$32,5\pm 1,1 > 0,2$	$35,7\pm1,8$ >0.5	$22,0\pm3,3$ <0.01			
На всю печень	$263 \pm 28,5$ $\leq 0.05*$	$203 \pm 32,1$ > 0,1	$285 \pm 20,0$ > 0,5	$228 \pm 24,7$ > 0,2	$170 \pm 24,2$ < 0.05			
На 1 мг белка	$0,33 \pm 0,021$ >0,2*	$0,25\pm0,047$ > 0,1	$0,33\pm0,023$ >0,5	$0,26\pm0,017$ <0,05	$0,17\pm0,027$ <0,001			
На 1 л плазмы	$17,8\pm2,8$ >0,5*	$28,4\pm 2,9$ < 0,05	$31,5\pm1,9$ < 0,01	$19,4\pm 1,6$ > 0,5	$15,8\pm 3,7$ >0,5			

^{*} По отношению к контролю при однократном воздействии по вертикали соответственно.

верному уменьшению активности фермента в печени, причем этот эффект наиболее выражен при пересчете показателя на 1 мг белка. При пятикратном воздействии аналогичные изменения отмечены лишь в случае применения УЗК интенсивностью 0,2 вт/см² в импульсном режиме. Некоторое снижение активности фруктозо-1-фосфатальдолазы наблюдается при интенсивности УЗК 1,8 вт/см² на 1 г сырой печени и 0,2 вт/см² на 1 мг белка.

При анализе этих результатов обращают на себя внимание два факта. Во-первых, однократные воздействия УЗК вызывают более ощутимые изменения активности фермента, чем пятикратные. Во-вторых, изменения активности фруктозо-1-фосфатальдолазы вызывают в основном УЗК малой интенсивности.

Полученные данные несколько неожиданны, поскольку известна целая группа тканевых ферментов, чувствительных к относительно большим интенсивностям ультразвука [9, 12]. Так, при аналогичной методике опытов активность печеночной фруктозодифосфатальдолазы четодике опытов активность печеночной фруктозодифосфатальдолазы четодике опытов активность печеночной фруктозодифосфатальдолазы четодике опытов опытов объекты печеночной фруктозодифосфатальдолазы четодике опытов опытов

рез 24 ч не изменяется в случае однократных воздействий УЗК и достоверно уменьшается при пятикратном повторении сеансов воздействия [10]. Степень снижения активности фермента находится в прямой зависимости от мощности применяемого ультразвука. Таким образом, направленность изменений активности двух альдолаз по отношению к количеству воздействий, а также мощности УЗК носит противоположный характер. Учитывая наличие общих продуктов в обеих ферментативных реакциях, описанные модификации ферментативной активности, вероятно, можно расценивать как определенную

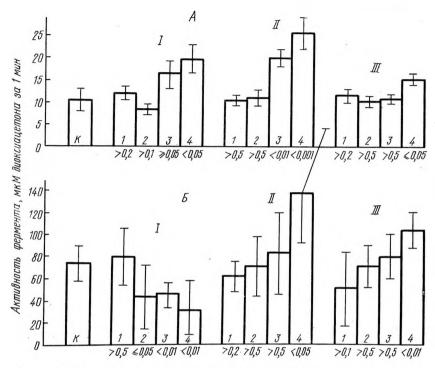


Рис. 1. Изменение активности фермента в плазме крови (на 1 л плазмы) и гемолизатах эритроцитов (на 1 л гемолизата) при воздействии ультразвуковыми колебаниями разной интенсивности. Температура 25° С. Вертикальными отрезками обозначены доверительные интервалы $E_{0,05}$. A- плазма; B- гемолизаты эритроцитов; I- через 2 ч; II- 24 ч; III- 15 суток

после воздействия: K — контроль, I — 1,8 вт/см², 2 — 0,6 вт/см², 3 — 0,2 вт/см², 4 — 0,2 вт/см², импульсный режим

приспособительную реакцию на воздействие ультразвука [14]. Более тонкий мехапизм этой реакции пока неясен.

Однократное воздействие ультразвуком не вызывает существенных изменений активности плазменной фруктозо-1-фосфатальдолазы за исключением некоторого повышения активности фермента при интенсивности 0,2 вт/см² в импульсном режиме. При пятикратном повторении ультразвуковых воздействий активность фермента достоверно повышается в случаях применения большой и средней интенсивностей УЗК. Сравнение ферментативной активности в печени и плазме крови позволяет заключить, что однократное воздействие УЗК малой и средней интенсивностей, а также пятикратное воздействие УЗК большой и средней интенсивностей приводят к усиленному выходу фермента в кровяное русло, т. е. происходят изменения проницаемости клеточных мембран.

Обсуждая данные об активности фермента в плазме крови, нельзя не упомянуть о возможности выхода фруктозо-1-фосфатальдолазы из форменных элементов крови, в частности из эритроцитов. Это тем более важно, что ультразвук в опытах in vitro может вызывать гемолиз эритроцитов. Правда, до настоящего времени in vivo при интенсивностях УЗК до 3 вт/см² гемолиза никто не наблюдал [6], однако не исключены тонкие изменения в прошицаемости мембран эритроцитов.

Результаты опытов второй серии (рис. 1) свидетельствуют о малой вероятности влияния выхода фермента из эритроцитов на уровень его в плазме крови. Активность фруктозо-1-фосфатальдолазы в гемолизатах достаточно низка, тесной корреляционной зависимости между линамикой изменений активности фермента в плазме крови и гемолизатах нет. В самих гемолизатах обнаруживается фазность динамики уровней активности фермента в различные сроки после воздействия $\sqrt[7]{3}$ K. Эта фазность характерна только для малой и средней интенсивностей УЗК и заключается в достоверном снижении активности фермента через 2 ч, повышении активности до нормальных или сверхнормальных (0,2 вт/см², импульсный режим) величин через 24 ч с последующей тенденцией к нормализации на 15-е сутки. Уровень активности фермента в печени через 24 ч и в гемолизатах через 2 ч после воздействия УЗК изменяется сходным образом в зависимости от мощности ультразвука. Возможно, это зависит от своеобразной чувствительности фермента различных тканей к незначительным интенсивностям УЗК.

Необходимо отметить, что при температуре 25° С через 24 ч после однократного воздействия УЗК достоверно повышаются уровни активности фруктозо-1-фосфатальдолазы в случае использования ультразвука интенсивностью 0.2 вт/см 2 в непрерывном и в импульсном режимах. При температуре 37° С эти изменения незначительны и сводятся к увеличению активности фермента только при интенсивности 0,2 вт/см2 в импульсном режиме (табл. 1, рис. 1). Внося определенную поправку на эксперимент (определения производили на животных разных серий опытов), можно все же полагать, что более высокая температура инкубации создает условия для быстрейшего насыщения активного центра фермента. Последнее, вероятно, не позволяет выявить больших различий, в условиях стандартной экспозиции ферментативной реакции. При температуре 25° С этого недостатка можно избежать.

Итак, ультразвуковые колебания относительно небольшой мощности вызывают уменьшение активности фруктозо-1-фосфатальдолазы в печени и эритроцитах и усиливают проницаемость мембран клеток

печени.

Литература

1. Горжейши Я. и др. 1967. Основы клинической биохимии в клинике внутренних болезней. Прага.

2. Диксон М., УэббЭ. 1966. Ферменты. Изд-во «Мир», М. 3. Иванов И. И., Зарсмбский Р. А., Коровкин Б. Ф., Маркелов И. М., Пелишенко И. А., Рудаков В. В. 1969. Введение в клиническую биохимию. Л. 4. Пушкина Н. Н. 1964. Биохимические методы исследования. М.

5. Снедекор Дж. У. 1961. Статистические методы в применении к исследованиям в сельском хозяйстве и биологии. М. 6. Сперанский А. П., Рокитянский В. И. 1970. Ультразвук и его лечебное при-

менение. М. 7. Товарницкий В. И., Волуйская Е. Н. 1955. Раиняя диагностика болезии

Боткина биохимическим методом. Лабораторное дело, № 6.

- 8. Хорст А. 1967. Молекулярная патология. М. 9. Чиркин А. А., Козин В. М. 1970. Влияние ультразвука на активность трансами-
- наз в органах белых крыс. Вопр. мед. химии, т. 16, вып. 3. 10. Чиркин А. А., Козин В. М. 1970. К вопросу о влиянии ультразвуковых колебаний на активность альдолазы и лактатдегидрогеназы в некоторых тканях крыс. Биол. науки, № 9.

11. Щеклик Э. 1966. Клиническая ферментология. Варшава.

12. Эльпинер И. Е. 1963. Ультразвук. Физико-химическое и биологическое действие. М.

ствие. M.

13. A delman R. C., Spolter P. D., Weinhouse S. 1966. Dietary and hormonal regulation of enzymes of fructose metabolism in rat liver. Journ. Biol. Chem., vol. 241, № 22.

14. Landau B. R., Merlevede W. 1963. Initial reactions in the metabolism of dand l-glyceraldehyde by rat liver. Journ. Biol. Chem., vol. 238, № 3.

15. Sibley J., Lehninger A. 1949. Determination of aldolase in animal tissues. Journ. Biol. Chem., vol. 177, № 2.

16. Zimny M., Head L. 1961. Effect of ultrasound on skeletal and cardiac muscle in the ground squirrel. Amer. Journ. Physiol., vol. 200, № 4.

Рекомендована кафедрой кожных и венерических заболеваний Витебского медицинского института

Поступила 20 ноября 1970 г.