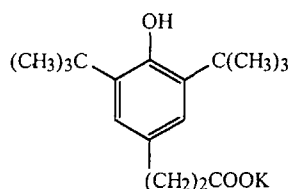


Изучение эффектов сверхмалых доз фенозана

Е. Н. Горбатова, Ф. С. Духович, В. К. Курочкин

Известно, что фенозан, обладающий в обычных дозах антиоксидантными свойствами, в сверхмалых концентрациях (менее $1 \cdot 10^{-11}$ М) влияет на активность ряда ферментов, в частности, протеинкиназы С и ацетилхолинэстеразы [1], оказывает действие на нейроны виноградной улитки [2], снижает эффекты алкалоида ареколина (тремор, опыты на мышах) [3].



В нашей работе мы обнаружили новые проявления действия сверхмалых доз (СМД) фенозана на уровне целого организма и на уровне рецепторов гладких мышц.

Методики экспериментов. Действие фенозана на организм в целом оценивали по его влиянию на краткосрочную образную память и сон животных.

Опыты по исследованию влияния фенозана на краткосрочную образную память проведены на шести собаках. Амнезию вызывали транквилизатором амизилом в дозе 0,1 мг/кг. На фоне действия амизила собакам вводили фенозан (калиевая соль) в дозе $6 \cdot 10^{-16}$ мг/кг. Через каждый час регистрировали наличие или отсутствие способности животных находить корм. На тех же собаках через один месяц проводили контрольные эксперименты.

Влияние СМД фенозана на память изучалось также в опытах на крысах по изменению условного рефлекса пассивного избегания.

Влияние СМД фенозана на сон, вызванный гексеналом (класс барбитуратов), изучали в следующих опытах. Крысам в течение трех дней вводили веронал в качестве индуктора микросомальных ферментов печени. На четвертый день животным вводили фенозан внутривентриально в дозах, соответствующих создаваемым ими концентрациям в организме в интервале $1 \cdot 10^{-6}$ — $1 \cdot 10^{-20}$ М, и через 15 мин гексенал. Регистрировали число спящих и неспящих крыс, а также продолжительность сна, о которой судили по выходу крыс из бокового положения [4].

Влияние фенозана на функционирование рецепторов исследовали на препаратах изолированных мышц.

Действие на М-холинорецепторы (ацетилхолин) определяли на отрезках тонкой кишки (ОТК) крыс-самцов. Отрезок кишки (0,4 г) помещали в ячейку с аэрируемым раствором Тироде (20 мл) при температуре 37,5 °С. Контрактуру ОТК после воздействия ацетилхолина в концентрациях $5 \cdot 10^{-8}$ — $5 \cdot 10^{-6}$ М измеряли с помощью изометрического датчика (прибор фирмы «Уго Базиле», модель 4050, Италия). Исследовали влияние фенозана ($4 \cdot 10^{-6}$ — $2 \cdot 10^{-15}$ М) непосредственно на ОТК, на эффекты ацетилхолина и

эффекты его в присутствии антагониста — атропина ($1 \cdot 10^{-3}$ — $3 \cdot 10^{-10}$ М).

Влияние фенозана на серотониновые рецепторы также исследовали в опытах с ОТК. В качестве агониста использовали серотонин ($3 \cdot 10^{-6}$ М), в качестве антагониста — диэтиламид лизергиновой кислоты (ДЛК), $1 \cdot 10^{-9}$ М.

Кроме того, изучали действие фенозана на ряд других рецепторов (они перечислены вместе с соответствующими тест-объектами и лигандами): Н-холинорецепторы (прямая мышца живота лягушки, ацетилхолин—турбокуарин); адренорецепторы (семенные пузырьки крыс, норадреналин — обзидан, а также с использованием моделей «фенаминовая стереотипия»); дофаминовые рецепторы (семявыносящий проток крысы, дофамин—спиперон [5]). Поскольку действие СМД фенозана на эти рецепторы не было обнаружено, соответствующие методики не описываются.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что фенозан в дозе $6 \cdot 10^{-16}$ мг/кг (соответствующая средняя концентрация в организме животных $2 \cdot 10^{-15}$ М) снижает срок нарушения краткосрочной образной памяти у собак, вызванный воздействием амизила, в среднем на 1,5 ч, с $3,7 \pm 0,3$ до $2,2 \pm 0,2$ ч. Данные по критерию Стьюдента достоверны.

В опытах на крысах обнаружена тенденция к лучшему запоминанию, однако различия между контролем и опытом были статистически незначимы.

Эксперименты по изучению влияния фенозана на снотворный эффект гексенала (см. таблицу) показали, что наибольшее пробуждающее действие вызывает концентрация фенозана $2 \cdot 10^{-15}$ М (доза $6 \cdot 10^{-16}$ мг/кг). Интересно, что не только более низкие, но и более высокие концентрации фенозана проявляют меньшую активность.

Обнаружено также, что самцы намного чувствительнее к СМД фенозана, чем самки. На фоне действия фенозана не спят 53% самцов и только 10% самок. Кастрированные самцы по тесту «гексеналовый сон» вели себя как самки, — различие между количеством спящих и неспящих особей в контроле и в опыте было статистически недостоверно. Эти результаты позволяют предположить, что эффекты СМД фенозана зависят от гормонального статуса. Известно, что мужской

Таблица

Показатели влияния фенозана на сон крыс-самцов, вызванный гексеналом

Концентрация фенозана в организме животных, М	Количество незаснувших крыс / всего взятых в опыт крыс	Доля незаснувших крыс в опытной группе, %
Контроль	6/40	15
$2 \cdot 10^{-6}$	3/10	30
$2 \cdot 10^{-11}$	3/10	30
$2 \cdot 10^{-15}$	16/30	53
$2 \cdot 10^{-20}$	2/10	20

мужской гормон тестостерон обладает способностью активировать окисление веществ в микросомах печени.

Опыты по изучению влияния фенозана на рецепторы дали следующие результаты. Непосредственного действия препарата на тонус изолированных отрезков мышц не обнаружено — не наблюдалось ни расслабления, ни сокращения тест-объектов. На величину эффектов агонистов рецепторов фенозан также не оказывал влияния.

Вместе с тем отчетливый и статистически значимый эффект СМД фенозана проявился в экспериментах с ОТК в присутствии антагонистов рецепторов — атропина и ДЛК. Атропин в концентрации $3 \cdot 10^{-10}$ М снижает на 50% контрактуру ОТК, вызванную ацетилхолином в концентрации $5 \cdot 10^{-8}$ М, добавленным после 15-минутной инкубации атропина с ОТК. Если одновременно с атропином вводили фенозан в концентрации $2 \cdot 10^{-15}$ М, то блокирующий эффект атропина не возникал.

В случае серотониновых рецепторов обнаружено, что реакция ОТК на серотонин ($3 \cdot 10^{-6}$ М) в присутствии ДЛК ($1 \cdot 10^{-9}$ М) после 15-ти минутного контакта ДЛК с ОТК уменьшается на $50 \pm 6\%$. При одновременном воздействии диэтиламида лизергиновой кислоты и фенозана ($2 \cdot 10^{-15}$ М) блокирующий эффект ДЛК усиливается до $78 \pm 12\%$.

Проведенные эксперименты показали, что фенозан в сверхмалых концентрациях оказывает влияние на процессы высшей нервной деятельности. Он проявляет антиамнезирующее действие. Кроме того, это вещество изменяет чувствительность животных к действию барбитуратов.

Непосредственно не оказывая влияния на синаптические нейрорецепторы, фенозан изменяет величину эффектов специфических лигандов. По-видимому, это действие сверхмалых доз фенозана проявляется неспецифически посредством влияния на мембранные структуры.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бурлакова Е.Б. Вестн. РАН, 1994, т. 64, № 5, с. 425.
2. Бурлакова Е. Б., Терехова С. Ф., Греченко Т. Н., Соколов Е.Н. Биофизика, 1986, т. 31, № 5, с. 921.
3. Хохлов А.Н. Нейрохимия, 1989, т. 8, № 1, с. 3.
4. Горбатова Е.Н., Духович Ф.С., Курочкин В.К. Тез. II Межд. симп. «Механизмы действия сверхмалых доз». РАН, Москва, 1995.
5. Блаттнер Р., Классен Х., Денерт Х., Деринг Х. Эксперименты на изолированных препаратах гладких мышц. М. Мир, 1983, с. 206.

УДК 581.143

Nod факторы ризобий — новые регуляторы роста растений

А. О. Овцына, И. А. Тихонович

АЛЕКСАНДРА ОЛЕГОВНА ОВЦЫНА — кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии. Область научных интересов: генетика и биохимия ранних этапов бобово-ризобияльного симбиоза, обмен молекулярными сигналами между симбионтами.

ИГОРЬ АНАТОЛЬЕВИЧ ТИХОНОВИЧ — доктор биологических наук, профессор, академик РАСХН, директор ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, заведующий лабораторией биотехнологии. Область научных интересов: симбиотическая азотфиксация, генетика и биохимия растительно-микробных взаимодействий, биопрепараты.

189620 Санкт-Петербург, Пушкин-8, ш. Подбельского, 3, ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, E-mail biotec@peterlink.ru

В физиологии растений традиционно принято выделять пять основных типов растительных гормонов: ауксины, цитокинины, гиббереллины, абсцизовую кислоту и этилен [1]. С недавних пор обсуждается вопрос об отнесении к гормонам растений олигосахаридов — небольших олигомеров сахаров, действующих в сверхмалых концентрациях и влияющих на морфогенез растений [2, 3]. В предлагаемом обзоре представлены данные о новом типе регуляторных молекул, обладающих биологической активностью по отношению к растениям и сходных по структуре с олигосахаридами, но имеющих бактериальное происхождение — это факторы клубенькообразования, или Nod факторы, синтезируемые почвенными симбиотическими бактериями ризобиями.

Роль бактерий ризобий в морфогенезе растений

К ризобиям относят обширную группу бактерий из семейства *Rhizobiaceae*, вступающих в симбиоз с бобовыми растениями. В результате симбиоза на корнях растений образуются специфические органы фиксации атмосферного азота — корневые (реже стеблевые) клубеньки.

Изучение бобово-ризобияльного симбиоза началось более 100 лет назад с открытия Гельригелем и Вильфартом фиксации азота в клубеньках бобовых растений. Механизмы инфекции ризобиями растений-хозяев варьируют, но наиболее распространенным способом является проникновение их в корень через корневые волоски: бактерии индуцируют закручива-