

Рис.5. Частота aberrаций рисунка переднеспинки *Chrysomela vigintipunctata* из популяции Березинского заповедника, 1998 г.

Показатели μ по рисункам переднеспинки равны $5,67 \pm 0,53$ при $m=7$ для самцов и $10,84 \pm 0,65$ при $m=12$ для самок, что говорит о достаточно равномерном распределении частот aberrаций в изученных выборках. Доля редких морф h составила $0,19 \pm 0,075$ для самцов и $0,097 \pm 0,054$ для самок.

Показатель сходства r по рисунку переднеспинки составил $0,331 \pm 0,113$, что также свидетельствует о различиях выборок по набору и частоте встречаемости aberrаций рисунка переднеспинки.

Заклучение

В результате проведенного исследования из всего просмотренного материала по *Ch. vigintipunctata* нами выделено 52 aberrации рисунка надкрылий и 35 aberrаций рисунка переднеспинки. Из них 25 aberrаций рисунка надкрылий и 15 aberrаций рисунка переднеспинки встречаются в выборках из белорусских популяций.

Установлено, что с ослаблением пигментации рисунка надкрылий сочетается уменьшение размеров рисунка переднеспинки (на примере выборки из Южно-Уссурийского края, 1912–1913 гг.). В остальных случаях рисунки надкрылий и переднеспинки изменяются независимо.

При изучении фенетической структуры популяции Березинского заповедника выделено 16 aberrаций рисунка надкрылий и 12 – рисунка переднеспинки. Изучение внутривидового разнообразия показало, что в выборках и самцов, и самок частоты aberrаций по обоим признакам распределены равномерно и доля редких aberrаций невелика, что может быть связано с малым объемом выборок. Выборки самцов и самок отличаются между собой по набору и частоте встречаемости aberrаций, о чем свидетельствуют вычисленные показатели сходства выборок r .

1. Филиппов Н. Н. // Зоол. журн. 1961. Т.40. Вып.3. С.372.
2. Новоженев Ю. И. // Журн. общ. биол. 1980. Т.41. №5. С.668.
3. Дубешко Л. Н., Медведев Л. Н. // Сб. статей: Фауна насекомых Вост. Сиб. и Дальн. Вост. Иркутск, 1974. С.147.
4. Животовский Л. А. // Фенетика популяций. М., 1982. С.38.
5. Васильев А. Г. // Фенетика природных популяций. М., 1988. С.158.
6. Присный А. В. // Зоол. журн. 1980. Т.59. Вып.10. С.1575.

Поступила в редакцию 17.09.98.

УДК 612.82

А.В.СИДОРОВ

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ЭЛЕКТРИЧЕСКИ СВЯЗАННЫЕ НЕЙРОНЫ МОЛЛЮСКА

Temperature is show to modulate electrotonic coupling between two giant peptidergic neurons in the CNS of *Lymnaea stagnalis* (L.). High temperature could decrease and low – to increase junctional conductance. All these changes are reversible.

Центральная нервная система (ЦНС) пресноводного легочного моллюска *Lymnaea stagnalis* (L.) состоит из относительно небольшого количества нейронов (около 15 тыс.), многие из которых имеют размеры свыше 50 мкм. Количество идентифицированных нейронов и синапсов у *Lymnaea* превышает сотню, что делает возможным успешное изучение нейрональной и синаптической пластичности в простых нервных системах.

Электрическая связь между клетками широко распространена среди различных типов тканей [1] и обеспечивает скоординированную работу между различными отделами нервной системы как за счет скорости проведения, так и за счет возможности проведения возбуждения в обоих направлениях. Предполагается также участие связанных таким образом клеток в генерации ритма [2]. Однако в настоящее время недостаточно полно известен механизм подобной связи. Структурной основой электрической связи являются трансмембранные белки коннексины – основные составляющие межклеточных каналов [3,4]. Возможно участие различного рода "вторых внутриклеточных посредников" в реализации данного взаимодействия за счет модуляции работы воротных механизмов каналов [5].

В настоящее время довольно широко исследовано влияние различных биологически активных веществ на электрическую связь. Между тем действие физических факторов изучено еще недостаточно. Температура и ее изменения играют заметную роль в протекающих в организме физиологических процессах. Целью настоящей работы явилось изучение действия температуры на параметры электрической связи между пептидэргическими нейронами *Lymnaea stagnalis* (L.).

Материал и методика

Исследования проводились на восьми препаратах изолированных ЦНС представителей отряда *Basommatophora* – *Lymnaea stagnalis* (L.). Моллюски были собраны в окрестности д.Негорелое (Минская область) в осенний период. В лаборатории содержались в аквариуме при температуре 14–16°C. Пищей служили молодые листья капусты.

Для внутриклеточной регистрации электрофизиологических показателей применялась стандартная методика. Микроэлектроды заполнялись 2,5М раствором KCl и имели сопротивление 15–30 МОм. ЦНС моллюсков полностью изолировалась, соединительнотканная оболочка удалялась вольфрамовыми иглами. Перед микроэлектродными исследованиями ЦНС обрабатывали раствором проназы (1мг/1мл раствора Рингера). После этого ЦНС в течение 30 мин промывалась в свежем растворе Рингера следующего состава (в мМ): NaCl 44,0, KCl 1,7, CaCl₂ 4,0, MgCl₂ 1,5, HEPES 10,0, pH 7,35.

Термостатирование и изменение температуры осуществлялось с помощью специальной термоячейки. Электрическая активность нейронов была усилена (усилитель МС-01М) и регистрировалась при помощи чернильного самописца НЗЗ8-4П.

Изучался ряд показателей эффективности электрической связи: коэффициент связи (КС) и общее сопротивление цепи. В одну из исследуемых клеток подавался постоянный гиперполяризующий ток (0,5 нА). Мембрана данной клетки, как и мембрана электрически связанного с ней нейрона, гиперполяризовалась. Отсюда рассчитывался КС как отношение изменения мембранного потенциала (МП) постсинаптической клетки к изменению МП пресинаптического нейрона (в который подавался ток). Общее сопротивление цепи определялось как отношение изменения МП пресинаптического нейрона к величине тока, качиваемого в данный нейрон.

Результаты и их обсуждение

Пара гигантских пептидэргических нейронов VD1-RPaD2 (по классификации Winlow & Benjamine) [6] расположена на вершинах вентрального и париетального ганглиев соответственно. Она может быть легко идентифицирована по размерам и цвету. Однако наиболее просто данная пара определяется по электрофизиологическим параметрам. В изолированных препаратах ЦНС эти клетки всегда спонтанно активны с частотой 0,8–1,0 Гц, иногда наблюдаются периоды покоя. Потенциалы действия (ПД) в указанных клетках неизменно

формируются строго синхронно. Незначительное изменение в работе одного тучас отражается на работе спаренного нейрона.

Полученные результаты показывают, что температура оказывает влияние на такие характеристики нейрона, как частота и амплитуда ПД, величина потенциала покоя (ПП) (рис.1). Понижение температуры приводит к полному исчезновению спонтанной активности и гиперполяризации на 5–7 мВ. С ростом температуры наблюдается обратная картина: на фоне деполяризации (4–5 мВ при 25°C, 9–10 мВ при 35°C) – значительное увеличение частоты ПД (1,2–1,3 Гц при 25°C и 1,5 Гц при 35°C). При этом амплитуда ПД уменьшается (на 15 мВ при 25°C и 35 мВ при 35°C).

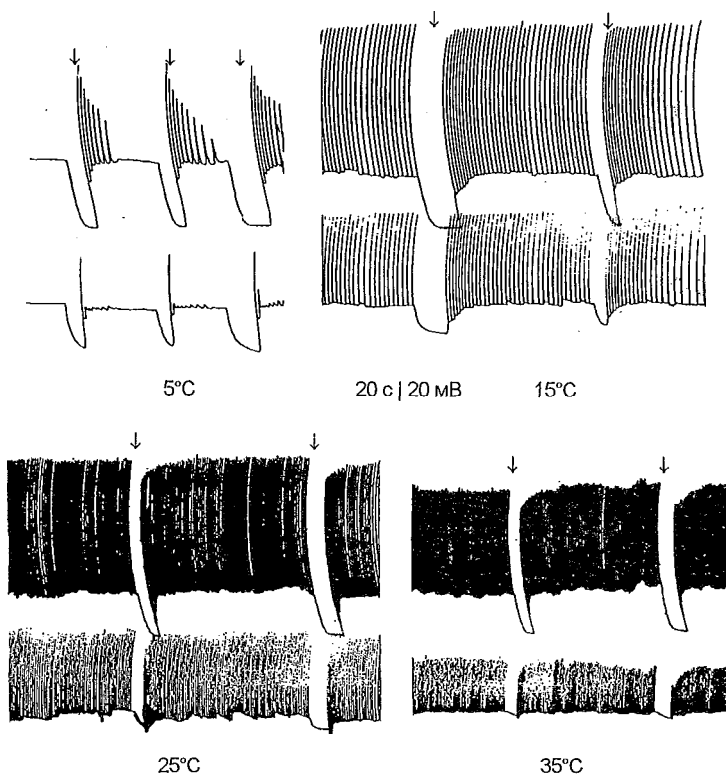


Рис.1. Спонтанная электрическая активность нейронов VD1 (верхняя линия) и RPaD2 (нижняя линия) и примеры работы электрической связи (подача импульса тока отмечена ↓) при разных экспериментальных температурах

Влияние температуры на коэффициент связи между VD1 и RPaD2 представлено на рис.1 и 2. Анализ показателей осуществлялся в четырех температурных диапазонах: 5, 15, 25 и 35°C соответственно. С повышением температуры наблюдается значительное падение КС между нейронами (на 38,6% и 67,0% при 25 и 35°C соответственно). При понижении температуры до 5°C КС, наоборот, возрастал на 33,8%.

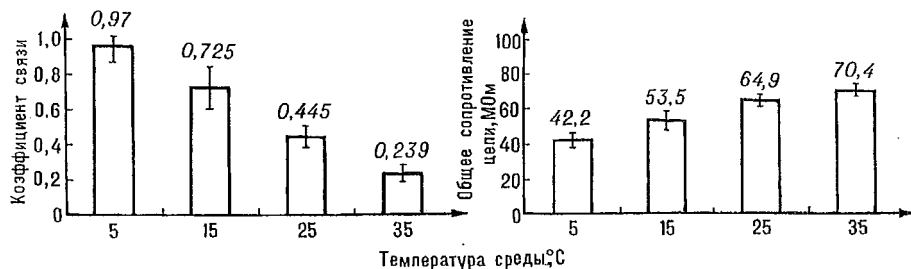


Рис.2. Изменения коэффициента связи при разных экспериментальных температурах (показано значение и доверительный интервал, $P < 0,05$)

Рис.3. Изменения общего сопротивления цепи при разных экспериментальных температурах (показано значение и доверительный интервал, $P < 0,05$)

Изменение общего сопротивления цепи в тех же температурных диапазонах (рис.3) также имеет место, но величина подобных сдвигов не может полностью объяснить изменения в КС. При 5 и 25°C величина изменения общего сопротивления цепи только на 2/3, а при 35° С лишь на 1/2 покрывает наблюдаемые величины сдвигов в КС между VD1 и RPaD2. Таким образом, полученные результаты нельзя объяснить лишь возрастанием токов утечки, т.е. изменением свойств мембран. Вероятно, температура оказывает прямое влияние и на конформацию коннексинов.

Следует отметить обратимость подобного рода реакций. При возвращении к исходным температурным условиям параметры электрической активности нейронов (частота и амплитуда ПД, величина ПП) полностью нормализовывались. Величины КС и общего сопротивления цепи принимали первоначальное значение.

Уменьшение КС с ростом температуры подтверждает имеющиеся данные о том, что моллюски, как и многие другие водные животные, плохо переносят значительное повышение температуры. Водная среда за счет высокой теплопроводности способна сглаживать температурные колебания, наблюдаемые на суше. Нейроны VD1 и RPaD2 играют значительную роль в координации работы кардиореспираторной сети Лупнаеа [8,9]. Очевидно, что нарушение взаимодействия столь важных клеток незамедлительно сказывается на работе всего организма в целом. Можно также предположить, что при относительно низких температурах электрическая связь имеет некоторые преимущества по сравнению с химической (менее энергоемка). Нервные клетки, обладая высокой степенью пластичности, по-видимому, способны выполнять свои функции и при высоких температурах, однако для подобной адаптации требуется некоторое время и постепенное изменение температурных условий.

Полученные нами данные позволяют предположить, что температурные альтерации оказывают влияние как на электрический синапс, так и на нейрональные мембраны. Температура проявляет модулирующее воздействие на конформационное состояние белков щелевых контактов и их подвижность в плоскости мембраны, что и приводит к наблюдаемым изменениям в эффективности электрической передачи.

1. Bennett M.V.L. // Ann. N.Y. Acad. Sci. 1968. Vol.157. P.509.
2. Getting P.A. // Ann. Rev. Neurosci. 1989. №12. P.185.
3. Bruzzone R., Ressot C. // Eur. J. Neurosci. 1997. Jan. 9(1). P.1.
4. Bukauskas F.F., Peracchia C. // Biophys. J. 1997. Vol.72. №5. P.2137.
5. Spray D.C., Bennett M.V.L. // Ann. Rev. Physiol. 1985. Vol.47. P.281.
6. Benjamin P.R., Winlow W. // Comp. Biochem. Physiol. 1981. Vol.70A. P.293.
7. Kolb H.A., Somogyi R. // Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 1991. Vol.118. P.1.
8. Kerkhoven R.M., Crol R.P. et al. // Brain Res. 1991. Vol.565. P.8.
9. Van der Steen W.J., Van den Hoven N.P., Jager J.C. // Symp. Biol. Hungarica. 1988. Vol.36. P.377.

Поступила в редакцию 24.03.98.

УДК 615.2/3.015.4

Е.Э.ГРИНЦЕВИЧ, В.В.СЕНЧУК

БИОТРАНСФОРМАЦИЯ АМИНОБИФЕНИЛОВ СОЛЮБИЛИЗИРОВАННОЙ ТИРЕОИД-ПЕРОКСИДАЗОЙ ЧЕЛОВЕКА

The objective of the study was to investigate the role of human thyroid-peroxidase in the biotransformation of carcinogenic benzidine derivative as possible molecular mechanism of thyroid carcinogenesis. Our results demonstrate that human thyroid-peroxidase oxidized 3,3'-dimethylbenzidine to the genotoxic metabolites. Our results confirm that the role of genotoxic environmental factors needs consideration in estimation of thyroid cancer risk from external and internal irradiation.

Среди последствий аварии на ЧАЭС особое место занимает увеличение частоты рака щитовидной железы [1]. Представления о молекулярных механизмах появления злокачественных опухолей щитовидной железы у людей основываются на роли мутаций онкогенов под действием внутреннего и внешнего облучения [2]. Известно, что многие ксенобиотики, энзиматически превращаясь в реакционноспособные метаболиты, могут изменять биохимические процессы в клетке, вызывать мутации и процессы канцерогенеза [3]. Центральное место в исследованиях молекулярных механизмов химического