



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 3 (71), 2019

ԱԵՖ-ԱԶԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՇՏԳԵՆՅԱՆ ՃԱՌԱԳԱՅԹԱՅԱՐՄԱՆ ԵՆԹԱՐԿՎԱԾ *CANDIDA GUILLIERMONDII* НП-4 ԽՄՈՐԱՍՆԿԵՐԻ ՄԻՏՈՔՈՆԴՐԻՈՒՄՆԵՐՈՒՄ

Ս.Վ. ՄԱՐՈՒԹՅԱՆ

ԵՊՀ կենսաբիմիայի, մանրէաբանության և կենսատեխնոլոգիայի ամբիոն
marsed@ysu.am

Իրականացվել է *Candida guilliermondii* НП-4 խմորասնկերի միտոքոնդրիումներում ընդհանուր ԱԵՖ-ազային ակտիվության փոփոխության ուսումնասիրում ռենտգենյան ճառագայթահարման ազդեցությամբ: Ցույց է տրվել, որ ռենտգենյան ճառագայթահարման ազդեցությամբ դրսևորվում է ընդհանուր ԱԵՖ-ազային ակտիվության անկում ճառագայթահարված խմորասնկերի համեմատությամբ, ինչը բացատրվում է խմորասնկերի նյութափոխանակության ինտենսիվության ընդհանուր անկումով:

Խմորասնկեր – ռենտգենյան ճառագայթահարում – միտոքոնդրիումներ –
ԱԵՖ-ազային ակտիվություն

Исследовались изменения общей АТФ-азной активности в митохондриях дрожжей *Candida guilliermondii* НП-4 под влиянием рентгеновского облучения. Показано, что при рентгеновском облучении происходит падение общей АТФ-азной активности по сравнению с необлученными дрожжами, что объясняется снижением общей интенсивности метаболизма дрожжей.

Дрожжи – рентгеновское облучение – митохондрии – АТФ-азная активность

The investigation of changes in total ATP-ase activity in mitochondria of yeasts *Candida guilliermondii* NP-4 under influence of X-irradiation was performed. It has been shown that under influence of X-irradiation the decrease of total ATP-ase activity takes place in comparison with non-irradiated yeasts, which can be explained with the decrease of whole metabolic activity of yeasts.

Yeasts – X-irradiation – mitochondria – ATP-ase activity

Իոնացնող ճառագայթման ազդեցությամբ բջջում առաջանում են բազմազան վնասվածքներ, որոնք խաթարում են բջջի նյութափոխանակությունը և չվերականգնվելու դեպքում կարող են հանգեցնել նրա մահվան: Այդ վնասվածքների վերականգնման համար էներգիայի կարիք է զգացվում, որի հիմնական աղբյուրը բջջում ԱԵՖ-ն է: Այն ճեղքվում է ԱԵՖ-ազ ֆերմենտով (K_F 3.6.1.3), որը կատալիզում է ԱԵՖ-ից ֆոսֆորական թթվի մեկ կամ երկու մնացորդների անջատումը, ինչի արդյունքում անջատված էներգիան օգտագործվում է բջջի կողմից՝ ցանկացած ակտիվություն դրսևորելու համար: Ցույց է տրվել, որ իոնացնող ճառագայթման ազդեցությամբ բջջում փոխվում է թաղանթային ֆոսֆոլիպիդների մետաբոլիզմը, ինչը հանգեցնում է թաղանթ-կախյալ ԱԵՖ-ազների ակտիվության արգելակման [2]: Այս տեսակետից հետաքրքրություն է ներկայացնում ռենտգենյան ճառագայթահարման ենթարկված միկրոօրգանիզմներ:

րում ԱԵՖ-ազի ակտիվության փոփոխության ուսումնասիրումը և հետաթրեսային վոերականգնողական գործընթացներում ԱԵՖ-ազի դերի բացահայտումը:

Աշխատանքի նպատակն է եղել ուսումնասիրել ԱԵՖ-ազային ակտիվության փոփոխությունը ռենտգենյան ճառագայթահարման ազդեցությանը ենթարկված *Candida guilliermondii* HII-4 խմորասնկային բջիջների միտոքոնդրիումներում:

Նյութ և մեթոդ: Հետազոտության օբյեկտ են հանդիսացել *C. guilliermondii* HII-4 խմորասնկերը, որոնք աճեցվել են 2 %-անոց քաղցու ազար պարունակող փորձանոթներում, թերմոստատում, 48 ժ տևողությամբ, 30°C ջերմաստիճանի պայմաններում:

Սննդամիջավայրի պատրաստումը և խմորասնկային կենսազանգվածի ստացումը – խմորասնկային բջիջներն աճեցվել են հեղուկ սննդամիջավայրում [4], թափահարող սարքի վրա (200-250 պտ/ր), որն ապահովում է անհրաժեշտ ատրագիան: Խմորասնկերն աճեցվել են 4000 Lx լուսավորության և 30°C ջերմաստիճանի պայմաններում: 24-ժամյա ինկուբացիայից հետո խմորասնկային կենսազանգվածը կուտորալ միջավայրից առանձնացվել է ցենտրիֆուգման միջոցով (4000 պտ/ր արագությամբ, 10 ր տևողությամբ, ցենտրիֆուգ. ԱՄՊ-1): Խմորասնկային բջիջների կենսազանգվածի կշիռը որոշվել է Նեֆելոմետրիկ եղանակով:

Խմորասնկային բջիջների ճառագայթահարումը ռենտգենյան ճառագայթներով իրականացվել է $\lambda=1.54 \cdot 10^{-8}$ մմ ալիքի երկարության դեպում, 1080 կԳրեյ/ժ հզորությամբ, 360 կԳրեյ ընդհանուր չափաբաժնով:

Խմորասնկերի միտոքոնդրիումային ֆրակցիայի ստացումն իրականացվել է տարբերակված ցենտրիֆուգման եղանակով [3]: Խմորասնկային կենսազանգվածը նախ սառեցվել է սառցախցիկում (-10°C, 24 ժ), որից հետո մամլվել է Ֆրենչ մամլիչով: Այնուհետև իրականացվել է խմորասնկային հոմոգենատի տարբերակված ցենտրիֆուգում 0.25 Մ սախարոզի միջավայրում, 0°C ջերմաստիճանում, հետևյալ հերթականությամբ. 1. 3000 g, 10 ր տևողությամբ, 2. Վերստվածքը՝ 15000 g, 15 ր տևողությամբ, 3. վերստվածքը՝ 30000 g, 20 ր տևողությամբ (Beckman L2 ցենտրիֆուգ): Ստացված նստվածքը, որն իրենից ներկայացնում է խմորասնկերի միտոքոնդրիումային ֆրակցիան, ենթարկվել է հոմոգենացման ապակյա հոմոգենիզատորում, 0.05 մոլ tris-HCl բուֆերով (pH=8.5)՝ միտոքոնդրիումային թաղանթները կտրելու նպատակով:

ԱԵՖ-ազային ակտիվության որոշումը խմորասնկային միտոքոնդրիումների հոմոգենատում իրականացվել է ըստ անջատված անօրգանական ֆոսֆորի քանակության [1]:

Փորձի յուրաքանչյուր փուլ կրկնվել է առնվազն 5 անգամ, որոշվել են տվյալների միջին քառակուսային շեղումները, որոնց արժեքները բերված են աղյուսակում: **Տվյալների վիճակագրական մշակումն** իրականացվել է Statistica 10.0 համակարգչային ծրագրով, տվյալները համարվել են հավաստի $p < 0.05$ արժեքի դեպքում:

Աղյուսակներ և քննարկում: Ռենտգենյան ճառագայթահարման ենթարկված և չճառագայթահարված խմորասնկերի միտոքոնդրիումներում ընդհանուր ԱԵՖ-ազային ակտիվությունն ուսումնասիրվել է բջիջների աճի տարբեր փուլերում՝ սկզբնական պահին՝ լատենտ փուլում, աճի 16-րդ ժամում՝ լոգարիթմական փուլում և աճի 22-րդ ժամում՝ ստացիոնար փուլում: Խմորասնկերի աճի տարբեր փուլերում դրսևորվել է ԱԵՖ-ազային ակտիվության տարբեր ուժգնություն (աղ. 1):

Աղյուսակ 1. Ռենտգենյան ճառագայթահարման ենթարկված *C. guilliermondii* HII-4 խմորասնկերի միտոքոնդրիումներում ԱԵՖ-ազային ակտիվությունը աճի տարբեր փուլերում (մկգ P/մգ սպիտակուց, $n=5$, $p < 0.05$)

Աճի փուլերը	Տարբերակ	Չճառագայթահարված խմորասնկեր	Ճառագայթահարված խմորասնկեր
Սկզբնական փուլ ($t=0$ ժ)		2.3 ± 0.2	1.7 ± 0.1
Լոգարիթմական փուլ ($t=16$ ժ)		6.8 ± 0.6	5 ± 0.4
Ստացիոնար փուլ ($t=22$ ժ)		3 ± 0.3	1.5 ± 0.08

Այսպես, աճի սկզբնական փուլի համեմատությամբ աճի լոգարիթմական փուլում ԱԵՖ-ազային ակտիվությունն աճում է 3 անգամ, իսկ աճի ստացիոնար փուլին

մոտենալիս դիտվում է ԱԵՖ-ազային ակտիվության անկում 2.2 անգամ: Ըստ երևույթին, խմորասնկերի կենսական ցիկլի լոգարիթմական փուլը, որն ուղեկցվում է բջիջների ինտենսիվ աճով, բնութագրվում է նյութափոխանակության բարձր ինտենսիվությամբ, ինչի համար բջիջները կարիք ունեն ենթոքիայի մեծ քանակության, ուստի ԱԵՖ-ի հիդրոլիզի աստիճանն այս փուլում ավելի բարձր է, քան սկզբնական պահին, որը համապատասխանում է աճի լատենտ կամ հանգստի փուլին, երբ նյութափոխանակության ինտենսիվությունն այս փուլում համեմատաբար ցածր է: Աճի ստացիոնար փուլին մոտենալիս դրսևորվում է խմորասնկերի աճի դանդաղում, ուստի նյութափոխանակության ինտենսիվությունը և, հետևաբար, ենթոքիայի կարիքը նվազում է, և լոգարիթմական փուլի համեմատությամբ ընկնում է նաև ԱԵՖ-ի հիդրոլիզի ուժգնությունը, թեև լատենտ փուլի համեմատությամբ այն մնում է բարձր:

Ռենտգենյան ճառագայթահարման ենթարկված խմորասնկերի միտոքոնդրիումներում, ինչպես և սպասվում էր, աճի սկզբնական փուլում, այսինքն՝ ճառագայթահարումից անմիջապես հետո, դրսևորվում է ԱԵՖ-ազային ակտիվության անկում չճառագայթահարված խմորասնկերի համեմատությամբ 1.35 անգամ, ինչը կարող է բացատրվել իոնացնող ճառագայթահարման արդյունքում խմորասնկերի կենսական ակտիվության և նյութափոխանակության ինտենսիվության ընդհանուր անկումով: Աճի լոգարիթմական փուլում, երբ ճառագայթահարված բջիջները սկսում են բուռն կիսվել, ԱԵՖ-ազային ակտիվությունը սկսում է աճել և 16-րդ ժամում մոտ 3 անգամ գերազանցում է աճի սկզբնական պահին դիտվող արժեքին: Աճի ստացիոնար փուլում ճառագայթահարված խմորասնկային բջիջների ԱԵՖ-ազային ակտիվությունն ընկնում է և աճի 22-րդ ժամում մոտավորապես ստանում է լատենտ փուլին բնորոշ արժեք, իսկ լոգարիթմական փուլի համեմատությամբ այն փոքրանում է 3.3 անգամ: Կարելի է ենթադրել, որ լոգարիթմական փուլի էքսպոնենցիալ և գծային աճի փուլերում, երբ ճառագայթահարված բջիջները մասամբ վերականգնվում են և սկսում բավական բուռն աճել, սննդամիջավայրում աստիճանաբար առաջանում է սննդանյութերի պակաս, որի հետևանքով բջիջների բազմացման ինտենսիվությունն ընկնում է, և փոքրանում է նաև ԱԵՖ-ի պահանջը:

:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Борисова Г.Г., Чукина Н.В., Киселева И.С., Малева М.Г.* Биохимия. Практикум, Екатеринбург, изд-во Урал. ун-та, 116 с., 2017.
2. *Дагбашян С.С.* Некоторые стороны патогенеза легочных осложнений при ионизирующем облучении и в стадии развития признаков лейкемии. Медицинская наука Армении, # 4, стр. 40-48, 2005.
3. *Егорова М.В., Афанасьев С.А.* Выделение митохондрий из клеток и тканей животных и человека: современные методические приемы. Сибирский медицинский журнал, 26, 1, Выпуск 1, стр. 22-28, 2011.
4. *Марутян С.В., Навасардян Л.А., Бадалян Г.Г., Шагинян М.А.* Влияние рентгеновского облучения на структуру ДНК дрожжей *C. guilliermondii* НП-4. Химия и химическая технология, 59, вып.3, стр. 90-94, 2016.

Ստացվել է 07.06.2019