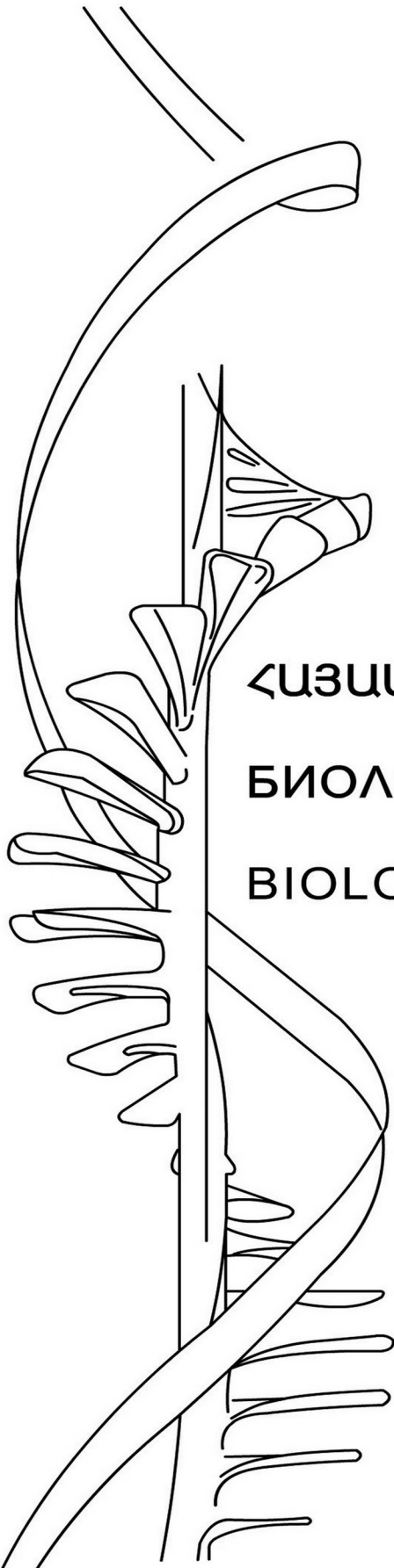


ISSN 0366-5119

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ
NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF ARMENIA



ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆԴԵՍ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ АРМЕНИИ
BIOLOGICAL JOURNAL OF ARMENIA

2010

Լույս է տեսնում 1948 թվականից, հոդվածները հրատարակվում են հայերեն,
ռուսերեն կամ անգլերեն լեզուներով
Выходит с 1948 года, статьи публикуются на армянском, русском
или английском языках
Journal is published since 1948, the articles are published in Armenian,
Russian or English

ԽՄԲԱԳՐԱԿԱՆ ԿՈԼԵԳԻԱ

Է.Ս.Գևորգյան (*գլխավոր խմբագիր*), Ռ.Մ.Հարությունյան (*գլխավոր խմբագրի տեղակալ*), Ա.Ս. Բոյաճյան (*գլխավոր խմբագրի տեղակալ*),
Ա.Հ. Եսայան (*պատասխանատու քարտուղար*), Գ.Ա. Գևորգյան, Ա.Հ. Թոշունյան,
Ռ.Հ. Հովհաննիսյան, Լ.Ռ. Մանվելյան, Ս.Խ. Մայրապետյան, Ժ.Հ. Վարդանյան.

ԽՄԲԱԳՐԱԿԱՆ ԽՈՐՀՈՒԴԴ

Յու.Թ. Ալեքսանյան, Մ.Ս. Ավագյան, Է.Գ. Աֆրիկյան, Է.Ց. Գաբրիելյան,
Ա.Ա. Գալոյան, Ս.Ա. Դավթյան, Ժ.Ի. Հակոբյան, Վ.Պ. Հակոբյան, Կ.Գ. Ղարաբյոկյան,
Ս.Հ. Մովսիսյան, Կ.Ս. Պողոսյան, Գ.Հ. Փանոսյան, Լ.Լ. Օսիպյան.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Յ.Ս. Գևորգյան (*главный редактор*), Ր.Մ. Արությունյան (*заместитель главного редактора*), Ա.Ս. Բояджян (*заместитель главного редактора*),
Ա.Գ. Եсаян (*ответственный секретарь*), Զ.Ա. Варданян, Դ.Ա. Գеворкян,
Տ.Խ. Майрапетян, Լ.Ր. Манвелян, Ր.Օ. Оганесян, Ա.Ա. Трчунян

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Ս.Մ. Ավակյան, Վ.Ս. Ակոպյան, Զ.Ի. Ակոպյան, Յ.Տ. Ալեքսանյան, Յ.Գ. Աֆրիկյան,
Յ.Ս. Գաբրիելյան, Ա.Ա. Գալոյան, Մ.Ա. Դավթյան, Կ.Գ. Կարաբեյան, Ս.Օ. Մովսեսյան,
Լ.Լ. Օսիպյան, Դ.Ա. Փանոսյան, Կ.Ս. Սոսիսյան.

THE EDITORIAL BOARD

Editor in chief: E.S. Gevorgyan, *Vice-editors:* R.M. Aroutiunian, A.S. Boyadjyan,
Secretary-in-charge: A.H. Yesayan, *Members of the Board:* G.A. Gevorgyan,
R.H. Hovanesyan, L.R. Manvelyan, S.Kh. Mayrapetyan, A.H. Trchunyan,
Zh.H. Vardanyan.

THE EDITORIAL COUNCIL

E.G. Afrikyan, Yu.T. Aleksanyan, Ts.M. Avakyan, M.A. Davtyan, E.Ts. Gabrielyan,
A.A. Galoyan, V.P. Hakobyan, Zh.I. Hakobyan, K.G. Karagiozyan, S.H. Movsesyan,
L.L. Osipyanyan, G.H. Panosyan, K.S. Poghosyan.

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

Փորձարարական և տեսական հոդվածներ

Կովալ Ի.Ն., Թումանյան Վ.Ա., Սարգսյան Ժ.Ս., Մադատովա Ի.Ռ. Մեպտո-հիպոկլամ-պային համակարգի մասնակցությունը պայմանական ռեֆլեքսային կապերի կազմավորման մեջ.....	6
Սահակյան Մ.Ա., Գրիգորյան Ս.Լ. Թռչունների կոլիբակտերիոզի ինտենսիվ ցուցանիշները.....	16
Ոսկանյան Վ.Ե., Սարգսյան Գ.Պ., Հարությունյան Ա.Ս., Բադալյան Վ.Լ. ,ՋԲՎԵԺԵ անտառպարկի ներմուծված ծառաթփատեսակների տաքսոնոմիական կազմը.....	20
Զաքարյան Գ. Վ. Փորձարարական այտուցի ժամանակ մետաբոլիզմի խախտումների ուսումնասիրությունը միտոքոնդրիումներում.....	25
Բաբախանյան Մ.Ա., Նահապետյան Խ.Հ., Հովհաննիսյան Լ.Է., Հարությունյան Ռ.Ա., Մարչենկո Ջ.Մ. Արցախյան դեղաբույսերից կենսակտիվ ,Դիաբեֆիտե հավելման առաջադրման մասին.....	29
Հովհաննիսյան Ռ.Լ. Սևանա լճի ձկների հելմինթների տեսակային կազմի շուրջ.....	34
Մարմարյան Գ.Յու. Հայաստանի նախալեռնային պայմաններում բուծվող տեղական և խառնածին այծերի ազոտային պրոֆիլը.....	38
Հովսեփյան Լ.Մ., Զաքարյան Գ. Վ., Ղազարյան Գ.Ս. Սպիտակուցների և լիպիդների գերօքսիդային հետազոտումը հիպօքսիայի ժամանակ.....	42
Բարսեղյան Ն. Է. Հրազդան գետի ջրային էկոհամակարգում արծաթափայլ լճածածանի սննդառության առանձնահատկությունները.....	46
Վարդանյան Պ.Հ., Անտոնյան Ա.Պ. Տարբեր բնույթի լիզանդների հետ ԴՆԹ-ի համալիրների ուսումնասիրումը.....	50
Ավետիսյան Գ.Ա., Առաքելյան Վ.Բ., Կարապետյան Ա.Թ. Ներքին աղմուկի առկայության պայմաններում ԴՆԹ-կենսասեստորի ելքային ազդակի ֆլուկտուացիաները.....	59
Սահակյան Գ. Վ., Զիլֆյան Ա. Վ., Արծրունի Գ. Գ. Էլեկտրաստատիկ դաշտի ազդեցությունը առնետների սպերմատոզոիդների ակրոսոմային ստատուսի վրա.....	66
Պետրոսյան Ֆ.Ռ., Ոսկանյան Է.Ս., Ոսկանյան Վ.Ս., Աղաբեկյան Ա.Մ. Դիմեթիլվինիլ-էթինիլկարբինոլի թունավորությունը միանվագ և կրկնվող փորձերի պայմաններում..72	
Գոլիսքարդի Ռ. Իրանի Սարի քաղաքի աշակերտների կենտրոնական հեմոդինամիկայի ցուցանիշների փոփոխությունների բնույթը ուսումնական ծանրաբեռնվածության դինամիկայում	75
Մանվելյան Լ.Ռ., Պետրոսյան Տ.Ռ., Գևորգյան Օ. Վ., Մելիքսեթյան Ի.Բ. Շարժիչ ուղիների վնասումից հետո մանրէական մեկանիին դերը վերականգնողական գործընթացներում...	82
Ստեփանյան Թ. Հ., Հարությունյան Ս. Հ., Ալեքսանյան Ն.Մ., Մաթոսյան Ֆ. Ս., Հակոբյան Ժ.Բ. Պալարաբակտերիաների օգտագործումը հողի ազատ ապրող բակտերիաների ասոցիացիաներում ոչ ընդավոր բույսերի ինակուլացման նպատակով.....	86
Մանուկյան Ա.Մ. CCR4-ի և G1-փուլի ցիկլինների միջև եղած փոխադարձ կապը.....	91
• Համառոտ հաղորդումներ •	
Ավետիսյան Կ. Վ., Աճեմյան Լ.Հ. Գրանստար հերբիցիդի մնացորդների որոշումը նրբաշերտ քրոմատոգրաֆիայի մեթոդով.....	98
Վաստակաշատ գիտնականն ու մանկավարժը.....	100

СОДЕРЖАНИЕ

•Экспериментальные и теоретические статьи•

<i>Коваль И.Н., Туманян В.А., Саркисян Ж.С., Мадатова И.Р.</i> К вопросу об участии септо-гиппокампальной системы в формировании условно-рефлекторной временной связи.....	6
<i>Саакян М.А., Григорян С.Л.</i> Интенсивные показатели колибактериоза птиц	16
<i>Восканян В.Е., Саргсян Г.П., Арутюнян А.С., Бадалян В.Л.</i> Таксономический состав интродуцированных деревьев и кустарников лесопарка «Джрвеж».....	20
<i>Захарян Г.В.</i> Исследование метаболических изменений в митохондриях при экспериментальном отеке мозга.....	25
<i>Бабахянян М.А., Нагапетян Х.О., Оганесян Л.Э., Арутюнян Р.А., Марченко З.М.</i> О предложении биоактивной добавки “Диабефит” из лекарственных растений Арцаха.....	29
<i>Оганесян Р.Л.</i> К видовому составу гельминтов рыб озера Севан.....	34
<i>Мармарян Г.Ю.</i> Азотистый профиль местных и кроссбредных коз в предгорных условиях Армении.....	38
<i>Овсепян Л.М., Захарян Г.В., Казарян Г.С.</i> Исследование перекисного окисления белков и липидов при острой гипоксии	42
<i>Барсегян Н. Э.</i> Особенности питания серебряного караса в водной экосистеме реки Раздан	46
<i>Вардеванян П.О., Антонян А.П.</i> Изучение комплексов ДНК с лигандами различной природы	50
<i>Аветисян Г.А., Аракелян В.Б., Карапетян А.Т.</i> Флуктуации выходного сигнала ДНК-биосенсора при наличии внутреннего шума	59
<i>Саакян Г.В., Зильфян А.В., Арируни Г.Г.</i> Влияние внешнего электростатического поля на акросомальный статус сперматозоидов крыс.....	66
<i>Петросян Ф.Р., Восканян Э.С., Восканян В.С., Агабекян А.М.</i> Токсичность диметилвинилэтилкарбинола при однократном и многократном воздействиях.....	72
<i>Голискарди Р.</i> Характер изменения показателей центральной гемодинамики учащихся города Сари Ирана при учебной нагрузке.....	76
<i>Манвелян Л.Р., Петросян Т.Р., Геворкян О.В., Меликсетян И.Б.</i> Роль бактериального меланина в восстановительных процессах после травмы моторных трактов.....	82
<i>Степанян Т.У., Арутюнян С. А., Алексанян Н.М., Матевосян Ф.С., Акопян Ж. И.</i> Использование клубеньковых бактерий в ассоциации с почвенными свободноживущими бактериями для инокуляции небобовых растений.....	86
<i>Манукян А.</i> Связь между CCR4 и циклинами фазы-G1.....	91

• Краткие сообщения •

<i>Аветисян К.В., Аджемян Л.А.</i> Определение остатков гербицида гранстара методом тонкослойной хроматографии.....	98
Заслуженный ученый и педагог.....	100

CONTENTS

•Experimental and theoretical articles•

<i>Koval I.N., Tumanyan V.A., Sarkisyan G.S., Madatova I.R.</i> On the issue of the septo-hippocampal system in formation of conditional reflex temporal linkages.....	6
<i>Sahakyan M., Grigoryan S.</i> Intensive indicators of colibacteriosis of chicken.....	16
<i>Voskanyan V.E., Sargsyan G.P., Harutyunyan A.S., Badalyan V.L.</i> Taxonomic composition tree-bushes introduced in «Jrvegh» forest park.....	20
<i>Zakaryan G.V.</i> The study of metabolism changes in mitochondria at experimental brain edema.....	25
<i>Babakhanyan M. A., Khahapetyan. O. N, Hovhannisyan L.E., Harutyunyan R. A., Marchenko Z. M.</i> On introduction of bioactive additive “Diabefit” from medicinal herbs of Artsakh.....	29
<i>Hovhannisyan R.L.</i> On the species composition of fish helminthes from Sevan Lake	34
<i>Marmaryan G.Yu.</i> Nitrogen profile of local and crossbreed goats at foothills of Armenia.....	38
<i>Hovsepian L.M., Zakaryan G.V., Kazaryan G.S.</i> Study of oxidative modification of proteins and lipids at hypoxia.....	42
<i>Barseghyan N.E.</i> The feeding peculiarities of Crusian carp in water ecosystems of river Hrazdan	46
<i>Vardevanyan P.O., Antonyan A.P.</i> Study of DNA complexes with ligands of different nature.....	50
<i>Avetisyan G.A., Arakelyan V.B., Karapetyan A.T.</i> The fluctuations of output signal of DNA-biosensor at the presence of inner noise.....	59
<i>Sahakyan G.V., Zilfyan A.V., Artsruni G.G.</i> The influence of electrostatic field on the acrosomal status of rat spermatozooids.....	66
<i>Petrosyan F. V., Voskanyan E.S. , Voskanyan V.S., A.M. Aghabekyan</i> The toxicity of dimetilviniletinilcarbinol in single and repeated experiments.....	72
<i>Golisqardi R.</i> Characteristics of central hemodynamic indicators changes of Iranian Sari town students in the process of changes of academic study load.....	76
<i>Manvelyan L.R., Petrosyan T.R., Gevorgyan O.V., Meliksetyan I.B.</i> The role of bacterial melanin in the recovery processes after lesions of motor tracts.....	82
<i>Stepanyan T., Harutyunian S., Aleksanyan N., Matevosyan F., Akopian J.</i> Use of nodule bacteria in association with free-living soil bacteria to inoculation nonlegume plants.....	86
<i>Manukyan A.</i> Linkage between CCR4 and G1-phase cyclins.....	91

•Short communications•

<i>Avetisyan K.V., Adjemyan L. H.</i> Determination of the residues herbicide granstar by thin layer chromatography.....	98
<i>Honoured scientist and pedagogue.....</i>	100



Биол. журн. Армении, 3 (62), 2010

К ВОПРОСУ ОБ УЧАСТИИ СЕПТО-ГИППОКАМПАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ В ФОРМИРОВАНИИ УСЛОВНО-РЕФЛЕКТОРНОЙ ВРЕМЕННОЙ СВЯЗИ

И.Н. КОВАЛЬ, В.А. ТУМАНЯН, Ж.С. САРКИСЯН, И.Р. МАДАТОВА

Центр зоологии и гидроэкологии НАН РА

На основании современных данных нейрофизиологической литературы анализируется участие септо-гиппокампальной системы в образовании условно-рефлекторных связей. Приводится краткий обзор собственных ранее полученных данных. Показано, что септо-гиппокампальная система, благодаря структурным и функциональным особенностям, играет важную роль в процессах обучения и памяти.

Гиппокамп - септум - обучение - память

Ժամանակակից նեյրոֆիզիոլոգիական գրականության տվյալների հիման վրա վերլուծվում է սեպտո-հիպոկամպային համակարգի մասնակցությունը պայմանական ռեֆլեքսային կապերի կազմավորման մեջ: Համառոտակի ներկայացվում են սեփական փորձագիտական տվյալները: Ցույց է տրված, որ սեպտո-հիպոկամպային համակարգի շնորհիվ կազմագործառական կապերի վճռական մասնակցություն ունի ուսուցման և հիշողության պրոցեսներում:

Հիպոկամպ ը սեպտում ը ուսուցում ը հիշողություն

The issue of participation of the septo-hippocampal system in the connections forming has been analyzed using neurophysiologic data. Short survey of our previously received data has been quoted. It has been shown that septo-hippocampal system has decisive role in the learning and attention thanks to its structural and functional properties.

Hippocampus – septum – learning – attention thanks

Павлов в 1903г. на Международном Медицинском Конгрессе в Мадриде сделал сообщение об условном рефлексе как методе изучения временных связей в центральной нервной системе, лежащих в основе взаимодействия организма с внешней средой [3, с.41]. По истечении 100 лет, прошедших после знаменитой мадридской речи Павлова, Судаков и Урываев [25] проанализировали развитие учения об условных рефлексах в отечественных и зарубежных физиологических школах. Из анализа видно, что, несмотря на собственное видение структуры условного рефлекса, его места в архитектонике мозга и роли в механизмах высшей нервной деятельности представителями разных школ (Анохин, Бериташвили, Крушинский, Конорский, Купалов и др.) этот метод в сочетании как с традиционными (экстирпация или раздражение определенных участков мозга), так и с современными (электрофизиологическими, цитологическими, нейрохимическими, иммуногистохимическими и т.д.) методами исследования остается исключительно важным инструментом в изучении взаимодействия организма с внешней средой.

Необходимо заметить, что исследования на животных, в том числе и методом условных рефлексов, возможны при соблюдении определенных морально-этических норм в обращении с подопытными [15].

В ранних работах мы исследовали участие гиппокампа в образовании и сохранении условных рефлексов [7, 14]. В настоящем сообщении приводятся, по возможности кратко, исследования последних 5-10 лет, посвященные выявлению роли септо-гиппокампальной системы в формировании основных механизмов (внимания, эмоционально-мотивационных, памяти, ориентировочно-исследовательских реакций), лежащих в основе обучения.

Наши экспериментальные данные были получены на кошках и крысах. В части опытов на кошках мы использовали камеру с выбором одной из двух сторон с пищевым подкреплением (рис.1).

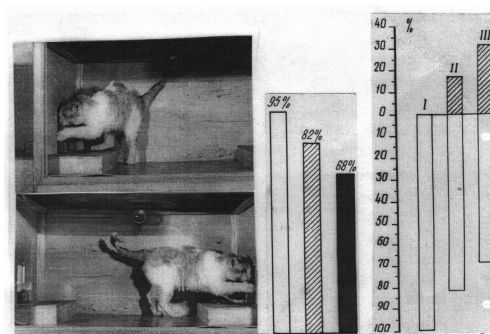


Рис.1. Влияние разрушения гиппокампа на условно-рефлекторное поведение в камере с выбором стороны подкрепления (подробности в тексте). Столбики слева – правильный выбор до операции (95%), после одностороннего (82%) и двухстороннего (68%) разрушения гиппокампа ($p < 0,05$). Столбики справа – дифференцировочное торможение до операции (I), после одностороннего (II) и двухстороннего (III) разрушения гиппокампа. Заштрихованная часть столбиков – величина растормаживания дифференцировки ($p < 0,05$).

Использовались три звуковых раздражителя – звонок, метроном и тон. Два раздражителя (звонок и метроном) были положительными, а третий (тон) – дифференцировочным. Из двух положительных раздражителей один соответствовал правой кормушке, другой – левой. Это означает, что при включении звонка кошка могла получить кусочек мяса, нажав на педаль правой кормушки, а при включении метронома – левой. Действие тона не подкреплялось.

Разрушение гиппокампа приводило к нарушению условно-рефлекторного поведения, что выражалось в ошибочных нажатиях на педаль и нажатиями на педали при действии дифференцировочного сигнала. Через некоторое время число ошибок снижалось, но животное не достигало дооперационного уровня (рис.1). Если же выработка условного рефлекса начиналась после разрушения гиппокампа, то правильное реагирование оставалось на случайном уровне.

У части кошек записывалась ЭЭГ во время опытов с условным рефлексом. Были выявлены отчетливые изменения ЭЭГ в гиппокампе и других структурах как в течение латентного периода, так и во время поедания мяса по сравнению с фоновой активностью (рис.2).

В части экспериментов на крысах проводился сравнительный анализ участия гиппокампа и перегородки в выработке условного рефлекса. Обучение проводилось в два этапа (рис.3).

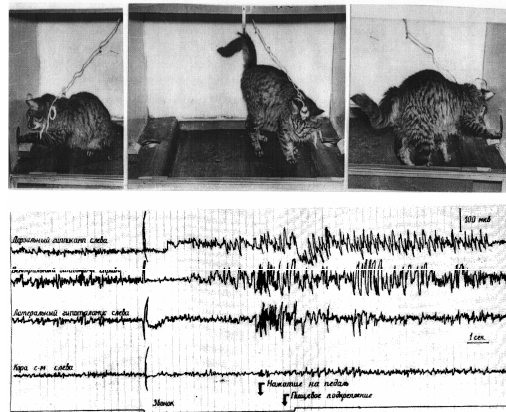


Рис.2. Регистрация ЭЭГ во время выполнения условно-рефлекторной реакции.

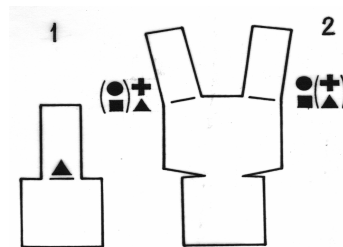


Рис.3. Схематическое изображение установки для изучения способности крыс использовать предыдущий опыт (А) в изменившейся обстановке (Б).
1 – стартовая камера, 2 – распределительная камера, 3 – место пищевого подкрепления.

На первом этапе (рис.3А) крыса после суточной пищевой депривации помещалась в стартовую камеру, которая отделялась от коридора односторонне пропускающей шторкой с изображением треугольника. В конце коридора крыса могла получить пищевое подкрепление (творожный шарик или очищенные семечки). После усвоения навыка прохождения под поднимающейся (при толчке мордочкой) шторкой приступали ко второму этапу обучения. При выходе из стартовой камеры (рис.3Б) перед крысой были два зрительных раздражителя – на одной шторке изображение креста и знакомого по прошлому обучению треугольника, на другой – изображение незнакомых животному квадрата и круга. Крыса могла получить подкрепление под шторкой, имеющей в изображении треугольник. Данная методика позволяла проследить способность крысы использовать на втором этапе обучения опыт, приобретенный на первом. Сравнивались показатели обучения intactных, фониотомированных и септальных крыс. На первом этапе обучения была достоверная разница в скорости обучения между контрольными и оперированными крысами. У септальных крыс скорость обучения была в 3-4 раза ниже, а время достижения подкрепляемого конца коридора достоверно больше ($p < 0,001$), чем у intactных. Нарушения выявились и на втором этапе обучения. Отметим, что задача выделения треугольника в качестве ключа к правильной реакции оказалась достаточно сложной и для intactных крыс (правильный ответ был в $77,5 \pm 0,9\%$), у септальных крыс этот показатель составил $62,7 \pm 2,1\%$ ($p < 0,001$).

Разрушение перегородки и выключение гиппокампа (после фторикотомии) также приводило к нарушению условно-рефлекторного обучения пассивному избеганию у кошек в камере с пищевым подкреплением (рис. 4).

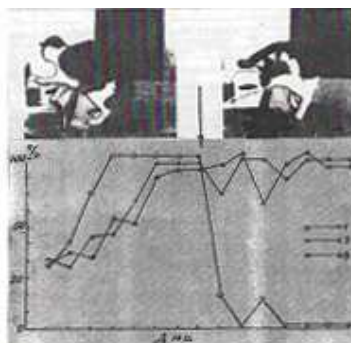


Рис.4. Наверху: кошка в экспериментальной камере. Внизу: кривые обучения кошек реакции нажима на педаль на звонок (слева) и пассивному избеганию болевого наказания (справа). 1-интактные кошки, 2-гиппокампальные кошки, 3-септальные кошки. Стрелкой обозначено время начала выработки пассивного избегания.

На первом этапе вырабатывалась реакция нажима на звонок, сопровождаемая подачей мяса в кормушку. После закрепления этого рефлекса приступали к выработке пассивного избегания. Кошка нажимала на педаль, а при попытке взять мясо получала болевое наказание (поскольку на чашку с мясом подавался ток напряжением 15-20В). Если интактные кошки на 3-4-й опытный день избегали кормушки, то оперированные – продолжали нажимать на педаль.

Обсуждая очевидное по нашим экспериментальным данным участие гиппокампа в образовании условного рефлекса, мы в свое время изучили обширную литературу по этому вопросу [7] и согласились с точкой зрения авторов, признающих за тета-ритмом гиппокампа особую роль на начальных стадиях обучения [6, 8]. В этот период у животных выражено ориентировочно-исследовательское поведение, вызванное новой обстановкой и незнакомыми звуковыми раздражителями, что проявляется генерализованной *arosal*-реакцией в коре и тета-ритмом в гиппокампе. По мере обучения ориентировочно-исследовательское поведение тормозится, внутреннее торможение обеспечивается гиппокампом (тета-ритм сменяется десинхронизацией). Поведение животных становится адекватным к условиям, регламентированным схемой обучения. Кошка на звуковой сигнал реагирует четким обученным движением (нажим на педаль) на положительный сигнал, на дифференцировочный сигнал двигательной реакции нет – она подавлена, заторможена (рис. 1, 2). В другом варианте эксперимента кошка подавляет условно-рефлекторную реакцию, демонстрируя пассивное избегание (рис. 4). Крысы способны использовать предыдущий опыт в изменившейся ситуации (рис. 3). И, как мы видели, повреждение гиппокампа и септума сопровождается выраженными нарушениями в формировании условно-рефлекторного навыка [7, 13].

Таким образом, ориентировочный рефлекс и его последующее торможение играют важную роль при выработке условного рефлекса в искусственной, созданной экспериментатором ситуации. Значение этого процесса исключительно важно в адаптивном поведении животных в естественных природных условиях. Симонов считает доказанным существование у животных исследовательского поведения, которое побуждается “самостоятельной потребностью” в обеспечении контактов с объектами, “прагматическое значение” которых не выяснено [24].

Когда индивид попадает в незнакомую ситуацию, первоочередной задачей является отнесение ситуации к тем, которые позволяют совершать поведение “приближения” или предполагают “избегание”. Достижение упомянутого “классификационного” результата позволяет перейти к осуществлению поведения, направленного на достижение следующего результата в поведенческом континууме. Каков именно будет этот следующий результат определяется и тем, какова мотивация индивида, и тем, каков результат исследовательского поведения, то-есть тем, “элементы какого домена (или субдомена) памяти могут быть актуализированы” [24].

Несмотря на то что вопрос участия гиппокампа в механизмах обучения и памяти изучается в течение десятилетий, эта проблема по-прежнему вызывает живой интерес исследователей. Упомянутый выше тета-ритм является предметом изучения на протяжении 70 лет и обсуждается в основном в контексте интерпретации функций гиппокампа. Его рассматривали как коррелят активации коры, ориентирования, исследования, внимания, обучения и памяти, мотиваций и эмоций, произвольных движений. Короче говоря, тета-ритм присутствует почти во всех формах поведения. На основании данных, полученных на крысах, Кичигина [12] с большой долей вероятности предполагает, что тета-осцилляции генерируются в медиальных ядрах септума и ядрах диагонального пучка Брока. Было также выявлено, что возникновение, усиление и угнетение тета-ритма опосредуются глутаматэргическими влияниями ретикулярной формации мозга и норадренергическими влияниями синего пятна, усиливающими тета-модуляцию, а также серотонинэргическими путями от медианного ядра шва, подавляющими тета-ритм. Этот же автор в исследованиях на кроликах получила данные, позволяющие предположить, что активация в септо-гиппокампальной системе, когда необходимо включение селективного внимания к функционально значимой информации, обеспечивается дофаминэргической вентральной тегментальной областью [13]. Виноградова, изучавшая долгие годы разные виды памяти, окончательно утвердилась в мнении, что одним из базовых механизмов когнитивной деятельности является ориентировочно-исследовательское поведение, обеспечивающее анализ поступающей информации. В частности, она рассматривает тета-ритм как активный фильтр, организующий и продлевающий обработку сигналов для записи и одновременно предохраняющий информацию от интерференции со стороны других сигналов, приходящих в период ее обработки [6]. Иначе говоря, предлагается четкий нейрофизиологический механизм внимания. Там же далее указывается, “что как включение тета-ритма при ориентировочно-исследовательской активности, внимании и обработке информации, так и его выключение реализуются при сложных взаимодействиях септо-гиппокампальной и стволовых систем” [6]. Известна гипотеза О’Кифи и его последователей о наличии в гиппокампе крысы клеток “места” и о когнитивной карте гиппокампа. Не отвергая эту гипотезу, последователи проф. Виноградовой считают, что адекватным стимулом для нейронов гиппокампа при “картировании” окружающего пространства является новизна, отсутствие в памяти соответствующих следов, а не какие-либо специфические физические характеристики стимулов [1]. Известно, что долговременная синаптическая потенция многими электрофизиологами рассматривается как клеточный аналог памяти. Факт долговременной потенциации был подтвержден в лаборатории Виноградовой – достигнутый в пирамидных клетках гиппокампа уровень потенциации (при раздражении зубчатой извилины) сохранялся от 12 ч до нескольких дней. Но в отличие от большинства исследователей она считает, что “потенциация имитирует эффект привыкания”, когда “новый стимул становится хорошо знакомым и уже не привлекает внимания”; она предупреждает, что аналогия между долговременной потенциацией и долговременной памятью “не должна заходить слишком далеко, так как долговременная память в гиппокампе не хранится” [1].

В лаборатории, руководимой проф. Виноградовой, в течение 20 лет изучались процессы гибернации – зимней спячки у мелких млекопитающих. Коллектив ученых, работающих над этой проблемой, получил экспериментальные факты, подтверждающие особую роль септо-гиппокампальной системы в этом процессе. Гибернация – приспособительное поведение в экстремально неблагоприятных условиях среды. Пережить такие условия помогает минимизация уровня физиологических процессов. По данным Поповой с соавт. [22], период гибернации составляет 58% общей продолжительности жизни сусликов, сурков, хомяков. В этот период температура тела снижается до 30° - 40° , частота сердцебиений уменьшается в 20 раз, частота дыхания – в 150 раз, уровень метаболизма – в 100 раз; электрическая активность коры головного мозга, за исключением редких периодов, практически отсутствует. Напротив, в лимбической системе регистрируется постоянная, хотя и сниженная по амплитуде активность ЭЭГ. Во время пробуждения активация начинается с лимбико-ретикулярной формации, далее активируются таламус и кора. В этом контексте на первый план выдвигается роль медиального септума, который является реле между гиппокампом и преоптико-гипоталамической областью. Точнее, медиальный септум представляет собой вход для стволово-диэнцефальных афферентов (от гипоталамуса и ретикулярной формации), восходящих к полю СА3 гиппокампа в составе медиального переднемозгового пучка. С учетом тета-ритма и значения последнего для селекции внимания для запоминания информации Попова соглашается с гипотезой Хеллера о выполнении медиальным септумом роли “сторожевого пункта”, организующего пробуждение животного от гибернации. Подчеркивается, что нейроны медиального септума обладают исключительной способностью к повышению возбудимости и активности (данные получены в срезах мозга гибернирующих сусликов), и такая способность полностью отсутствует в близлежащих структурах, включая ядро латерального септума. Анализируется роль моноаминэргических систем (особенно серотонина), тиротропин-релизинг гормона, нейропептидов TSKYR, TSKY, DY, участвующих в регуляции спячки и активности нейронов медиального септума [22]. В другом исследовании, проведенном Семеновой [23], изучались особенности моноаминэргической регуляции в мозгу гибернирующих животных. Сравнивалась активность моноаминоксидазы MAO(A) при поведении в “открытом поле” в весенний период (после выхода из спячки) и в осенний период у якутских сусликов. Было показано, что уровень активности фермента MAO (A) в гиппокампе при использовании в качестве субстрата серотонина в 1,8 раз превышает уровень этого фермента, определяемого с норадреналином как субстратом. В осенний период это соотношение становится обратным – активность MAO (A) с норадреналином как с субстратом в 2,5 раза выше, чем если в качестве субстрата серотонин. По мнению автора, указанные изменения активности MAO(A) определяются сезонными особенностями гибернирующих животных [23].

По данным Коршунова с соавт. [16], полученными на свободно передвигающихся крысах, регистрировались двойные ВП в поле СА1 при раздражении коллатералей Шаффера одиночными импульсами тока. Причем, первый ВП был постоянным у всех крыс, тогда как второй ВП был лабильным – зависел от функционального состояния животного и регистрировался в основном в состоянии покоя или сна (естественного или наркотического). Поскольку латентности возникновения второго ответа от начала развития первого были сходными у различных крыс и у каждого животного маловариабельны, авторы делают вывод, что возбуждение проходит по одной и той же системе связей и, следовательно, гиппокамп способен поддерживать динамические процессы типа реверберации возбуждений. Высказывается мнение, что поле СА 1 гиппокампа принимает участие в консолидации памяти [16]. В дальнейшем мысль об участии поля СА1 в консолидации следов памяти во время сна была развита в работе Зосимовского и Коршунова [9].

Поскольку у бодрствующего животного при обучении новая информация из неокортекса передается в гиппокамп, где оставляет след в виде мозаики модифицированных синапсов, в период сна, благодаря реактивации популяций нейронов, активированных новым стимулом, эта информация пересылается обратно в неокортекс. Информационный обмен между неокортексом и гиппокампальной формацией, по мнению авторов, осуществляется в основном через энторинальную кору, внутренние связи которой позволяют “посланиям” с выхода гиппокампальной системы возвращаться на ее вход [9].

В работе Кудряшова [17] прослежена корреляция между условно-рефлекторно вызванным эмоционально-негативным поведением у крыс и возникновением гигантских деполяризующих потенциалов в гиппокампе в онтогенезе. Поведение в виде вздрагивания, подпрыгивания, хаотического метания или, наоборот, замирания квалифицировались как страх. Проверялась способность крыс разного возраста обучаться реакции избавления от болевого воздействия тока, пропускаемого через металлический пол экспериментальной камеры, а также способность к выработке реакции избегания на условный сигнал. Было установлено, что у крысят 16-18-дневного возраста возможно выработать только реакцию страха, начиная с 18-го дня они способны совершать реакцию избавления. И только взрослые крысы демонстрируют условно-рефлекторное поведение избегания. По мнению автора, созревание разных видов памяти связано с периодами развития пластических процессов в гиппокампе [17].

Нарушения в условно-рефлекторном поведении исследуются некоторыми нейробиологами в условиях повышенной судорожной активности в гиппокампе. Последняя экспериментально провоцируется у животных разными способами. Наиболее распространенным является киндлинг (раскачка) - это возникновение и постепенное нарастание судорожного синдрома в ответ на подпороговые эпилептогенные воздействия. В опытах Архипова [2] киндлинг вызывали у одной группы крыс внутримозговым или внутрибрюшинным введением пикротоксина, у другой - каиновой кислоты. Пикротоксиновый киндлинг вызывал поведенческую судорожную активность в разных формах вплоть до сильных судорог с падением на бок. После экспериментального эпилептогенеза у крыс сохранялся пищедобывательный навык (крыса поднималась на невысокую полку), но угашение этого навыка затруднялось. Обсуждается механизм наблюдаемых нарушений с учетом липидного обмена. В частности, было установлено, что у подопытных крыс снижалось содержание сфингомиелина в гиппокампе. Этот факт рассматривается авторами как компенсаторная реакция мозга, поскольку продукты метаболизма сфингомиелина (церамид и сфингозин) обладают проапоптотическим действием при контакте с нейроном [2]. В исследованиях Павловой с сотр. [19-21] киндлинг у крыс вызывался внутрибрюшинным введением пентилентетразола в субсудорожных дозах. Анализировались ЭЭГ в гиппокампе и коре, а также миограмма шейных мышц киндлингованных крыс. Были выявлены две группы крыс - “чувствительных” и “толерантных”. Судорожные разряды возникали в гиппокампе у крыс обеих групп. Но у “чувствительных” изменения в ЭЭГ возникали на 45 с позже, число судорожных разрядов было выше и их суммарная длительность за первые 45 мин была больше, чем у “толерантных”. У последних был ярче выражен пик мощности судорожной активности. В другой работе Павловой и др. [21] вырабатывалась челночная реакция избегания у киндлингованных крыс (киндлинг создавался таким же способом, как в описанной выше работе). В поведении подопытных животных наблюдалось нарушение выработки реакции избавления и увеличение межсигнальных реакций, что авторы объясняют воздействием киндлинга на гиппокамп (вплоть до гибели части нейронов) и повышением эмоциональной реактивности. Кроме того, авторы отмечают, что пентилентетразол обладает общим растормаживающим влиянием на поведение животных.

Проанализирована корреляция между числом сохранившихся после киндинга нейронов в СА1, СА3 полях гиппокампа и зубчатой фасции и силой судорог [19-21].

В опытах Мержановой и др. [18] сравнивалась импульсная активность в близлежащих нейронах гиппокампа и фронтальной коры (локальные сети), а также нейронов обеих структур (распределенные сети). Опыты проводились на четырех кошках самцах. Вначале их обучали по методике “активного выбора” качества пищевого подкрепления – при длиннотентном отставлении кошка могла получить мясо, нажав на педаль через 12 с после включения света; если же она нажимала через 2-3 с после действия условного сигнала (свет), то получала хлебно-мясную смесь. В результате обучения были выявлены две группы кошек, придерживавшихся разных стратегий поведения. Две кошки реагировали длиннотентным нажатием на педаль и получали высококачественное подкрепление (мясо) – по определению авторов демонстрировали поведение с “самоконтролем”; а две – демонстрировали короткотентное поведение и получали низкокачественное подкрепление (“импульсивные” животные). На следующем этапе животных тестировали в режиме без “права выбора” качества подкрепления – все животные получали мясо при короткоотставленном нажатии на педаль, то есть схема эксперимента упрощалась. Результаты анализа нейронной активности показали, что функциональная организация фронтальных и фронто-гиппокампальных сетей была различной при выборе стратегии поведения и одинаковой при упрощенной задаче у животных обеих групп. В то же время при упрощенной задаче без необходимости “выбора качества” подкрепления межгрупповые различия сохранялись в локальных сетях гиппокампа, что говорит, по мнению авторов, об их генетической предопределенности [18].

Детальное изучение некоторых нейрофизиологических механизмов функционирования гиппокампа, его взаимоотношений с другими структурами мозга, подробные сведения о его строении и связях делают эту структуру привлекательной для моделирования. Так, в работе Борисюка [4] рассматриваются математические и вычислительные модели эндогенного септального пейсмекера тета-ритма, обусловленного тормозной ГАМК-эргической обратной связью между медиальным септумом и гиппокампом. Автор подтверждает свою модель литературными данными о существовании системы обработки информации в мозгу, в которой центральную роль играет гиппокамп. Крюков (игумен Феофан) [10] описывает разработанную им с использованием достижений школы Ухтомского и исследований Виноградовой нейробиологическую модель внимания и памяти. Автор подробно анализирует нейрофизиологические, нейроморфологические данные, данные когнитивной психологии и, используя математическую теорию, строит близкую к физиологии модель из неформальных нейронов, которую называет “базовой нейронной моделью”. Его модель учитывает импульсную природу нейронной активности, экспоненциальное затухание мембранного потенциала, рефрактерность и межнейронные связи. Затем он строит модель доминантной архитектуры обработки сенсорной информации в мозгу. В соответствии с этой моделью информация хранится не в синаптических связях, а в пространственно-временных конфигурациях, при этом обучение процесс не локальный, а центрально управляемый. И, наконец, системой интегро-дифференциальных уравнений описывает модель “нейролокатор”. В блок-схему радарной следящей системы “нейролокатора” входит лимбическая система с учетом ламеллярности гиппокампа. Игумен Феофан поясняет, что мозг во многих отношениях подобен радару. Он ссылается на точку зрения Симонова, который говорил об избирательной готовности мозга к ответу на определенный стимул при его появлении в среде и об активном поиске этого стимула, называя этот процесс “принципом радара”. В соответствии с компараторной гипотезой мозг, подобно радару, посылает из ство-

ловых структур запросный сигнал во все корковые структуры мозга и после некоторой задержки получает на входе гиппокампа ответный сигнал на свой запрос наподобие радарного стимула, отраженного от цели. Ответный сигнал в соответствии с гипотезой Виноградовой сравнивается с эндогенно генерируемым опорным сигналом септального тета-ритма. При совпадении их по частоте и фазе вырабатывается сигнал ошибки, уменьшающий возможное рассогласование по фазе между опорным и ответным сигналами. Игумен Феофан убежден, что гиппокамп – “структура, возможно хранящая главный секрет работы мозга”. Автор полагает, что решение проблемы моделирования внимания в неявном виде содержится в принципе доминанты Ухтомского и в гипотезе компаратора Виноградовой. Свою заслугу он видит в явном описании физического механизма, лежащего в основе доминанты, соединении его с данными по гиппокамп и применению теории следящих систем автоматического регулирования [10].

Изложенные данные свидетельствуют о пластических, гистохимических, медиаторных, биоэлектрических изменениях в нейронах гиппокампа и септума, а также нейрофункциональных перестройках при формировании временных связей в процессе приспособления к условиям существования (последние в эксперименте моделируются исследователем). Современные данные (также, как и накопленные ранее) свидетельствуют об участии септо-гиппокампальной системы практически во всех механизмах, обеспечивающих жизнедеятельность организма в норме и патологии и еще раз подтверждают тезис, что с развитием новой коры архикортикальные образования не утрачивают значения в организации адаптивного поведения [7, 14].

ЛИТЕРАТУРА

1. *Архипов В.И.* Дискуссионные вопросы в современных исследованиях механизмов памяти. Журн.высш.нервн.деят., 54, 1, 5-10, 2004.
2. *Архипов В.И., Кулагина Т.П., Шевченко Н.А.* Влияние экспериментального эпилептогенеза на процессы памяти. Журн. высш. нервн. деят., 54, 2, 202-209, 2004.
3. *Асратян Э.А.* Очерки по физиологии условных рефлексов, М., Наука, 1970.
4. *Борисюк Р.М.* Моделирование гиппокампального тета-ритма. Журн. высш. нервн. деят., 54, 1, 85-100, 2004.
5. *Виноградова О.С.* Гиппокамп и память. М., Наука, 1975.
6. *Виноградова О.С., Кичигина В.Ф., Кудина Т.А. Кутырева Е.В.* Осцилляторные тета-процессы в нейронах септо-гиппокампальной системы при обработке информации и их модуляции стволовыми структурами. Успехи совр. биологии 120, 1, 103-112, 2000.
7. *Гамбарян Л.С., Коваль И.Н.* Гиппокамп. Ереван, изд-во АН Арм. ССР, 1975.
8. *Граштыян Е., Кармош Г., Андян Л., Верецкеи Л.* Участие гиппокампа в формировании условных рефлексов. V Гагрские беседы. М., Наука, 1968.
9. *Зосимовский В.А., Кориунов В. А.* Возвращение в гиппокампальную формацию волн возбуждения, выходящих из поля СА1, облегчается после тетанизации коллатералей Шаффера и во время сна. Журн. высш. нервн. деят. 59, 1, 87-97, 2009.
10. *Игумен Феофан (В.И.Крюков).* Модель внимания и памяти, основанная на принципе доминанты и компараторной функции гиппокампа. Журн. высш. нервн. деят., 54, 1, 11-31, 2004.

11. Касьянов А.М., Эзрохи В.Л. Внутриклеточная тетанизация гиперполяризующим током потенцирует синапсы, формируемые мшистыми волокнами на пирамидной клетке области СА3 гиппокампа крысы. Журн. высш. нервн. деят. 59, 4, 453-460, 2009.
12. Кичигина В.Ф. Механизмы регуляции и функциональное значение тета-ритма. Журн. высш. нервн. деят., 54, 1, 101-119, 2004.
13. Кичигина В.Ф. Дофаминэргическая регуляция тета-активности септо-гиппокампальных нейронов у бодрствующих кроликов. Журн. высш. нервн. деят., 54, 2, 210-215, 2004.
14. Коваль И.Н., Саркисов Г.Т., Гамбарян Л.С. Септо-гиппокампальная система и организация поведения. Ереван, изд-во АН Арм. ССР, 1986.
15. Копаладзе Р.А. Биоэтика и эволюция биомедицинского эксперимента от Алкмеона до Павлова. Успехи физиол. наук, 40, 3, 89-104, 2009.
16. Коршунов В.А., Попов Н.В., Теннова Н.В., Зосимовский В.А., Маркевич В.А. Двойные вызванные ответы в поле СА1 гиппокампа при стимуляции коллатералей Шаффера. Журн. высш. нервн. деят., 54, 2, 183-191, 2004.
17. Кудряшов И.В. Постнатальное развитие условно-рефлекторного поведения. Журн. высш. нервн. деят., 54, 5, 666-670, 2004.
18. Мержанова Г.Х., Долбакян Э.Г., Хохлова В.Н. Организация фронто-гиппокампальных нейронных сетей у кошек при разных формах целенаправленного поведения. Журн. высш. нервн. деят., 54, 4, 508-518, 2004.
19. Павлова Т.В. Взаимодействие нейронов гиппокампа и неокортекса в эмоционально-негативных ситуациях у активных и пассивных кроликов. Журн. высш. нервн. деят., 59, 1, 75-86, 2009.
20. Павлова Т.В., Степаничев М.Ю., Гехт А.Б., Гуляева Н.В. Выработка реакции адаптивного избегания у крыс и морфологические изменения в гиппокампе при пентилтетразоловом киндлинге. Журн. высш. нервн. деят., 59, 1, 213-220, 2009.
21. Павлова Т.В., Фесенко Г.Н., Гехт А.Б., Гуляева Н.В., Ковальзон В.М. Судорожная активность в ЭЭГ крыс, чувствительных и толерантных к пентилтетразоловому киндлингу. Российский физиол. журн., 95, 1, 140-148, 2009.
22. Попова И.Ю. Роль медиальной септальной области в нервном контроле гибернации. Журн. высш. нервн. деят., 54, 2, 163-173, 2004.
23. Семенова Т.П. Особенности моноаминэргической регуляции высшей нервной деятельности гибернирующих животных. Журн. высш. нервн. деят., 54, 2, 174-172, 2004.
24. Симонов П.В. Лекции о работе головного мозга. М., Инст. психологии РАН, 1998.
25. Судаков К.В., Урываев Ю.В. К 100-летию мадридской речи И.П.Павлова (апрель 1903). Журн. высш. нервн. деят., 54, 3, 293-303, 2004.

Поступила 04.10.2009.



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 3(62), 2010

ԹՈՒՉՈՒՆՆԵՐԻ ԿՈԼԻԲԱԿՏԵՐԻՈԶԻ ԻՆՏԵՆՍԻՎ ՑՈՒՑԱՆԻՇՆԵՐԸ

Մ.Ա. ՍԱՀԱԿՅԱՆ, Ս.Լ. ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ

Հայաստանի պետական ագրարային համալսարան

Թռչունների կոլիբակտերիոզը որպես պայմանական ախտածին մանրէներով հարուցվող հիվանդություն, որոշակի տարածում է գտել Գետամեջի և Լուսակերտի թռչնաբուծական համալիրներում: Հիվանդության տեղաձարակային բնկումները հետևանք են օրգանիզմի դիմադրողականության նվազման և պայմանական ախտածին *Escherichia coli*-ի վարակունակության բարձրացման: Համաձարակի ընթացքի ինտենսիվ ցուցանիշներով հիվանդացության և մահացության գործակիցները Գետամեջի թռչնաֆաբրիկայում համապատասխանաբար կազմել են 0,087 և 0,26, իսկ Լուսակերտում՝ 0,091 և 0,35: Ըստ հիվանդության, կոլիբակտերիոզը դասվում է միջին ինտենսիվության ընթացող համաձարակներին:

*Համաձարակ և թռչուն և կոլիբակտերիոզ - հիվանդացություն
և մահացություն*

Колибактериоз птиц, являясь заболеванием, вызываемым условно-патогенными микроорганизмами, имеет определенное распространение в Гетамечской и Лусакертской птицефабриках. Эпизоотические вспышки болезни являются последствием понижения сопротивляемости организма и повышения вирулентности условно-патогенных бактерий *Escherichia coli*. По интенсивным факторам эпизоотии коэффициент заболеваемости и смертности в Гетамечской птицефабрике соответственно составляет 0,087 и 0,26, а в Луса-кертской – 0,091 и 0,35. По заболеваемости колибактериоз подлежит средней интенсивностью протекающим эпизоотиям.

*Эпизоотия - птица - колибактериоз - заболеваемость –
смертность*

Being disease caused by facultative-pathogenic microbes colibacteriosis of chicken has corresponding spread in poultry farms of Getamech and Lusakert. Epizootic blazes of disease are the consequences of reduction of resistance of organism and increase in virulence of conditional-pathogenic *Escherichia coli*. By intensive factors of epizooty, coefficient of sickness and mortality are in Getamech poultry farm 0,087 and 0,26 respectively, and in Lusakert- 0,091 and 0,35 respectively. By sickness colibacteriosis is categorized as to middle intensity passing epizooty.

Epizootia bird – colibacteriosis – sickness mortality

Կենդանիների և թռչունների ինֆեկցիոն հիվանդությունների կանխարգելման և վարակների նկատմամբ անապահով վարչական տարածքներում պայքարի միջոցառումների արդյունավետության ապահովման համար անհրաժեշտ է օգտագործել այնպիսի ցուցանիշներ, որոնց միջոցով բացահայտվում են համաձարակային ընթացքի ուժգնությունը և տարածման մասշտաբները: Հայտնի է, որ բացի համաձարակի ընթացքից, նրա առաջացման և գոյության հիմնական գործոններից, նրա ինտենսիվության վրա որոշակի ազդեցություն են թողնում կենսաբանական, բնաաշխարհագրական և սոցիալոնտեսական գործոնները [3,4]:

Համաճարակային ընթացքի լարվածության գնահատման համար պետք է համեմատել, համադրել այդ ընթացքը բնորոշող ցուցանիշները [2]: Ակնհայտ է, որ համաճարակի ծավալների ճիշտ բացահայտման, նրա մասշտաբների որոշման, հիվանդության հետագա տարածման, նրա ուժեղության, հիվանդ և սատկած կենդանիների քանակի իրական նպատակները արտացոլելու համար բացարձակ տվյալներով հնարավոր չէ վերջնական դատողության հանգել, անգամ համապատասխան թվերի մեծ ծավալների դեպքում: Այդ կապակցությամբ օգտագործում են հարաբերական ցուցանիշները՝ հիվանդացությունը, մահացությունը և մահացականությունը:

Փորձերի նպատակն է եղել բացահայտել հանրապետության խոշոր բրոյլերային տնտեսություններում կոլիբակտերիոզի համաճարակաբանության ինտենսիվ ցուցանիշներն ու աղբյուրները, ինչը հետագայում թույլ կտա կանխել կամ նվազագույնի հասցնել հիվանդության պատճառած վնասները:

Նյութ և մեթոդ: Փորձերը կատարվել են ՀՀ Գետամեջի և Լուսակերտի թոչնաբուժական ֆաբրիկաներում 2007-2009թթ. ընթացքում: Ուսումնասիրության են ենթարկվել 81348 թև թռչունների համաճարակաբանական որոշ ցուցանիշներ Գետամեջի թոչնաֆաբրիկայի 5 թոչնանոցներում և Լուսակերտի թոչնաֆաբրիկայում 87000 թև թռչունների շրջանում, որոնք պահվում էին 3 թոչնանոցներում: Որոշել ենք համաճարակի ինտենսիվությունը տարբեր թոչնաֆաբրիկաներում, հիվանդացության և անկման գործակիցները, օջախայնության ցուցիչն ու անապահովության գործակիցը:

Այս առումով ուշագրավ է հիվանդացությունը, մահացությունը և մահացականությունը, որոնք արտացոլում են անասնաբուժական-սանիտարական, կենդանիների և թռչունների պահվածքի, խնամքի, տնտեսության վարման կազմակերպչական-տնտեսական մակարդակը [1]:

Արդյունքներ և քննարկում: Գետամեջի թոչնաֆաբրիկայի թոչնանոցներում պահվող Արբոր-Այգրես հունգարական ցեղի 81348 բրոյլերներից ընդամենը հիվանդացել են 11182, որի գործակիցը կազմում է 0,137: Եթե հիվանդացության հաշվարկները տանում ենք ըստ առանձին նոգողիական միավորների, ապա կոլիբակտերիոզին բաժին է ընկնում 7092 գլուխ, որի գործակիցը կազմում է 0,087, իսկ ռեսպիրատոր միկոպլազմոզին և էյմերիոզին՝ 0,05:

Համաճարակի ինտենսիվության դրսևորման նշված պատկերը առավել ակնհայտ է, երբ համապատասխան տվյալները վերլուծության ենք ենթարկում ընդհանուր հիվանդացության մեջ յուրաքանչյուրի մասնաբաժնի (տեսակարար կշռի) տեսակետից: Այսպես, 11182 հիվանդ թռչուններից կոլիբակտերիոզով հիվանդների թիվը կազմում է 7092, իսկ մնացած 4090-ը բաժին է ընկնում միկոպլազմոզին և էյմերիոզին: Հետևաբար հիվանդացությունների տեսակարար կշիռները ըստ գործակիցների կազմում են համապատասխանաբար 0,63 և 0,36:

Ադ. 1-ից երևում է, որ ախտահարված 11182 թռչունից սատկել են 3151 գլուխ, որը կազմում է 28% (մահացության գործակիցը 0,28): Կոլիբակտերիոզի դեպքում այդ ցուցանիշը կազմում է 0,17, իսկ միկոպլազմոզի և էյմերիոզի՝ 0,11: Նշվածի վկայությունն այն է, որ կոլիբակտերիոզի դեպքում թռչունների անկումը ավելի քան 1,5 անգամ գերազանցում է մյուս 2 վարակիչ հիվանդություններից սատկած թռչունների գլխաքանակին: Այդ նշանակում է, որ կոլիբակտերիոզի դեպքում հիվանդ թռչունների անկումը ավելի մեծ թիվ է կազմում, քան միկոպլազմոզով և էյմերիոզով հիվանդների անկումը: Ուրեմն աղիքային ցուպիկով ախտահարված ինֆեկցիոն պրոցեսը կրում է խորը բնույթ:

Մահացականության վերլուծության արդյունքը, որը համարվում է սատկած և տվյալ հիվանդությունների նկատմամբ ընկալունակ թռչունների գլխաքանակների հարաբերությանը, ցույց է տալիս, որ նա կազմում է 0,038 (3151/81348): Կոլիբակտերիոզի դեպքում մահացականությունը հասնում է 0,023, մինչդեռ ուսումնասիրվող երկու վարակների ընդհանուր ցուցանիշը կազմում է 0,015:

Համաճարակի ընթացքի բնութագրման և հիվանդության կործանարար հետևանքների գնահատման հուսալի արդյունքներ է տալիս նաև օջախայնության գործակիցը: Այն ցույց է տալիս անապահով վարչական տարածքների հիվանդ կենդանիների միջին թիվը մեկ անապահով կետի հաշվով: Գետամեջի թոչնաֆաբրիկայում, ըստ թոչնանոցների քանակի՝ ընդունելով, որ բոլոր հինգ ֆերմաները համարվում են անապահով վերը նշված հիվանդությունների հանդեպ, ակնհայտ է, որ օջախայնության գործակիցը կազմում է 2236,4 (11182/5): Եթե այդ միջին գործակիցը արտահայտենք հիվանդացությամբ, ապա կունենանք 0,2 գործակից կամ 20% հիվանդացություն, որը համարվում է միջին ուժեղության համաճարակի դրսևորում:

Հիվանդության տարածվածության որոշման առումով անհրաժեշտ է որոշել նաև անապահովության ցուցիչը, որը համարվում է վարչական տարածքների (մեր օրինակում առանձին թոշնանոցների) ապահովության աստիճանը: Քանի որ բոլոր 5 թոշնանոցները անապահով են նշված հիվանդությունների նկատմամբ, ուստի անապահովության ցուցիչը կազմում է 1, կամ 100% (5/5): Վերջինս ցույց է տալիս, որ հիվանդությունների, մասնավորապես կոլիբակտերիոզի, զանգվածային տարածման պատճառը համարվում է թոշնաֆաբրիկաների սանիտարահիգիենիկ անբավարար պայմանները և թոշունների պահվածքի վիճակը, որոնք պատճառ են հանդիսանում պայմանական ախտածին աղիքային ցուպիկի ակտիվացման և կոլիբակտերիոզի բռնկման համար: Չի բացառվում նաև վարակունակ մանրէների արտահոսքը որևէ անապահով թոշնանոցից և ապահով ֆերմաների թոշունների վարակումը էկզոգեն ճանապարհով:

Կոլիբակտերիոզի օրինակով նշենք, որ օջախայնության գործակիցը կազմում է 1418,4 (7092/5), իսկ եթե այն արտահայտենք հիվանդացությանը, ապա արդյունքում կստացվի 0,2: Միկոպլազմոզի և էյմերիոզի դեպքում այդ ցուցանիշների պատկերն է՝ համապատասխանաբար 818 և 0,2: Այսինքն օջախայնության գործակցի միջին ցուցանիշներով հիվանդացությունը միշտ կկազմի 20%: Բոլոր դեպքերում կոլիբակտերիոզի օջախայնության գործակիցը անհամեմատ գերազանցում է մյուս երկու վարակների այդ ցուցանիշներին:

Ինչ վերաբերվում է Լուսակերտի թոշնաֆաբրիկային, ապա թոշնաբուժական ֆաբրիկայի թվով 3 թոշնանոցներում պահվող Ռոսս-308 գերմանական ցեղի 87000 թև բրդյալեռներից կոլիբակտերիոզով հիվանդացել են 7910 թև, իսկ էյմերիոզով և ռեսպիրատոր միկոպլազմոզով 4850: Կոլիբակտերիոզով հիվանդ թոշուններից սատկել են 2800: Հետևաբար, հիվանդացության և մահացության գործակիցները կազմում են համապատասխանաբար 0,091 և 0,35: Օջախայնության ցուցիչը կազմել է 2636,7, իսկ անապահովության գործակիցը 1:

Երկու տնտեսություններում էլ վերը նշված ցուցանիշները հաշվարկել ենք 1-45 օրական հասակի ընթացքում արձանագրված տվյալների հիման վրա, այսինքն այն ժամանակահատվածում, որքան պահվում են բրդյալեռները մեր կողմից ուսումնասիրվող տնտեսություններում:

Աղյուսակ 1. Թոշունների կոլիբակտերիոզի ինտենսիվ և էքստենսիվ համաճարակաբանական մի քանի ցուցանիշներ Գետամեջի և Լուսակերտի թոշնաբուժական ֆաբրիկաներում

Ցուցանիշներ և համաճարակաբանական կատեգորիաներ	Գետամեջի թոշնաֆաբրիկա			Լուսակերտի թոշնաֆաբրիկա		
	Ընդամենը	այդ թվում		Ընդամենը	այդ թվում	
		Կոլիբակտերիոզ	Կոկցիդիոզ, միկոպլազմոզ		Կոլիբակտերիոզ	Կոկցիդիոզ, միկոպլազմոզ
Թոշունների գլխաքանակ	81348	-	-	87000	-	-
Հիվանդացել են	11182	7092	4090	12760	7910	4830
Սատկել են	3151	1903	1248	4160	2800	1360
Հիվանդացության գործակից	0,137	0,087	0,05	0,147	0,091	0,056
Մահման գործակից	0,28	0,26	0,30	0,32	0,35	0,28
Օջախայնության ցուցիչ	2236	1418,4	818	4246,6	2636,7	1616,7
Անապահովության գործակից	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Եզրակացություններ

1. Թոշունների կոլիբակտերիոզը որպես պայմանական ախտածին մանրէներով հարուցվող հիվանդություն, որոշակի տարածում է գտել Գետամեջի և Լուսակերտի թոշնաբուժական համալիրներում: Հիվանդության տեղաճարակյին բռնկումները հետևանք են օրգանիզմի դիմադրողականության նվազման և պայմանական ախտածին *Escherichia coli*-ի վարակունակության բարձրացման:

2. Համաճարակի ընթացքի ինտենսիվ ցուցանիշներով հիվանդացության և մահացության գործակիցները Գետամեջի թռչնաֆարրիկայում համապատասխանաբար կազմել են 0,087 և 0,26, իսկ Լուսակերտում՝ 0,091 և 0,35: Ըստ հիվանդության, կոլիբակտերիոզը դասվում է միջին ինտենսիվության ընթացող համաճարակներին:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Գրիգորյան Ս.Լ.* Գյուղատնտեսական կենդանիների համաճարակաբանություն և ինֆեկցիոն հիվանդություններ. Երևան, էջ 521-529, 2002:
2. *Бакулов И.А.* Руководство по общей эпизоотологии, Изд. “Колос”, М., с. 137-156, 1979.
3. *Сидорчук А.А.* Инфекционные болезни животных, Изд. “Колос”, М., с. 92-99, 2007.
4. *Kariuki S., C. Gilks, J. Kimari, J. Muyodi, B. Getty and C.A. Hart.* Carriage of potentially pathogenic *Escherichia coli* in chickens. *Avian Diseases.* 46, p.721-724, 2002.

Ստացվել է 16.09.2010



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 3(62), 2010

«ԶՐՎԵՃ» ԱՆՏԱՌՊԱՐԿԻ ՆԵՐՄՈՒԾՎԱԾ ԾԱՌԱԹՓԱՏԵՍԱԿՆԵՐԻ ՏԱՔՍՈՆՈՄԻԱԿԱՆ ԿԱԶՄԸ

Վ.Ե. ՈՍԿԱՆՅԱՆ, Գ.Պ.ՍԱՐԳՍՅԱՆ, Ա.Ս. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ, Վ.Լ.
ԲԱԴՅԱՆ

ՀՀ ԲՆ, Արզեանոցապարկային համալիրի ՊՈԱԿ
badalyan_vahan@yahoo.com

Ջրվեժե անտառապարկը կազմակերպվել է 1977թ.-ին, նպատակ հետապնդելով Երևան քաղաքի էկոլոգիական վիճակի առողջացումը, բնական միջավայրում մարդկանց հանգստի, մշակութային գեղագիտական պահանջների բավարարումը:

Հաջողվել է երեք տասնամյակի ընթացքում ստեղծել մայրաքաղաքին մոտ գեղազարդ տարածք: Անտառապարկ է ներմուծվել մերկասերմերի և ծածկասերմերի կարգին պատկանող 128 ծառաթփատեսակներ ու պարտեզային ձևեր, որոնց մեջ գերակշռում են վարդագգիների ընտանիքին պատկանող բույսերը՝ 36 տեսակ: Տեսակներից շատերը անցել են առատ պտղաբերման ապահովում են ինքնագանքը:

Անտառապարկ - կենսաբազմազանություն - ծառ - թուփ - ներմուծում

Лесопарк «Джрвеж» организован в 1977 г. с целью оздоровления экологического состояния Еревана и отдыха горожан. Близ столицы создана декоративная территория. Интродуцировано 128 видов и декоративных форм деревьев и кустарников, принадлежащих к голосеменным и покрытосеменным растениям, где доминируют представители семейства *Rosaceae* (36 видов). Большинство видов в настоящее время обильно плодоносит и обеспечивает самосев.

Лесопарк - биоразнообразие - дерево - кустарник - интродукция

Jrvegh forest park was established in 1977 to improve ecologic condition in Yerevan city. It was succeeded to create decorative area near the capital. 128 tree bushes and garden forms belonging to gymnosperm and angiosperm plants, were introduced in the park, out of which *Rosaceae* family (36 sorts) prevails. Majority of sorts are abundantly fertile and ensures self-seeding.

Forest park - biodiversity - tree bush - insert

Ջրվեժե անտառապարկը ստեղծվել է 1977թ. Ողջաբերդի լեռնաբազուկի ստորին հատվածում: Տարածքը գտնվում է կիսաանապատային ու լեռնատափաստանային գոտիների շփման մասում և ունի կտրտված ռելիեֆ: Այս երկու գործոններն իրենց ազդեցությունն են ունեցել բնական ֆլորայի ձևավորման գործում: Անտառապարկի բնական ֆլորան ընդգրկում է Երևանի ֆլորայի (Արարատյան գոգավորության) ավելի քան 28%-ը կամ Հայաստանի ֆլորայի շուրջ 13%-ը (412 տեսակ, որոնք ընդգրկված են 247 ցեղի 57 ընտանիքի մեջ [3]:

Հիմնադրման օրից փորձ է արվել օգտագործել փորձ է արվել օգտագործել անտառապարկի կտրտված ռելիեֆի հետևանքով առաջացած աճման բազմազան պայմանները տարածք ներմուծել բազմաթիվ բույսեր, ինչի շնորհիվ հաջողվել է ստեղծել գեղազարդ պարկաշինության եզակի մի նմուշ, որը վերափոխել է տարածաշրջանի գորշ պատկերը, դարձել բնակչության ակտիվ հանգստի գոտի:

Անտառապարկում հաջողությամբ զուգորդված են բնական և արհեստական (անտառապարկի շուրջ 60%-ը զբաղեցնում են անտառունկարկները և լանդշաֆտները, առանձին հմայք են հաղորդում ջրավազանները: Ներկայումս ստեղծված է ուրույն էկոհամակարգ՝ իրեն բնորոշ բուսական և կենդանական աշխարհով: Անտառապարկը հարուստ է օգտակար բուսական-տեսակներով (ուտելի, գեղագարդ, ժողովրդական օֆիցիալ բժշկության մեջ լայնորեն օգտագործվող դեղաբույսերով և այլն):

Աշխատանքի նպատակն է եղել ավելի քան երեսուն «Ջրվեժ» անտառապարկ ներմուծված շառափների տեսակային կազմի ամփոփումը:

Նյութ և մեթոդ: Աշխատանքի համար նյութ են ծառայել «Ջրվեժ» անտառապարկի տարածքում գրեթե երկու տասնամյակ կատարված ուսումնասիրության արդյունքները: Անտառապարկի ներմուծված ծառափառատեսակների ֆլորայի բացահայտման համար կիրառվել են ստացիոնար հետազոտություններ [1, 4-6]: Բուսատեսակների հաշվառման համար կազմվել են հերթաբաժիններ, որոնք պահպանվում են ՀՀ ԲՆԱԿ, Արգելոցապարկային համալիրի ՊՈԱԿ-ում:

Արդյունքներ և քննարկում: Անտառապարկում կարելի է հանդիպել մերկասերմերի և ծածկասերմերի բաժիններին պատկանող 128 ներմուծված ծառափառատեսակներ ու պարտեզային ձևեր (աղ. 1), որոնք ընդգրկված են 69 ցեղում 32 ընտանիքում:

Մերկասերմերի բաժնում ընդգրկված են 2 ընտանիքի, 8 ցեղի պատկանող 19 տեսակներ պարտիզային ձևեր, որոնցից մշտադալար, ասեղնատերև ծառեր են 17-ը, 1-ը տերևաթափ, ասեղնատերև ծառ է 1-ը ասեղնատերև մշտադալար թուփ է:

Ծածկասերմերի բաժնում ընդգրկված են 30 ընտանիքի, 61 ցեղի, 109 տեսակներ և պարտիզային ձևեր, որոնցից տերևաթափ ծառեր են 61-ը, տերևաթափ թփեր են 43-ը, 2-ը՝ մշտադալար թփեր, 2-ը՝ տերևաթափ լիան 1-ը՝ կիսաթուփ:

Աղյուսակ 1. «Ջրվեժ» անտառապարկի ներմուծված ծառափառատեսակները

N	Տեսակներն՝ ըստ ընտանիքների (լատիներեն-հայերեն)	Կենսաձևը
Gymnospermae - Մերկասերմեր		
Cupressaceae - Նոճազգիներ		
1	Biota orientalis (L.) Endl.- Կենսածառ արևելյան	Ծառ
2	B. orientalis f. globosa Endl.- Կ.արևելյան պ.ձ. գնդաձև	Ծառ
3	B. orientalis f. pyramidalis Endl. - Կ.արևելյան պ.ձ. բրգաձև	Ծառ
4	Chamaecyparis lawsoniana (A. Murr.) Parl.- Գետնանոճի լավսոնի	Ծառ
5	Juniperus communis L.- Գիհի սովորական	Ծառ
6	J. oblonga Bieb.- Գ.երկարատերև	Օ(թ)առ
7	J. polycarpus C.Koch - Գ.բազմապտուղ	Ծառ
8	J. sabina L.- Գ.կազակական	Թառ
9	J. virginiana L.- Գ.վիրջինյան	Ծառ
10	Thuja occidentalis L.- Թույա արևմտյան	Ծառ
11	T. occidentalis f. fastigiata Jaeg.- Թ. արևմտյան պ.ձ. սյունաձև	Ծառ
12	T. occidentalis f. globosa Gard.- Թ. արևմտյան պ.ձ. գնդաձև	Ծառ
Pinaceae - Սոճինազգիներ		
13	Abies nordmanniana (Stev.) Spach.- Երևին կովկասյան	Ծառ
14	Larix sibirica Ledeb.- Խեժափիճի սիբիրական	Ծառ
15	Picea abies (L.) Karst.- Եղևնի սովորական	Ծառ
16	P. pungens Engelm.- Ե. կեռիկավոր կամ փշոտ	Ծառ
17	Pinus pallasiana D.Don.Lamb.- Սոճի դրիմյան	Ծառ
18	P. sylvestris L.- Ս. սովորական	Ծառ
Angiospermae - Ծածկասերմեր		
Aceraceae - Թխկազգիներ		
19	Acer campestre L.- Թխկի դաշտային	Ծառ
20	A. negundo L.- Թ. հացենատերև	Ծառ
21	A. platanoides L.- Թ. սոսիատերև կամ սրատերև	Ծառ
22	A. pseudoplatanus L.- Թ. կեղծսոսիատերև, սպիտակ	Ծառ
Anacardiaceae - Աղտորազգիներ		
23	Cotinus coggygia Scop.- Դրախտածառ սովորական	Ծառ
24	Pistacia mutica Fisch.et Mey.- Պիստակենի բթատերև	Ծառ

Berberidaceae - Մորենազգիներ		
25	Berberis orientalis Schneid.- Մորենի (Կծոխուր) արևելյան	Թտ
26	B. thunbergii DC.- Ծ.թունբերգի	Թտ
27	B. vulgaris L.- Ծ. սովորական	Թտ
28	B. sp.	Թտ
29	Mahonia aquifolium (Pursh) Nutt - Մահոնիա սովորական կամ սղովիատերև	Թմ
Betulaceae - Կեչազգիներ		
30	Betula pendula Roth- Կեչի ելունդավոր	Ծտ
31	B. pubescens Ehrh.- Կ.թավոտ	Ծտ
Buxaceae - Տասախազգիներ		
32	Buxus sempervirens L.- Տասախ մշտադալար	Թմ
Caprifoliaceae - Ցախակեռասազգիներ		
33	Lonicera bracteolaris Boiss. et Buhse - Ցախակեռաս ծաղկակիցավոր	Թտ
34	L. caucasica Pall. - Ց.Կովկասյան	Թտ
35	L. iberica Bieb.- Ց. իբերիական (վրացական)	Թտ
36	Sambucus nigra L.-Կտտկենի սև	Թտ
37	Symphoricarpos albus (L.) S.F.Blake - Ձյունապտղիկ սպիտակ	Թտ
38	Viburnum lantana L.- Գերիմաստի	Թտ
39	V. opulus L.- Բոնչի սովորական	Թտ
Celastraceae - Իլենազգիներ		
40	Euonymus europaea L.- Իլենի սովորական կամ Եվրոպական	Թտ
Celtidaceae - Փռնազգիներ		
41	Celtis caucasica Willd.- Փռնի կովկասյան	Ծտ
Cornaceae - Հոնազգիներ		
42	Cornus mas L.- Հոնի	Ծ(թ)տ
43	Swida australis (C.A.May) Takht.- Ճապկի հարավային	Ծ(թ)տ
Corylaceae - Տխլազգիներ		
44	Carpinus betulus L.- Բոխի կովկասյան կամ սովորական	Ծտ
45	Corylus avellana L.- Տխլենի սովորական	Թտ
Elaeagnaceae - Փշատազգիներ		
46	Elaeagnus angustifolia f. culta Sosn.- Փշատենի նեղատերև պ.ձ. մշակովի	Ծտ
47	E. orientalis L.- Փ.արևելյան	Ծտ
48	Hippophae rhamnoides L.- Չիչխան դժնիկանման	Թտ
Fabaceae - Բակլազգիներ		
49	Caragana arborescens Bam.- Կարագանա ծառանման	Թտ
50	Halimodendron halodendron (Pall.) Voss.- Ոլոռնածառ արծաթափայլ	Թտ
51	Robinia pseudoacacia L.- Ռոբինիա կեղծաակացիա	Ծտ
Fagaceae - Հաճարազգիներ		
52	Fagus orientalis Lipsky.- Հաճարենի արևելյան	Ծտ
53	Quercus castaneifolia C. A. Mey.- Կաղնի շագանակատերև	Ծտ
54	Q. iberica Stev.- Կ.վրացական	Ծտ
55	Q. macranthera Fisch. et C.A.Mey.ex Hohen.- Կ.արևելյան կամ խոշորառեղ	Ծտ
Grossulariaceae - Կոկոռազգիներ		
56	Ribes aureum Pursh. - Հաղարթենի ոսկեգույն	Թտ
57	R. nigrum L.- Հ.սև	Թտ
Hippocastanaceae - Չիականազգիներ		
58	Aesculus hippocastanum L.- Չիական սովորական	Ծտ
Hydrangeaceae - Դրախտավարդազգիներ		
59	Philadelphus caucasicus Koehne - Սրնգենի կովկասյան (կեղծ հասմիկ)	Թտ
Juglandaceae - Ընկուզազգիներ		
60	Juglans regia L.- Ընկուզենի հունական	Ծտ
Loganiaceae - Լոգազգիներ		
61	Buddleia davidii Franch.- Բուդլյեյա Դավիդի	Թտ
Malvaceae - Տուղտազգիներ		
62	Hibiscus syriacus L.- Հիբիսկուս (Բադրջուկ) սիրիական	Թտ
Moraceae - Թթազգիներ		
63	Morus alba L.- Թթենի սպիտակ	Ծտ
64	M. alba L. f. pendula - Թթենի սպիտակ պ.ձ. լացող	Ծտ
Oleaceae - Չիթենազգիներ		
65	Forsythia intermedia Zab.- Ֆորսիցիա (Ոսկեզանգ) միջանկյալ	Թտ
66	Fraxinus excelsior L.- Հացենի սովորական	Ծտ

	«Ջրվեժ» ԱՆՏԱՌՊԱՐԿԻՆԵՐՄՈՒԾՎԱԾ ԾԱՌԱԹՓԱՏԵՍԱԿՆԵՐԻ ՏԱՔՍՈՂՈՄԻԱԿԱՆԿԱԶՄԸ	
67	F. lanceolata Borkh.- Հ. նշտարաձև	Ծտ
68	Syringa vulgaris L.- Եղրևանի սովորական	Թտ
69	S. josikaea Jacq.fil.- Ե. հունգարական	Թտ
Platanaceae - Մուսազգիներ		
70	Platanus orientalis L.- Մոսի արևելյան	Ծտ
Rhamnaceae - Դժնիկազգիներ		
71	Frangula alnus Mill.- Բեկտենի լաստենատերև	Ծտ
Rosaceae - Վարդազգիներ		
72	Amelanchier ovalis Medik.- Ամելանիսիեր կլորատերև	Թտ
73	Amygdalus communis L.- Նշենի սովորական	Ծտ
74	A. fenzliana (Fritsch) Lipsky.- Ն.Ֆենցլի	Ծտ
75	A. nairica Fed. Et Thakht.- Ն.նաիրյան	Օ(թ)տ
76	Armeniaca vulgaris Lam.- Ծիրանենի սովորական	Ծտ
77	Cerasus avium (L.) Moench - Կեռասենի թռչնի	Ծտ
78	C. incana (Pall.) Spach - Բալենի ալեհեր	Թտ
79	C. mahaleb (L.) Mill - Բ.մահալեբյան	Թտ
80	Chaenomeles japonica (Thunb.) Lindl. ex Spach. - Խենոմելես ճապոնական	Թտ
81	Cotoneaster armena Pojark - Չմենի հայկական	Թտ
82	C. integerrima Medik.- Չ. ամբողջաեզր	Թտ
83	C. melanocarpa - Չ. սևապտուղ	Թտ
84	C. multiflora Bunge - Չ.բազմաճաղիկ	Թտ
85	Crataegus atrosanguinea Pojark.- Սգնի մուգ-արնագույն	Ծտ
86	C. caucasica C.Koch.- Ս.կովկասյան	Ծտ
87	C. orientalis Pall. ex M.Bieb.- Ս.արևելյան	Թտ
88	Cydonia oblonga Mill.- Սերկիլիենի սովորական	Ծտ
89	Malus domestica Borkh.- Խնձորենի կուլտուրական (մշակովի)	Ծտ
90	M. sylvestris Mill.- Խ. վայրի անտառային	Ծտ
91	Mespilus germanica L.- Ջկենենի սովորական	Ծտ
92	Padus mahaleb (L.) Borkh.- Թխենի մահալեբյան (բալենի)	Թտ
93	P.racemosa (Lam) Gilib - Թ. սովորական	Թտ
94	Persica vulgaris Mill.- Դեղձենի սովորական	Ծտ
95	Prunus divaricata Leb.- Սալորենի չոված, շորենի	Ծտ
96	P. domestica L. - Ս.կուլտուրական	Ծտ
97	Prunus spinosa L. - Մամիսենի	Թտ
98	Pyrus caucasica Fed.- Տանձենի կովկասյան	Ծտ
99	P. communis L.- Ս.սովորական	Ծտ
100	P. salicifolia Pall.- Ս. ուռատերև	Ծտ
101	Rosa canina L.- Մասրենի շան	Թտ
102	Rubus anatolicus Focke - Մոշենի անատոլիական	Կթ
103	Sorbus armeniaca Hedl.- Արոսենի հայկական	Ծտ
104	S. aucuparia L.- Ա.սովորական	Ծտ
105	Spiraea japonica L.f.- Ասպիրակ ճապոնական	Թտ
106	S. salicifolia - Ա. ուռատերև	Թտ
107	S. vanhouttei (Briot) Zabal.- Ա. Վանհուտի	Թտ
Salixaceae - Ուռազգիներ		
108	Populus bolleana Lauche - Բարդի բոլեի	Ծտ
109	P. deltoides Marsh.- Բ.կանադական	Ծտ
110	P. gracilis Grossh.- Բ.նրբազեղ	Ծտ
111	P. laurifolia Ledeb.- Բ.դափնետերև	Ծտ
112	P. nigra L.- Բ. սև	Ծտ
113	P. pyramidalis Rosier (Roz.) Celak - Բ. բրգաձև	Ծտ
114	P. simonii Carr.- Բ.Միմոնի	Ծտ
115	P. tremula L.- Կաղամախի	Ծտ
116	Salix babylonica L.- Ուռենի բաբելոնյան	Ծտ
117	S. caprea L.- Ածուռենի	Ծտ
118	S. excelsa S.G.Gmel.- Ու. բարձր	Ծտ
119	S. purpurea L.- Ու. դեղնաճյուղ. ծիրանագույն	Թտ
Sapindaceae - Օճառազգիներ		
120	Koelreuteria paniculata Laxm.- Կելրեյտերիա հուրանավոր	Թտ
Tamaricaceae - Կարմրանազգիներ		
121	Tamarix ramosissima Ledeb.- Կարմրան բազմաճյուղ	Թտ
Tiliaceae - Լորենազգիներ		

122	<i>Tilia caucasica</i> Rupr.- Լորենի կովկասյան	Ծտ
<i>Ulmaceae - Թեղազգիներ</i>		
123	<i>Ulmus densa</i> Litv.- Թեղի գնդաձև	Ծտ
124	<i>U. foliaceae</i> Gilib.- Թ. տերևաշատ	Ծտ
125	<i>U. laevis</i> Pall.- Թ. հարթ (ողորկ)	Ծտ
<i>Vitaceae - Խաղողազգիներ</i>		
126	<i>Vitis sylvestris</i> C.C. Gmel.- Խաղող անտառային	Լտ
127	<i>V. vinifera</i> L.- Խ.սովորական	Լտ

Ծանոթություն - Ծամ - ծառ ասեղնատերև, մշտադալար; Ծատ - ծառ ասեղնատերև, տերևաթափ; Ծ(թ)ամ - ծառ կամ թուփ ասեղնատերև, մշտադալար; Ծ(թ)տ - ծառ կամ թուփ; տերևաթափ; Ծտ և ծառ տերևաթափ; Թամ - թուփ ասեղնատերև, մշտադալար, Թմ - թուփ մշտադալար; Թտ - թուփ տերևաթափ; Կթ - կիսաթուփ; Լտ - լիան տերևաթափ; պ.ձ. - պարտիզային ձև:

Ծառափերից երեքը ընդգրկված են Հայաստանի կարմիր գրքում՝ գիհի կազակական - *Juniperus sabina*, սոսի արևելյան - *Platanus orientalis*, նշենի նաիրյան (*Amygdalus nairica* [2]:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Հարությունյան Լ.Վ., Հարությունյան Ս.Լ., Հայաստանի դենդրոֆլորան, Երևան, 1-ին մաս, 1985, 2-րդ մաս, 1987:
2. ՀՀ կառավարության 29.01.2010թ. N 72-Ն որոշում ՀՀ բույսերի կարմիր գիրքը հաստատելու մասին:
3. Ոսկանյան Վ.Ե., Մանակյան Վ.Ա., Հարությունյան Ա.Ս. Ջրվեժ անտառապարկի բուսական ռեսուրսները, Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 55, 1-2, 2003:
4. Վարդանյան Ժ.Հ. Ծառագիտություն, Երևան, 2005:
5. Дендрофлора Кавказа, I, Тбилиси, 1959.
6. Деревья и кустарники СССР, I, М-Л., 1949.
7. Сосновский Д.Н., Махатадзе Л.Б. Краткий определитель деревьев и кустарников Армянской ССР, Ереван, 1950.

Ստացվել է 10.12.2009



Биол. журн. Армении, 3 (62), 2010

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В МИТОХОНДРИЯХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОТЕКЕ МОЗГА

Г.В. ЗАХАРЯН

ЕГМУ им. М.Гераци, кафедра медицинской химии

Исследовалось содержание липидных перекисей, цитохромов и кардиолипинов при экспериментальном отеке мозга. Показано, что активирование свободнорадикального окисления сопровождается уменьшением содержания кардиолипинов и цитохромов в митохондриальной фракции головного мозга крысы с экспериментальным отеком мозга. Полученные данные обсуждаются в связи с активированием процесса апоптоза в митохондриях при развитии отека мозга.

Отек мозга – митохондрии – цитохромы – кардиолипины – свободные радикалы

Ուսումնասիրվել է լիպիդների գերօքսիդացման գործընթացը, ցիտոքրոմների և կարդիոլիպիդների քանակը գլխուղեղում փորձարարական այտուցի ժամանակ: Ցույց է տրվել, որ միտոքոնդրիումներում ավելանում է գերօքսիդների քանակը և նվազում է ցիտոքրոմների և կարդիոլիպիդների պարունակությունը: Ստացված տվյալները քննարկվում են ապոպտոզի ակտիվացման հետ զուգընթաց:

Գլխուղեղի այտուց - միտոքոնդրիում - ցիտոքրոմ - կարդիոլիպին - ազատ ռադիկալ

The content of lipid peroxidation, cytochromes and cardiolipin under the brain edema has been investigated. The results indicate that under brain edema lipid peroxidation product increases and content cytochromes and cardiolipin in mitochondrial fractions decreases. The central role of mitochondria in the development activation of apoptosis in mitochondria is discussed based on available data.

Brain edema – mitochondria – cytochrome – cardiolipin – free radicals

Актуальность проблемы патофизиологических механизмов развития отека мозга (ОМ) связана с растущим числом сердечно-сосудистых заболеваний и черепно-мозговых травм во всем мире. Сложность этой проблемы, представляющей большой интерес для теории и практики медицины, обусловлена, в частности, разнообразием факторов, влияющих на развитие и устранение ОМ. В его развитии участвуют совокупность физиологических, биофизических и биохимических механизмов, определяющих феномены микроциркуляции, транскapиллярного обмена и объема жидкости в отдельных составных частях мозговой ткани. Под ОМ понимают процесс избыточного накопления воды в ткани мозга и межклеточных пространствах, наступающий вследствие нарушения баланса между кровью и тканями. При увеличении объема мозга в ограниченном внутри-

черепном пространстве происходит его сдавливание, вследствие чего нарушается мозговое кровообращение, приводящее к гипоксии и ишемии мозга [3].

Целью настоящей работы явилось исследование образования активных форм кислорода, содержания кардиолипина и цитохромов в митохондриальной фракции головного мозга при развитии ОМ.

Материал и методика. Исследование проводили на беспородных белых крысах обоего пола, массой 170-200 г, содержащихся в условиях вивария.

Токсический отек головного мозга вызывали внутрибрюшинным введением тетраэтилолова в дозе 10 мг на 1кг массы животного. Критерием развития отека мозга служили выраженная гидратация мозговой ткани и показатели микроскопического исследования [6]. О содержании воды судили по сухому остатку ткани мозга после высушивания при 110°C до постоянной массы.

Животные были распределены на 2 группы по 10 в каждой: 1-интактные; 2-животные с воспроизведенным ОМ.

Митохондрии головного мозга выделяли в среде, содержащей 0,25 М сахарозы и 0,01 М трис-НС1 буфера, (рН -7,4), методом дифференциального центрифугирования при 13000 g, после осаждения ядер при 600g [5].

Количество цитохромов рассчитывали по величине поглощения при 605 нм для цитохрома а; при 550 нм для цитохрома с; при 565 нм для цитохрома в и 557 нм для цитохрома в₂ [2].

Об активности ПОЛ судили по количеству образования гидроперекисей (ГП) и малонового диальдегида (МДА). ГП определяли по цветной реакции с тиоцианатом аммония при максимуме поглощения 480 нм [7]. МДА определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой [1]. Количество белка определяли по Лоури [8].

Экстракцию липидов проводили метанол-хлороформенной смесью в соотношении 1:2. Фракционирование кардиолипидов проводили методом одномерной хроматографии в тонком слое силикагеля (фирмы "Мерк", Германия) в системе растворителей хлороформ:метанол:аммиак в соотношении (65:35:5). Минерализацию липидного фосфора кардиолипина осуществляли в среде серной и азотной кислот с последующем расчетом количества неорганического фосфора в мкг сухой ткани [5]. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием t- критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Как показали результаты исследования, изучение процесса перекисного окисления липидов при ОМ позволило обнаружить увеличение содержания ГП и МДА в митохондриальной фракции головного мозга (табл.1).

Таблица 1. Содержание продуктов перекисного окисления липидов в митохондриях головного мозга в норме и при экспериментальном ОМ (n =7)

Показатели	Контроль	Отек мозга-1
Гидроперекиси, Е нмоль/мг белка	0,55± 0,02	0,91±0,03 p< 0,001
МДА, нмоль/мг белка	5,8± 1,2	10,3 ±1,4 p< 0,001

При ОМ, вследствие нарушения доставки кислорода в ткань мозга, понижается концентрация молекулярного кислорода и увеличивается уровень восстановленности компонентов дыхательной цепи, в результате чего стимулируется восстановление кислорода по одноэлектронному пути, приводящему к образованию супероксидного радикала, дающему начало другим активным формам кислорода, таким как синглетный кислород, гидроперекиси. Увеличению содержания перекисей липидов в митохондриальной фракции головного мозга способствует высокое содержание в нем легкоокисляемых субстратов, таких как полиненасыщенные жирные кислоты, а также наличие негеминного железа, являющегося активатором ПОЛ.

В этих условиях митохондриальная цепь переноса электронов становится мощным источником образования активных форм кислорода – нестабильных и крайне реакционноспособных метаболитов. Показано, что двумя основными местами образования свободных радикалов в дыхательной цепи является комплекс 1 (НАДН-коэнзим Q-редуктаза) и комплекс 2 (убихинон цитохром с -редуктаза) [9].

Как показали исследования, при экспериментальном ОМ наблюдается уменьшение содержания цитохромов, и в большей степени это касается цитохрома с (табл.2). По характеру связи с мембранами митохондрий цитохром с существенно отличается от других компонентов цепи переноса электронов. В противоположность остальным цитохромам, находящимся в прочном комплексе со структурным белком митохондрий, цитохром с, локализованный в липидной фазе, сравнительно легко отделяется от структур и свободно переходит в раствор при действии на митохондрии некоторых повреждающих агентов, при этом митохондрии теряют способность к окислительному фосфорилированию.

При активировании свободнорадикального окисления в митохондриях образующиеся свободные радикалы приводят к разобщению окислительного фосфорилирования, снижению мембранного потенциала, набуханию митохондрий, изменению проницаемости митохондриальной мембраны, увеличению ионов Ca^{2+} , что приводит к образованию неспецифической митохондриальной поры и индукции апоптоза [12]. Важная роль в запуске апоптоза принадлежит митохондриям; выход цитохрома с приводит к запуску каскада реакций, катализируемых каспазами [11]. Считается, что одной из причин выхода цитохрома с из внутренней митохондриальной мембраны является пероксидация, приводящая к окислительному повреждению кардиолипидов.

В этой связи нами проведено исследование по определению количества кардиолипидов в митохондриях при ОМ. Как показали исследования, нами обнаружено уменьшение содержания кардиолипидов в митохондриальной фракции головного мозга животных с экспериментальным ОМ (табл.2).

Таблица 2. Изменение содержания цитохромов и кардиолипидов в митохондриях головного мозга в норме и при ОМ (n= 7)

Цитохромы, нмоль/мг белка	Контроль	ОМ
в	0,140 ± 0,006	0,112 ± 0,005**
с	0,182 ± 0,012	0,113 ± 0,011**
с ₁	0,145 ± 0,007	0,100 ± 0,006*
а	0,218 ± 0,009	0,185 ± 0,008***
в ₅	0,183 ± 0,01	0,138 ± 0,009**
Содержание кардиолипидов, мкг/г ткани	198, 54 ± 7,2	133,4 ± 6,3*

Примечание: * – p<0,001; ** – p<0,01; *** – p<0,05

Согласно данным литературы, кардиолипиды принимают участие в связывании отдельных компонентов дыхательной цепи друг с другом, и локализованы они исключительно в энергозапасующих мембранах митохондрий [4]. С кардиолипидами связывают переходы между метаболическими состояниями (1-4 состояние по Чансу). В митохондриях мозга интактных животных кардиолипиды прочно связаны; отщепление кардиолипидов сопровождается торможением активности цитохромоксидазы, нарушением стабилизации и активности сукцинат-дегидрогеназы [10].

Наши исследования показали, что при ОМ имеет место уменьшение содержания кардиолипидов в митохондриальной фракции головного мозга крыс. Нам представляется, что образующиеся свободные радикалы вызывают окислительное повреждение кардиолипидов, в результате чего содержание их в мито-

хондриях уменьшается. В нормальных условиях кардиолипины удерживают цитохром с. При активации свободнорадикального окисления в митохондриях кардиолипины окисляются и освобождают цитохром с. После выхода в цитоплазму он образует комплекс с фактором активации апоптоза (АраF-1), активирующей нижестоящие каспазы, которые осуществляют апоптоз клеток.

Таким образом, очевидно, что развитие патогенеза изученного нами патологического процесса сопровождается молекулярными изменениями мембраны митохондрий, являющихся как непосредственной мишенью повреждающего действия патогенных факторов, так и вовлеченных в патологический процесс в связи с инициацией механизмов повреждения клетки (дефицит энергопродукции, интенсификация процессов свободнорадикального окисления, изменение состава фосфолипидов).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Владимиров Ю.А., Арчаков А.И.* Перекисное окисление в биологических мембранах М., Наука, 252 с., 1972.
2. *Евдотиенко Ю.С., Евдотиенко Ю.С., Монова Е.Н.* Механизмы дыхания, фотосинтеза и фиксации азота, М., Наука, 153 с., 1967.
3. *Квитницкий-Рыжов Ю.Н.* Современное учение об отеке и набухании головного мозга, Киев, Здоровье, 170 с., 1988.
4. *Милейковская Е., Ханг М., Доухан В.* Роль кардиолипина в энергозапасующих мембранах. Биохимия, 70, с.191-196, 2005.
5. Методы биохимических исследований, Л., изд-во Ленинградского университета, 272 с., 1982.
6. *Овсепян Л.М., Захарян Г.В., Карагезян К.Г.* Особенности качественных и количественных изменений гликолипидов в мозговой ткани белых крыс с экспериментальным острым отеком мозга. Нейрохимия, 22, с.195-201, 2005.
7. Современные методы в биохимии, М., изд-во Медицина, 391 с., 1977.
8. *Lowry N.J., Rosenbogh, A.J., Farr et al.* Protein measurement with the folin phenol reagent J.Biol. Chem, vol.153, p.265-275, 1951.
9. *Genova M., Veutura B., Giuliano G. et al.,* The site of production of superoxide radical in mitochondrial Complex 1 is not a bound ubisemiquinone but presumably iron-sulfur cluster 2. FEBS Lett, 505, p.368, 2001.
10. *Pfeiffer K., Gohil V., Stuart R. et al.* Cardiolipin stabilizes respiratory chain supercomplexes. J.Biol. Chem., 278, p.52873-52880, 2003.
11. *Susin S.A., Lorenzo N.K., Samzami N.* Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor. Nature, 397, p.441-446, 1999.
12. *Zoratti M., Szabo J.* Novel channels of the inner mitochondrial membrane. Biochem. Biophys. Acta, 158, p.351-63, 2009.

Поступила 08.06.2010



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 3(62), 2010

ԱՐՑԱԽՅԱՆ ԴԵՂԱԲՈՒՑՍԵՐԻՑ ԿԵՆՍԱԿՏԻՎ «ԴԻԱԲԵՖԻՏ» ՀԱՎԵԼՄԱՆ ԱՌԱՋԱԴՐՄԱՆ ՄԱՍԻՆ

Մ.Ա.ԲԱԲԱՆԱՆՅԱՆ¹, Խ.Հ.ՆԱՀԱՊԵՏՅԱՆ², Լ.Է.ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ¹,
Ռ.Ա.ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ³, Զ.Մ.ՄԱՐԶԵՆԿՈՅ

¹ՀՀ ԳԱԱ Գ.Մ.Դավթյանի անվան հիդրոպոնիկայի պրոբլեմների ինստիտուտ

²ՀՀ ԳԱԱ Լ.Ս.Օրբելու անվան ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտ

³ԼՂՀ Գիտական կենտրոն

Արցախի 21 դեղաբույսերից պատրաստված է փորձնական բուժական «Դիաբեֆիտ» կենսակտիվ յոդացված բուսախառնուրդ, որը ըստ ֆիզիոլոգիական նախնական հետազոտությունների՝ ունի դրական ներգործություն առնետների օրգանիզմի վրա, ինչպես նորմալ, այնպես էլ սթրեսային իրավիճակներում:

«Դիաբեֆիտ» – բուսախառնուրդ – գլյուկոզ – յոդ – սթրես

Изготовлен опытный лечебный физиологически активный йодированный сбор растений под названием «Диабевит», в состав которого входят 21 лекарственное растение Арцаха, который по предварительным физиологическим исследованиям имеет положительное воздействие на организм крыс как в нормальном, так и в стрессовом состоянии.

«Диабевит»- сбор растений- глюкоза- йод- стресс

Experimental medicinal tea called “Diabefit” has been prepared. It contains

21 medicinal herbs from Artsakh which according to preliminary studies have po-sitive influence on the rats’ organism both in normal state and in stress.

“Diabefit”- raw material- glucose- iodine- stress

Միկրոտարր յոդի պարունակության որոշումն Արցախի մի շարք հողատիպերում (լեռնատափաստանային, անտառային, լեռնամարգագետնային և այլն), խմելու և հանքային ջրերում (Ստեփանակերտ, Շուշի, Քոլատակ, Տոմու, Շուխ, Սև լիճ և այլն), խոտաբույսերում (բնական խոտհարքեր՝ երեքնուկ, առվույտ, կորնգան, ոգնախոտ հավաքական, արոտածիլ և այլն), դեղաբույսերում և թեյաբույսերում (անանուխ, խոռն, տատրակ, խամենեիին նեղատերև, սզնի, խնկունի-հազարեվարդ, լերդախոտ, գիվան-գլխենիդան-թափա, եղինջ, ջրկոտեն դեղատու և այլն), պտուղներում (ընկույզ, խաղող, թուզ, սալոր, հոն և այլն), համեմունքային կանաչեղենում, ինչպես նաև մի քանի սննդամթերքում (մեղր, դոշաբ, մրգային լավաշ, ժենգյալով հաց և այլն) ցույց տվեցին, որ Արցախի բոլոր վարչական տարածքները, անկախ աշխարհագրական դիրքից և ծովի մակերևույթի տեղանքի բարձրությունից, տարբեր սրությամբ գտնվում են յոդադեֆիցիտային իրավիճակում (վերոհիշյալի մասին տվյալները հրատարակված են գիտական հոդվածներում, զեկուցվել են սեմինարներում և միջազգային գիտաժողովներում [1-11], ուստի յոդա-դեֆիցիտի դեմ պայքարի և կանխարգելման ծրագրի իրագործումն Արցախում անհրաժեշտություն է:

Առանձնակի հետաքրքրություն են ներկայացնում մի շարք բուսատեսակները, որոնք, կապված իրենց անհատական կենսաբանական առանձնահատկություններից, կուտակում են զգալի քանակությամբ օրգանոմիներալ յոդ: Օրինակ՝ ջրկոտներ՝ 0,24-0,98 մգ/100 գ, կիտրոնային ռեհանը՝ 2,4-2,8 մգ/100 գ, կանաչ ընկույզի թուրմը՝ 6,3-6,7 մգ/100 գ, խոռնը՝ 0,74-1,04 մգ/100 գ, ներմուծված կիտրոնային մանարդանը՝ (*Monarda citriodora* L.) - 35 մգ/100 գ և այլն: Գիտակիրառական հետաքրքրություն է ներկայացնում այն փոխադարձ ազդեցության փաստի գրանցումը, որը դիտվում է վեգետացիոն փորձերում հիդրոպոնիկական ֆիտոտեխնոլոգիայի կիրառմամբ, կամ հողային պայմաններում՝ յոդային սնուցմամբ ստացված բույսերի բուսազանգվածում յոդի և նիտրատների պարունակության միջև: Կադամբի օրինակով պարզված է, որ նիտրատները մոտ 40% պակաս են կուտակվում այն տարբերակներում, որտեղ յոդ միկրոտարրը տրվում է օպտիմալ չափերով: Վերոհիշյալ կապի արձանագրումը հնարավորություն է տալիս նախապես ենթադրելու, որ տվյալ միկրոտարրը ոչ միայն ունի ակտիվ ֆիզիոլոգիական ազդեցություն կենդանական աշխարհի վրա, որպես էնդոկրին համակարգը կարգավորող ուժեղ միջոց, այլև ունի ուղղակի կատալիտիկ ներազդեցություն բուսական օրգանիզմում ընթացող նյութափոխանակության վերջնական արդյունքի վրա: Անկասկած, տվյալ փոխադարձ կապի առկայությունն անհրաժեշտ է հավաստել, ընդլայնելով բուսատեսակների բազմազանությունը և փորձարկումների թվաքանակը: Այնուհանդերձ, փաստն ակնառու է, որի հետագա ուսումնասիրությունը կարող է հանգեցնել բոլորովին նոր ըմբռնումների գիտակիրառական իմաստով, այն է յոդային պարարտացումը դիտելով որպես նիտրատային կուտակումներն արգելակող ֆիտոտեխնոլոգիական միջոց:

Տարածաշրջանում կատարված հիդրոքիմիական հետազոտությունները (2007-2009թթ.) ցույց են տվել, որ յոդի պարունակությունը ջրի մեջ ուղիղ համեմատական կորելացիոն կապի մեջ է ջրի հանքայնացման մակարդակի հետ: Այնուհանդերձ, հետազոտված խմելու ջրերում յոդը հանդես է գալիս միայն հետքերի ձևով, իսկ հանքային ջրերում այն առկա է ոչ բավարար քանակով (0,02-0,12 մգ/լ): Գուցե անհրաժեշտ է հետազոտել խմելու ջրերը յոդով հարստացնելու կամ ջրամբարների ջրակազմում հանքային ջրերի բաղադրակազմը մեծացնելու ուղղությամբ, անշուշտ կատարելով ֆիզիոթերապևտիկ և հիդրոքիմիական բազմակողմանի և տարաբնույթ հետազոտություններ: Խմելու և հանքային ջրերի հիդրոքիմիական վերլուծությունների ընթացքում մենք ակամայից բախվեցինք Արցախի ջրամբարների սանիտարահիգիենիկ վիճակի անթույլատրելիության, հսկողության բացակայության, ջրատար խողովակների տեխնիկական վատթարագույն վիճակի և հատկապես Ստեփանակերտ և Շուշի քաղաքների ջրամատակարարման համակարգի անմխիթար իրադրության հետ: Խնդիրը դարձավ ԼՂՀ կառավարության քննարկման առարկան և Ջրային Պետական Կոմիտեի գործունեության ժամանակացուցված ծրագիրը: Աշխատանքները փուլային լուծումներով ընթացքի մեջ են:

Ելնելով այն իրադրությունից, որ Արցախի էկոլոգիական միջավայրում դրսևորվել է յոդի սուր դեֆիցիտ և այն իր ակնառու բացասական ազդեցությունն է թողնում բնակչության էնդոկրին համակարգի գործունեության վրա, մենք գիտական հետազոտություններին տվեցինք նաև կիրառական ուղղվածություն, հավաքագրելով այն դեղաբույսերը և թեյաբույսերը, որոնք որպես հակադիաբետիկ միջոցներ հայտնի էին ժողովրդական բժշկության մեջ: Կազմվեց 21 դեղաբույսերից բաղկացած բուսախառնուրդ, որը պայմանականորեն անվանվեց «Դիաբեֆիտ»:

Կենսաքիմիական վերլուծությունները ցույց տվեցին, որ տվյալ դեղաբույսերը որպես կենսաբանական առանձնահատկություն ունեն յոդ կուտակելու ընդգծված մենաշնորհ և նիտրատների ցածր պարունակություն:

«Դիաբեֆիտ» բուսակազմն ամբողջությամբ չի հրապարակվում, քանի որ այն ներկայացնում է կոմերցիոն հետաքրքրություն: Այնուհանդերձ, հավաստելի է, որ տվյալ բուսախառնուրդը, ըստ ֆիզիոլոգիապես ակտիվ նյութերի պարունակության, համատեղելի է և տարբեր մասնաբաժիններով օգտագործվել են որպես կենսաբանական հավելումներ միջնադարում և ներկայումս: Որոշակի պատկերացում կազմելու համար բերվում է բուսախառնուրդի բաղադրիչներից մի քանիսի անվանումը՝ *Chamenerion angustifolium* Scop, *Ocimum basilicum* L, *Rosmarinus offic-nallis* L, *Stevia rebaudiana* Bertoni, *Nasturtium officinale* R.Br. և այլն: Բուսախառնուրդի մոտ 33%-ը բաղկացած է հիդրոպոնիկական ֆիտոտեխնոլոգիական ճանապարհով յոդացված դեղաբույսերից, որոնք մշակվել են ԳԱԱ Հիդրոպոնիկայի պորբլեմների ինստիտուտի փորձակայանում (ՀՊԻ): Սկսված է հիշատակված բույսերի արտոնագրման գործընթացը, որպես յոդադեֆիցիտի դեմ պայքարի դիաբետիկ նշանակության բուսական ծագում ունեցող կենսաբանական հավելումներ (օրինակ՝ Արտոնագիր № 2212 A՝

օրգանիզմում յոդի բալանսի կարգավորման եղանակ կիտրոնային ռեհանի միջոցով օրական 1 անգամ 1 գ քանակությամբ օդաչոր հաբի միջոցով): Այս գործընթացին հաջորդում է «Դիաբեֆիտ» արտոնագրումն ամբողջությամբ և բաղադրիչներով: Ֆիզիոլոգիական փորձարկումները կատարվում են ՀՀ ԳԱԱ Ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտում:

Հաշվի առնելով դիաբետի նկատմամբ կանխարգելիչ կենսահավելումների ներդրման անհրաժեշտությունն և յոդոդեֆիցիտի դեմ պայքարի բնական միջոցների հնարավորությունները, մենք փորձել ենք միավորել երկու կենսաառեւարմանը՝ յոդի օրգանոմիներալ միացությունների հազեցված պարունակության և արյան մեջ գլյուկոզի պարունակությունն իջեցնող բնական ակտիվ նյութեր:

Նյութ և մեթոդ: Կենսաքիմիական և բուսաբանական հետազոտությունները կատարված են «ՆԱՐԵԿ» գիտահետազոտական ՓԲԸ ֆիզիկա-քիմիական և միկրոկենսաբանական հետազոտությունների լաբորատորիայում: Յոդի պարունակությունն որոշվել է ՀՀ ԳԱԱ Երկրաբանական գիտությունների ինստիտուտի հիդրոքիմիայի լաբորատորիայում, ըստ տեղում մշակված մեթոդի:

Ֆիզիոլոգիական հետազոտությունները (կենդանիների պահպանում և համապատասխան վերլուծություն՝ գլյուկոզի պարունակությունն արյան մեջ), կատարվել է ՀՀ ԳԱԱ Ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտում:

Դաշտային և վեգետացիոն փորձերը, ինչպես նաև հողի, բուսական, սննդամթերքի և ջրի նմուշները ներկայացվել են Արցախի տարածքից և ՀՊԽ փորձակայանից՝ հողային և հիդրոպոնիկական տարբերակներից: Աշխատանքներին մասնակից են եղել նաև Արցախի գիտական կենտրոնի աշխատակիցները:

Քանի որ վերոհիշյալ հողվածի համահեղինակների կողմից տպագրված բազմաթիվ հոդվածներում առկա են մանրամասն հղումներ մեթոդական իմաստով [1-11], ուստի այն չի մանրամասնվում:

Արդյունքներ և քննարկում: Աղ.1-ում բերված են «Դիաբեֆիտ» բուսախառ-նուրդի մասնակի կենսաքիմիական բաղադրությունը, որն ունի յոդի և վիտամինների բարձր պարունակություն:

Աղ. 2-ում ներկայացվում է ԳԱԱ ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտում կատարված փորձարկումների ընդհանրական ամփոփումը:

Աղյուսակ 1. «Դիաբեֆիտ» թեյախառնուրդի կենսաքիմիական բաղադրությունը

Բուսանմուշ	Ցուդ	β-կարոտին	Վիտա- մին C	Սպիտակուց	Ջրալուծ. ածխաջրած. գլյուկոզ	Թաղան- թանյութ	Սոխիր	K	Ca	Mg	P	S	Fe
	չոր նյութի մեջ, մգ/100գ				չոր նյութի մեջ, %								
Թեյախա- նուրդ (արցախյան ձագում ունեցող և յոդացված դեղաբույ- սերից	0,36 - 0,50	20.4 - 21.8	66.2 - 92.5	5.8 - 7.6	6.7 - 7.2	8.7 - 9.9	15.7 - 18.7	4.8 - 5.5	2.3 - 2.5	0.7	0.8	0.2	0.07

Փորձերի կատարման տրամաբանությունը կայացել է հետևյալում՝ փորձից 10 օր առաջ կենդանիների խմբերը (10-ական առնետ) բերվել են կեցության միատեսակ գործնականորեն համահավասար պայմանների, որից հետո չափվել է նրանց ֆիզիոլոգիական ցուցանիշները (քաշը, ջերմային ցուցանիշները, սրտի աշխատանքը, արյան մեջ գլյուկոզի պարունակությունը և այլն): Այնուհետև, կատարվել են ֆիզիոլոգիական դիտարկումներ, 10-օրյա կտրվածքով, ստուգիչ և ձայնային սթրեսի ներգործության պայմաններում:

Նախնական հետազոտությունները ցույց են տվել, որ «Դիաբեֆիտ» ստացած կենդանիների արյան մեջ համեմատաբար ցածր է գլյուկոզի պարունակությունը և նրանք համեմատաբար հեշտությամբ են տանում սթրեսային ազդակները: Այն փոխվում է սարքի սխալի 0,1-1,4 մմ/լ և փորձարկումների տրամաբանության սահմաններում, իսկ ստուգիչ տարբերակում արձանագրվում է խիստ անկում, անգամ լետալ արդյունք: Այլ խոսքով, բուսախառնուրդը չստացած կենդանիների մոտ բացասական ազդեցությունն ակնառու է, որի հետևանքով և

տեղի է ունեցել կենդանու օրգանիզմում իմունային համակարգի անկում և ֆունկցիոնալ խանգարումների կտրուկ դրսևորում:

Աղյուսակ 2. Արցախյան թեյախառնուրդի ազդեցությունը կենդանիների արյան գլյուկոզի պարունակության վրա, մմոլ/լ, (ըստ ACCU-CHEK Active գործիքի, 2009թ.)

№	Փորձարկման ժամկետները	Ջուր (ստուգիչ)		,Դիաբեթիտե	
		ստուգիչ	սթրեսից հետո	ստուգիչ	սթրեսից հետո
1.	26.X.09 (10 օր նախապատ- րաստումից հետո)	6,1 - 6,2	6,9 - լետալ	6,1 - 6,5	6,5 - 6,7
2.	05.XI.09 (10 օր թուրմը ստա- նալուց հետո)	5,4 - 5,3	2,2 - 3,1	4,5 - 6,1	4,7 - 4,9
3.	25.XI.09 (20 օր թուրմը ստա- նալուց հետո)	5,4 - 5,6	3,1 - 3,3	3,4 - 3,3	4,5 - 4,7

Այսպիսով, համաձայն ստացված տվյալների, կարելի է կատարել նախնական ենթադրություններ, որ «Դիաբեթիտե» բուսախառնուրդն ունի արտահայտված հակաաթրեսային ազդեցություն և իջեցնում է գլյուկոզի պարունակությունն արյան մեջ: Այդ ներգործության վրա դրական ազդեցություն է ունենում նաև բուսակազմի յոդային բարձր պարունակությունը, կապված բույսերի անհատական առանձնա-
հատկությունների, տեղանքի և կիրառված ֆիտոտեխնոլոգիայի հետ:

,Դիաբեթիտե ֆիզիոլոգիական նշանակությունը դրսևորող հետազոտու-
թյուններն անհրաժեշտ է ընդլայնել ստացված արդյունքների առավել ընդգրկուն ֆիզիոլոգիական բնութագրման ուղղությամբ, ներառելով նաև սթրեսային այլ ազ-
դակների ներգործության տարբերակներ (ճառագայթում, թրթռում և այլ):

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Մ.Ա.Բաբախանյան, Լ.Է.Հովհաննիսյան, Զ.Մ.Մարշենկո ,Յոդի անբավա-
րարության հիմնախնդիրը ԼՂՀ-ում և նրա հնարավոր համալրումը ավան-
դական ու ժամանակակից միջոցներով, ՀՀ գյուղ. նախ., Ագրոգիտություն,
Երևան, N 5-6, էջ 207-211, 2008:
2. Գյուտի (օգտակար մոդելի) հայտ AM200080139 ,Արցախյան կիտրոնային
ռեհանը, օրգանիզմում յոդի բալանսի կարգավորման համար. *Խ.Նահա-
պետյան, Մ.Բաբախանյան, Լ.Մատինյան, Լ.Հովհաննիսյան* 22.10.08, ՀՀ մտա-
վոր սեփականության գործակալություն:
3. Մ.Ա.Բաբախանյան, Լ.Է.Հովհաննիսյան, Զ.Մ.Մարշենկո ,Հիդրոպոնիկայի
հնարավորությունները յոդադեֆիցիտի կանխարգելման բնագավառում, ՀՀ
գյուղ. նախ. հողագիտության և ագրոքիմիայի գիտ.կենտրոն: Միջազգային
համաժողով, Երևան, էջ 12-17, 2008:
4. Մ.Ա. Բաբախանյան, Լ.Է. Հովհաննիսյան- 21-րդ դարի մարտահրավերները և
հիդրոպոնիկայի հնարավորությունները: Գ.Ս.Դավթյանի ծննդյան 100-
ամյակին նվիրված ,Բույսերի անհող մշակույթի ժամանակակից հիմնա-
խնդիրները 5-րդ միջազգային գիտաժողով, 9-11 սեպտեմբերի, Երևան, ՀՊԻ
Հաղորդումներ, N31, էջ 62-69, 2009:
5. Մ.Ա. Բաբախանյան, Լ.Է. Հովհաննիսյան Յոդադեֆիցիտի կանխարգելումը
սննդամթերքի միջոցով: Գ.Ս.Դավթյանի ծննդյան 100-ամյակին նվիրված
,Բույսերի անհող մշակույթի ժամանակակից հիմնախնդիրները 5-րդ
միջազգային գիտաժողով, 9-11սեպտեմբերի, Երևան, ՀՊԻ Հաղորդումներ,
N32, էջ.70-76, 2009:
6. Бабаханян, З.И. Марченко, Л.А. Матинян, Х.О. Нагапетян, Л.Э. Оганесян,
Т.К. Киприян, Х.С.Майрапетян. Биотехнология получения йодированного
мёда и его физиологическое значение. Вестник МАНЭБ, Санкт-Петербург,
12, 4, с 67-71, 2007.

7. *М.А.Бабаханян, Л.А.Матинян, Л.Э.Оганесян, З.И.Марченко, Х.О.Нагапетян, Т.К. Киприян, Х.С.Майрапетян.* Фитотехнология гидропонического произ-водства зелёного витаминного йодированного корма и его физиологическое значение. Вестник МАНЭБ, Санкт-Петербург, 12, N4, 2 с 65-67, 2007.
8. *М.А. Бабаханян, Л.Э. Оганесян, Х.С. Майрапетян, З.И. Марченко.* Йододефицит и возможности гидропонной фитотехнологии. Тезисы докладов международного симпозиума “Проблемы биохимии, молекулярной биологии и генетики”, посвященной 100-летию со дня рождения академика Н.М. Сисакяна. Ереван, с 51, 2007.
9. *М.А. Бабаханян, Л.Э.Оганесян.* Проблемы йододефицита и возможности био-технологии. Сообщения ИПГ, 31, с.55-64, 2007.
10. *Бабаханян М.А., Оганесян Л.Э., Марченко З.И.* Йододефицит в Нагорно-Карабахской республике и возможности его компенсации. Материалы международной конференции. Актуальные проблемы ботаники в Армении. Институт ботаники НАН РА, Ереван, с. 255-258, 2008.
11. *Бабаханян М.А., Оганесян Л.Э., Нагапетян Х.О., Матинян Л.А.* “Физиологическое значение йодированного зеленого витаминного корма”. “Известия” Гос.аграрного университета Армении. Международная научная конференция, Ереван, 4, с. 33-35, 2008.

Ստացվել է 09.03.2010.



Биол. журн. Армении, 3 (62), 2010

К ВИДОВОМУ СОСТАВУ ГЕЛЬМИНТОВ РЫБ ОЗЕРА СЕВАН

Р.Л. ОГАНЕСЯН

Институт зоологии НАН РА

Изучали видовой состав гельминтов рыб оз. Севан. Обследовано 214 рыб 4-х видов. Зарегистрировано 5 видов гельминтов. Гельминты обнаружены в полости тела, кишечнике, сердце и хрусталике глаз рыб. Общая инвазированность исследуемого материала составляет 40%. Установлены экстенсивность и интенсивность инвазии рыб гельминтами.

Гельминтофауна рыб – видовой состав – оз. Севан – инвазированность рыб

Ուսումնասիրվել է Սևանա լճի ձկների հելմինթների տեսակային կազմը: Հետազոտվել է 4 տեսակ ձկների 214 նմուշ: Հելմինթների 5 տեսակ է հայտնաբերվել՝ ձկների մարմնի խոռոչում, աղիներում, սրտում և աչքի ոսպնյակում: Վարակված է ձկների 40%-ը: Բացահայտվել են ձկների վարակվածության էքստենսիվությունը և ինտենսիվությունը:

*Ձկների հելմինթֆաունա (տեսակային կազմ) (Սևանա լիճ)
ձկների վարակվածություն*

Research of the species composition of fish helminthes from high-mountain Lake Sevan has been conducted. 214 samples of 4 fish species have been investigated. 5 species of the helminthes were registered. The helminthes were found out in the abdomen, intestine, heart and crystalline lenses. 40% of fish were infested. Extensiveness and intensity of invasion by helminthes have been revealed.

*The fish helminthofauna - the species composition –
Sevan Lake - fish invasion*

Оз. Севан – крупнейший пресноводный водоем Кавказского региона, одно из высокогорных олиготрофных озер, лежащее на высоте 1898 м над ур. м. в горно-степном ландшафте Армении.

Первые комплексные исследования фауны оз. Севан относятся ко 2-й половине 19 в.

Гельминтологический материал из оз. Севан впервые был собран в 1915 г. Плотниковым, исследован Холодковским. Им был описан новый вид цестоды *Khawia armeniaca* Cholodkovski, 1915 у севанской храмули.

Дальнейшие сведения о паразитофауне рыб оз. Севан связаны с 10-й Союзной гельминтологической экспедицией под руководством Скрыбина в 1923 г. В 1932 г. Динником был исследован материал экспедиции, а также фиксированные экземпляры севанских сигов. Им было установлено 9 видов гельминтов от 4-х видов рыб (форель, сиг, храмуля, усач): *Trematoda* - *Allocreadium isoporum* Looss, 1984; *Cestoda* - *Caryophyllaeus armeniacus* Cholod., 1915, *Ligula intestinalis* Linne, 1758, *Ichthyotaenia neglectus* la Rue, 1911, *Ichthyotaenia* sp.; *Nematoda* – *Rhabdochona fortunatowi* sp.; *Acanthocephala* - *Neoechinorhynchus* sp., *Echinorhynchus sevani* sp., *Pomphorhynchus laevis* Muller, 1776.

Данные по паразитофауне акклиматизированного в оз. Севан сига приводятся в работах Павловой: у сига-лудогги обнаружено 4, а у чудского сига – 5 видов гельминтов [11]. У форели и храмули оз. Севан Платоновой выявлено 10 видов гельминтов, т.е. еще 1 вид, помимо указанных Динником, - нематода *Contracoecum squalii* Linstow, 1907 [12].

С 1968 г. изучение паразитофауны рыб оз. Севан проводилось сотрудниками каф. зоологии ЕГУ [2, 5, 6]. Григорян выявила, что большая часть паразитов форели перешла к акклиматизированному сигу, а скребень *E. baeri* - к карповым рыбам. Автор отмечает, что из-за падения уровня озера изменились состав кормовой базы и спектр питания рыб [5]. Общим паразитом для прудовых хозяйств и естественных водоемов является представитель класса моногеней *Dactylogyrus extensus*. Были выявлены также следующие виды моногеней: *Dactylogyrus cornu* (Linstow, 1878) - у армянской густеры, *D. sphyrna* (Linstow, 1878) - у густеры и плотвы, *D. yamansaensis* (Osmanov, 1958) - у карпа [6]. Вартанян изучала паразитофауну рыб оз. Севан и некоторых водоемов и водотоков Армении. Автором отмечается 21 вид гельминтов рыб, 5 из них - впервые для фауны Армении. Была прослежена динамика зараженности рыб оз. Севан за 20 лет (1970 -1989гг.) [2].

В 1996-97 гг. нами проводилось исследование гельминтофауны рыб оз. Севан. Исследовано 310 экз. рыб. Обнаружено 4 вида гельминтов. У карасей и храмуль были обнаружены метацеркарии диплостом. ЭИ у карасей составляла 90%, у храмуль – 87% , ИИ доходила до 40 экз. В полости тела храмуль были обнаружены цестоды *Ligula intestinalis* и единичные экз. скребня *E. baeri* [8].

В 2002 г. у севанского сига впервые зарегистрированы цисты *Diphyllbothrium dendriticum* Nitzsch, 1824 [13]. По мнению авторов, в оз. Севан происходит образование природного очага *D. dendriticum*.

В 2007 г. российскими паразитологами проводилось исследование паразитофауны рыб оз. Севан. Было исследовано 46 экз. рыб. Обнаружено 10 видов паразитов, 1 из которых впервые зарегистрирован у храмули - рачок *Tracheliastes polycolpus* Nordmann, 1832 [3].

Целью исследований было выявление видового состава гельминтов рыб оз. Севан на данном этапе при резкой активизации и влиянии биотических и абиотических факторов на биоразнообразие водоема.

Материал и методика. Исследования проводили на оз. Севан в 2008 г. Всего было обследовано 214 экз. рыб 4-х видов сем. *Cyprinidae* и *Salmonidae*. Методом полных гельминтологических вскрытий по И.Е. Быховской-Павловской, 1985 исследовано 12 экз. сига - *Coregonus lavaretus* (L.), 77 экз. севанской храмули - *Varicorhinus capoeta sevangi* (Fipri), 25 экз. серебряного карася - *Carassius auratus gibelio* (Bloch) и 8 экз. севанского усача - *Barbus goktschaicus* Kessler. Методом неполных вскрытий исследовано 92 экз. сига.

Сбор и камеральную обработку гельминтов проводили по общепринятым методикам. Извлечение личинок трематод, обнаруженных в хрусталиках глаз, производили механически. Их без фиксации в спирте окрашивали уксуснокислым кармином и просветляли в гвоздичном масле, затем заключали в канадский бальзам. Определение вида личинок диплостом проводили по таблице Шигина [14]. Для этого под микроскопом с окуляр-микрометром измеряли длину и ширину личинки, ротовой и брюшной присосок, органа Брандеса и др. Цестод фиксировали в 70°-м спирте, нематод - в жидкости Барбагалло. Определение гельминтов проводили по Определителю паразитов пресноводных рыб фауны СССР [9,10].

Результаты и обсуждение. Обнаружено 5 видов гельминтов: *Trematoda* - *Diplostomum spathaceum* (Rudolphi, 1819), *D. paracaudum* Iles, 1959, *Ichthyocotylurus - erraticus* (Rudolphi, 1809); *Cestoda* - *Ligula intestinalis* Linne, 1758; *Nematoda* - *Rhabdochona fortunatowi* Dinnik, 1933.

Гельминтами инвазировано 86 экз. рыб, или 40 %. Гельминты обнаружены в полости тела, кишечнике, сердце и хрусталиках глаз.

Выявлены экстенсивность и интенсивность инвазии гельминтами (табл.1).

Таблица 1. Инвазированность рыб оз. Севан гельминтами

Класс, вид гельминта	Хозяин	Локализация	ЭИ, %	ИИ ср.,экз.
<u>Trematoda</u>				
<i>Diplostomum spathaceum</i> , <i>D. paracaudum</i>	храмуля	хрусталик глаза	41,6	2
<i>D.spathaceum</i> , <i>D. paracaudum</i>	сиг	«-»	25,0	2
<i>D.spathaceum</i> , <i>D. paracaudum</i>	карась	«-»	64,0	2
<i>D.spathaceum</i>	усач	«-»	6 из 8	3
<i>Ichthyocotylurus erraticus</i>	сиг	сердце	16,7	2
Cestoda <i>Ligula intestinalis</i>	карась	полость тела	20,0	2
<u>Nematoda</u>				
<i>Rhabdochona fortunatowi</i>	храмуля	кишечник	11,7	2

У севанской храмули обнаружено 3 вида гельминтов: *Diplostomum spathaceum*, *D. paracaudum* и *Rhabdochona fortunatowi*.

В хрусталиках глаз обнаружены метацеркарии *Diplostomum spathaceum* и *D. paracaudum*. Экстенсивность инвазии метацеркариями составляет 41,6 %, ИИ ср.- 2 экз.

В кишечнике храмуль обнаружены нематоды *Rhabdochona fortunatowi*. ЭИ =11,7 %, ИИ ср.- 2 экз.

У севанского сига обнаружено 3 вида гельминтов: *Diplostomum spathaceum*, *D. paracaudum* и *Ichthyocotylurus erraticus*.

Экстенсивность инвазии метацеркариями диплостом, обнаруженными в хрусталиках глаз, составляет 25 %, ИИ ср. - 2 экз.

На сердце обнаружены цисты трематод *Ichthyocotylurus erraticus*, ЭИ = 16,7%, ИИ ср. - 2 экз.

У серебряного карася обнаружено 3 вида гельминтов: 2 вида трематод и 1-цестод. В хрусталике глаза обнаружены метацеркарии *Diplostomum spathaceum* и *D. paracaudum*. ЭИ = 64 %, ИИ ср. - 2 экз.

В полости тела карасей обнаружены плероцеркоиды цестоды *Ligula intestinalis*. ЭИ = 20% , ИИ ср.- 2 экз.

У севанского усача обнаружен 1 вид – *Diplostomum spathaceum*. Метацеркарии в хрусталике глаза обнаружены у 6 экз., ИИ ср. - 3 экз.

Итак, судя по результатам вскрытий, самые распространенные гельминты рыб оз. Севан – метацеркарии диплостом, промежуточными хозяевами которых являются моллюски, а дефинитивными – рыбоядные птицы. Метацеркарии обнаружены в хрусталике глаза всех видов обследованных рыб. Однако количественные показатели инвазированности рыб в последние годы по сравнению с исследованиями 1970-90-х гг. [2, 5, 6, 8] резко снизились. Это может быть результатом сокращения количества моллюсков [1] и рыбоядных птиц в озере.

Необходимо отметить, что у карася, привнесенного в оз. Севан в 1983г., в 1980-90-е гг. были обнаружены лишь метацеркарии диплостом в хрусталиках глаз [2, 5, 8]. Однако в исследованиях 2007-2008 гг. у него, кроме метацеркарий диплостом, нами были обнаружены плероцеркоиды ремнеца *Ligula intestinalis* в полости тела. Лигула на оз. Севан ранее была отмечена лишь у храмули и усача [2, 5, 7, 8, 12]. Следовательно, данный вид цестод перешел и приспособился к новому хозяину. Карась как хозяин *Ligula intestinalis* отмечается нами впервые для фауны Армении.

Как видно, наиболее распространены биогельминты, жизненный цикл которых связан с рыбающими птицами; наличие последних создает благоприятные условия для их развития.

Таким образом, гельминтофауна рыб оз. Севан изменилась.

За последние десятилетия в оз. Севан произошли широкомасштабные антропогенные преобразования: строительство гидротехнических сооружений, намеренная и случайная интродукция рыб, бесконтрольный промысел, браконьерство, загрязнение водоема сточными водами и т.д. Нерациональное использование водных ресурсов озера привело к понижению его уровня более чем на 20 м. Эти явления повлекли за собой негативные перемены в экосистеме озера. Оно подверглось эвтрофированию. В биоразнообразии озера произошли большие перемены. За 25 лет плотность рыбы упала в 20 раз [4]. В озере обитало множество видов беспозвоночных, имеющих большую кормовую ценность для рыб, в то же время являющихся промежуточными хозяевами гельминтов. За последнее время биомасса зообентоса озера уменьшилась [1]. В береговой части озера, вследствие осушения около 10000 га болотистых зон, из 200 видов эндемичных и мигрирующих птиц сейчас обитает только 82 вида. Изменения экосистемы озера привели к исчезновению некоторых видов паразитов, сокращению численности других, а также к смене хозяев.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акопян С.А., Щербина Г.Х., Даллакян М.Р. Современное состояние структуры макрозообентоса оз. Севан. Мат.-лы Межд. конф. «Озерные экосистемы: биологические процессы, антропогенная трансформация», Минск-Нарочь, с.195-196, 2007.
2. Вартамян Л.К. Паразитофауна рыб озера Севан и некоторых других водоемов и водотоков Армении. Автореф. канд. дисс., Ереван, 22 с., 1993.
3. Воропаева Е.Л., Толстенков О.О. К изучению паразитофауны рыб оз. Севан. Мат. IV Всеросс. Съезда ПО РАН, Санкт-Петербург, 1, с. 138-141, 2008.
4. Габриелян Б.К. Икhtiофауна озера Севан в различные периоды понижения его уровня. Автореф. докт. дисс., Ереван, 33 с., 2006.
5. Григорян Дж. А. Изменение паразитофауны рыб озера Севан в разные годы (до и после спуска озера). Биолог. журн. Армении., 33, 3, с. 300-306, 1980.
6. Григорян Дж. А. К изучению фауны дактилогирисов водоемов Армении. Биолог. журн. Армении, 38, 6, с.541-545, 1985.
7. Динник Ю.А. Паразитические черви рыб оз. Севан. Тр. Севанской озерной станции, 4, 1-2, с. 105-132, Ереван, 1933.
8. Оганесян Р.Л. О гельминтофауне карповых рыб оз. Севан. Тез. докл. респ. научн. конф. по зоологии, Ереван, с. 87-88, 1998.
9. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР, 2. Паразитические многоклеточные (Первая часть). Л., Наука, 425с., 1985.
10. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР, 3. Паразитические многоклеточные (Вторая часть). Л., Наука, 583с., 1987.
11. Павлова И. А. Паразиты сигов, акклиматизированных в оз. Севан. Известия ВНИОРХ, вып. 42, с.150-165, 1957.
12. Платонова Т. А. Паразитофауна севанских рыб. Паразитол. сборник, Л., 21, с.65-68, 1963.
13. Рубенян Т.Г., Протасова Е.Н. Первая регистрация плероцеркоидов *Diphyllbothrium dendriticum* (Diphyllbothriidae, Cestoda) у севанского сига, *Coregonus lavaretus* (Coregonidae). Зоологический журнал, 86, 3, с. 377-378, 2007.
14. Шугин А.А. Трематоды фауны СССР. Род *Diplostomum*. Метацицеркарии. М., Наука, 1986.

Поступила 10.04.2009.



Биол. журн. Армении, 3 (62), 2010

АЗОТИСТЫЙ ПРОФИЛЬ МЕСТНЫХ И КРОССБРЕДНЫХ КОЗ В ПРЕДГОРНЫХ УСЛОВИЯХ АРМЕНИИ

Г.Ю. МАРМАРЯН

Государственный аграрный университет Армении, кафедра биохимии,
E-mail: marmaryan_g@yahoo.com

Проведена сравнительная оценка биохимических показателей крови местных коз и помесей первого и второго поколений от годовалого до четырехлетнего возраста. Из биохимических тестов, характеризующих интенсивность азотистого обмена, были выбраны глютамин и ферменты АДА, АСТ и АЛТ. Выявлена разница в уровне глютамина у 2-летних местных и помесных коз, которая к 4-летнему возрасту выравнивается. Резкие колебания активности АДА у местных и помесей F1, скорее всего, связаны с колебаниями иммунного статуса и интенсивностью обмена нуклеиновых кислот.

Коза - глютамин - АДА - АЛТ – АСТ

Կատարվել է տեղական, առաջին և երկրորդ սերունդների խառնածին այծերի մեկից չորս տարեկան հասակում արյան կենսաքիմիական ցուցանիշների համեմատական գնահատում: Ազոտային փոխանակության ինտենսիվությունը բնորոշող կենսաքիմիական թեստերից ընտրվել են գլյուտամինը և ԱԴԱ, ԱԼՏ, ԱՍՏ ֆերմենտները: 2 տարեկան տեղական խառնածին այծերի մոտ հայտնաբերվել է գլյուտամինի քանակի զգալի փոփոխություն, որն արդեն 4 տարեկան հասակում հավասարվում է: Տեղական և F1 սերնդի այծերի մոտ ԱԴԱ-ի կտրուկ տատանումները, հավանաբար, կապված են իմունային համակարգի և նուկլեինաթթուների փոխանակության ինտենսիվության հետ:

Այծ - գլյուտամին - ԱԴԱ - ԱԼՏ (ԱՍՏ)

A comparative assessment of biochemical indices in the blood of local breeds, crossbreeds of first and second generation of goats of one up to four years old has been carried out. We have chosen the following biochemical tests characterizing the intensity of nitrogen metabolism: the glutamine and the activity of ADA, ALT, AST enzymes. The difference has been found out in the glutamine level of local and crossbreeds of two years old which levels at the age of four. The abrupt fluctuations of ADA activity in the blood of local and F1 crossbreeds, are possibly connected with the immune system fluctuations and the intensity of nucleic acid metabolism.

Goat - glutamine - ADA -ALT – AST

Козье молоко имеет высокую питательную ценность и широко используется в детском питании, а также в приготовлении высококачественных сыров. Для сельского хозяйства республики с низкой молочной продуктивностью местных коз актуальным является селекционная работа по совершенствованию их в этом направлении. В связи с этим с 2000 года проводится интенсивное скрещивание местных коз с завезенными из США высокопродуктивными альпийской, тогенбург-

ской, зааненской и нубийской породами. Результаты скрещивания показывают, что если молочная продуктивность местных коз в среднем составляет 150 л, то уже у помесей первого (F1) и второго (F2) поколений она повышается от 200 до 400 л в год.

Поскольку продуктивность является результатом сложного взаимодействия генотипа с окружающей средой и определенным образом зависит от обменных процессов организма, то перед нами стояла задача провести сравнительную оценку некоторых биохимических показателей крови местных коз и помесей первого и второго поколений. Из биохимических показателей крови, характеризующих интенсивность азотистого обмена, были выбраны глутамин и ферменты азотистого обмена аденозиндезаминаза (АДА), аланинтрансминаза (АЛТ) и аспартаттрансминаза (АСТ).

АДА катализирует необратимое дезаминирование аденозина с образованием инозина и аммиака. У коз обнаружены три изоформы АДА, активность которых сравнима с таковой человека [13]. Аденозин в организме выполняет роль медиатора ряда физиологических процессов, регулирует функциональную активность клеток, различных жизненно важных систем, в частности гемо- и иммунорезиса, действует как локальный регуляторный фактор, паракринный нейроэффектор наподобие простагландинов [10].

Процесс дезаминирования аденозина имеет важное значение с точки зрения реутилизации образовавшихся при катаболизме нуклеиновых кислот, оснований для ресинтеза нуклеотидов и нуклеиновых кислот, усвоения поступающих извне в клетки азотистых оснований [7, 9].

АДА присутствует во всех форменных элементах крови, с максимальной активностью в лимфоцитах. Фермент локализован в цитоплазме клетки, но обнаружен также в мембранах субклеточных фракций [4].

Биосинтез глутамина обеспечивает нейтрализацию цитотоксического аммиака в клетках, а глутамин, будучи нетоксичным, удаляется из клетки и кровью транспортируется в печень и почки, где под влиянием глутаминаз вновь превращается в глутамат и аммиак [8, 17]. То есть, глутамин обладает аммиак-обезвреживающей и транспортирующей функцией. Однако роль глутамина в метаболических процессах многогранна, он участвует в ключевых звеньях процессов пролиферации и дифференциации иммунных клеток, в синтезе пуринов, нуклеозидов и нуклеотидов. Уровень утилизации глутамина важен для функций лимфоцитов, макрофагов и нейтрофилов, которые отвечают за иммунный статус организма [6, 11, 12].

Активность ферментов трансаминирования является интегральным показателем интенсивности азотистого обмена, перераспределения азота, синтеза заменимых аминокислот и белков.

Материал и методика. Исследуемые козы разводятся на ферме “Арид” Вайоцзорского марза (Ехегнадзорского района РА). Подопытные животные подразделены на 3 группы: местные, помеси F1 и помеси F2. Исследуемые козы 1, 2, 3 и 4-годовалые. Животные в количестве 64 самок находились в аналогичных условиях кормления и содержания. Кровь для исследования брали из *v. carotis*, получали сыворотку и перевозили в охлажденном контейнере в лабораторию в течение двух часов. В сыворотке крови активность АДА определяли по аммиаку при помощи фенолгипохлоритного реактива по методу Чейни и Марбаха [5]. Активность трансаминаз АСТ и АЛТ – модифицированными спектрофотометрическими методами Шино и Сегала [14, 16]. Амидный азот глутамина определяли микродиффузионным методом [15] в модификации Силаковой и др. [3]. По амидному азоту рассчитывали количество глутамина.

Полученные результаты обрабатывали по методу Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Из табл. 1 видно, что уровень глутамина в сыворотке крови местных и помесных коз F1 и F2 годовалого возраста соответствует норме и составляет 0,55-0,65 ммоль/л. Значительная разница показателя отмечается лишь у 2-летних местных и помесных коз F1 и F2–0,38, 0,62 и 0,70 ммоль/л соответственно. У помесных коз F2 на 3-й год отмечается более низкий (0,54 ммоль/л) уровень глутамина, чем у местных и F1 помесей (0,90 ммоль/л). На 4-й год показатели глутамина выравниваются.

У местных коз второго года жизни все исследованные показатели достоверно ниже как внутри группы, так и в сравнении с их ровесниками F1 и F2 помесей. В частности, не обнаруживается активность АЛТ и констатируется чрезвычайно низкая активность АДА.

Местные козы первого года жизни отличаются высокой активностью АДА, которая резко падает на второй год, а затем несколько повышается на 3-й и 4-й год жизни, оставаясь, однако, на порядок ниже, чем в первый год жизни.

Таблица 1. Уровень глутамина и активность ферментов в сыворотке крови местных и помесных коз.

Породность и возраст, год	Глутамин, ммоль/л	АДА, мкмоль/мин/л	АЛТ, ед/мл	АСТ, ед/мл
Местная				
1	0,55 ± 0,02	4,22 ± 0,43	17,8 ± 1,8	35,9 ± 4,7
2	0,38 ± 0,04	4,3 ± 0,3	следы	32,8 ± 1,27
3	0,92 ± 0,06	6,6 ± 1,0	14,4 ± 1,6	36,9 ± 1,96
4	0,75 ± 0,06	13,6 ± 2,0	36,7 ± 3,2	29,2 ± 2,7
Помеси F1				
1	0,55 ± 0,05	4,3 ± 0,3	4,73 ± 0,53	26,2 ± 1,27
2	0,62 ± 0,05	13,6 ± 0,07	37,1 ± 1,5	50,3 ± 6,5
3	0,90 ± 0,1	6,05 ± 0,7	28,1 ± 6,0	17,2 ± 2,0
4	0,75 ± 0,04	3,61 ± 1,06	58,2 ± 3,2	70,7 ± 0,8
Помеси F2				
1	0,65 ± 0,05	4,18 ± 1,17	59,5 ± 2,7	65,5 ± 3,05
2	0,70 ± 0,04	4,46 ± 0,66	61,7 ± 1,5	66,5 ± 4,5
3	0,54 ± 0,025	4,62 ± 0,7	15,5 ± 3,1	77,0 ± 3,4
4	0,63 ± 0,014	4,48 ± 0,61	13,5 ± 2,2	78,9 ± 1,2

Помеси F1, напротив, отличаются низкой активностью в первый год жизни, затем активность возрастает, достигая максимума на 3-й год, вновь снижаясь у 4-летних коз. Помеси F2 всех возрастных категорий отличаются высокой активностью АДА и АСТ. Активность трансаминаз, особенно АЛТ, варьирует в широких пределах, но без видимых закономерностей, что свидетельствует, скорее всего, о множественности влияющих на них факторов.

Михайленко, изучая активность АЛТ и АСТ в крови у 4- и 8-месячных овец, констатирует тенденцию понижения активности ферментов с возрастом в 1.9 и 1.4 раз соответственно [2].

Афанасьева при выявлении уровня взаимосвязи показателей метаболизма с продуктивными качествами овец отмечает превосходство активности трансаминаз (АЛТ, АСТ) во все изучаемые ею возрастные периоды (1, 2, 4, 8 и 12-месячные) у животных с высокой энергией роста по сравнению с медленнорастущими [1].

Что касается резких колебаний активности АДА у местных и помесных F1 коз, то они, скорее всего, связаны с колебаниями иммунного статуса и приспособлением к ним интенсивности обмена нуклеиновых кислот.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Афанасьева Т.П.* Прогнозирование уровня продуктивности овец северо-кавказской мясошерстной породы по биохимическим показателям. Диссерт. на соиск. уч. степ. кандидата биол. наук. Ставрополь. 105-107. 2008.
2. *Михайленко А.К.* Состояние системы глутатиона, трансфераз и дегидрогеназ крови овец в зоне стационарного экологического прессинга. "Овцы, козы, шерстяное дело", 1, 21-23, 2006.
3. *Силакова А.И., Труш Г.П., Явилякова А.* Микрометод определения аммиака и глутамина в тканевых трихлоруксусных экстрактах. *Вопр. мед. химии*, 5, 538, 1962.
4. *Bielat K., Trish G.* ECTO-enzyme activity of human erythrocyte adenosine deaminase. *Mol.Cell. Biochem.* 86, 2, 135-142, 1989.
5. *Chaney A. and Marbach E.* Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin. Chem.*, 8, 130-132, 1961.
6. *Curi R., Newsholme P., Pithon-Curi T., Pires-de-Melo M., Carcial C., Homen-de-Bittencourt P.* Metabolic fate of neutrophils. *Barselona. J.Med. Res.*, 32, 1, 1999.
7. *Deeley M.C.* Adenindeaminase and adenine utilization in *Saccharomyces cerevisia*. *J.Bacteriol.* 174, 10, 3102-3110, 1992.
8. *Kanamori K., Parivar F., Ross B.* ISN NMR study of in vivo cerebral glutamine synthesis in hyperammonic rats. *Biomed.*, 6, 21, 1993.
9. *Murrey A.W.* The biological significance of purine salvage. *Ann. Rew. Biochem.*, 40, 811-826, 1971.
10. *Newby A.C.* Adenosine and the concept of retaliatory metabolism. *PIBS.* 2, 24-42, 1984.
11. *Newsholme P.* Why is L-glutamine metabolism important to cells of the immune system in health, postinjury, surgery or infection? *J. Nutrition*, 131, 2515S-2522S, 2001.
12. *Newsholme P., Lima M.M.R., Procopio J. et al.* Glutamine and glutamate as vital metabolites. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 36, 2, 153-163, 2003.
13. *Rodrigues L. F. S., Freire G. H.* Multiple Iso-Forms of caprine adenosine deaminase. *Israel Veterinary Medical Association.* 55, 4, 433-444, 2000.
14. *Segal H., Beatic D., Hopper Y.* Method for determination of ALT activity. *J. Biol. Chem.*, 6, 1914-1920, 1962.
15. *Selingson D., Selingson H.* A microdiffusion method for the determination of nitrogen liberated as ammonia. *J. Lab. And Clin. Med.*, 38, 324-330, 1951.
16. *Shiio J., Mori M., Ozak H. Agricul.* Method for determination of AST activity. *J. Biol. Chem.*, 46, 2967-2977, 1982.
17. *Silman N., Carr N., Monn M.* ADP-rybosilation of glutamine synthetase in the cyanobac-terium *Synachocystis* sp..strain. PCC 6803 *J. Bacteriol.*, 177, 12, 3527, 1995.

Поступила 01.04.2010.



ИССЛЕДОВАНИЕ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ БЕЛКОВ И ЛИПИДОВ ПРИ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ

Л.М. ОВСЕПЯН, Г.В. ЗАХАРЯН, Г.С. КАЗАРЯН

Институт молекулярной биологии, НАН РА

Целью настоящего исследования явилось определение уровня показателей перекисного окисления белков и липидов, а также активности антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы при гипоксии. Результаты исследований показали, что гипоксия сопровождается увеличением содержания перекисей липидов и белков в головном мозге и в мембранах эритроцитов при параллельном уменьшении активности супероксиддисмутазы.

Гипоксия – перекиси – липиды – белки – супероксиддисмутаза

Աշխատանքի նպատակն է հանդիսացել սուր հիպօքսիայի ժամանակ ուսումնասիրել լիպիդների և սպիտակուցների գերօքսիդային պրոդեաները, ինչպես նաև հակաօքսիդային ֆերմենտ սուպերօքսիդիզմանտազի ակտիվությունը: Ուսումնասիրության արդյունքները ցույց տվեցին, որ հիպօքսիան ուղեկցվում է գլխուղեղում և էրիթրոցիտների թաղանթներում լիպիդների և սպիտակուցների գերօքսիդների քանակի ավելացմամբ միաժամանակ սուպերօքսիդիզմանտազի ակտիվության նվազմամբ:

Հիպօքսիա (սպիտակուցներ (լիպիդներ (սուպերօքսիդիզմանտազ

The study was aimed at determining the level of proteins and lipids peroxidation and activity of antioxidant enzymes superoxiddismutaze at hypoxia. The investigations have shown that content of lipoperoxidation products (proteins and lipids) increase in erythrocyte membranes and brain. Decreases the activity of SOD were registered as well.

Hipoxia - proteins - lipid – peroxide - superoxide dismutaze

В настоящее время принято считать, что одним из факторов в развитии патологических состояний является оксидативный стресс. Его проявление выражается в сдвиге динамического равновесия в системе антиоксиданты – прооксиданты в сторону свободнорадикального окисления, продукты которого обладают широким спектром повреждающего действия. В литературе накоплены многочисленные данные, касающиеся изучения механизмов перекисного окисления липидов и его роли в нормальном и патологическом функционировании клеток [7]. Активные формы кислорода (АФК) вызывают также перекисное окисление белков или, как еще называют, окислительную модификацию белков [3,15], в результате чего усугубляются мембранные повреждения. Считают, что в состоянии окислительного стресса атаке АФК, в первую очередь, подвергаются не липиды, а белки плазматических мембран [2,5]. Сведения, относящиеся к процессу свободнорадикального окисления белков, крайне малочисленны. Обсуждение возможной окислительной деструкции белков в организме до последнего времени носило в основном теоретический характер.

В ряде исследований этот процесс рассматривался как одна из возможных причин инактивации ферментов, изменения структурной организации белков при состоянии окислительного стресса [12,13]. В последнее десятилетие установлено, что процессы модификации белка являются начальной реакцией клетки на изменение условий ее функционирования. Одновременно с этим модификация белка служит сигналом для изменения метаболизма клетки. Фактически все аминокислотные остатки белков способны к окислению, что приводит к изменению их функций [4]. Окислению подвергаются сульфо- и амингидроксильные группы аминокислот, что приводит к образованию поперечных сшивок между белками, или между белком и другой молекулой, содержащей NH_2 группу.

Исходя из вышеизложенного, целью настоящего исследования явилось изучение состояния окислительной модификации белков и липидов в мембранах эритроцитов, в гомогенатах головного мозга, а также определение активности супероксиддисмутазы (СОД) при гипоксии.

Материал и методика. Опыты проводили на 20 беспородных белых крысах массой 170-200 г, содержащихся в условиях вивария. Острую гипоксию головного мозга создавали одновременной двусторонней перевязкой общих сонных артерий под эфирным наркозом (20 мин). Через 20 мин лигатуру снимали и через 50-60 мин животных декапитировали.

Мембраны эритроцитов выделяли осаждением с использованием буфера, состоящего из бикарбоната натрия, этилендиаминтетраацетата и хлористого натрия [9].

Уровень окислительной модификации белков в мембранах эритроцитов и в гомогенате головного мозга оценивали по содержанию карбонильных производных аминокислот в белках. Метод основан на том, что конечные продукты свободнорадикального окисления белков могут количественно реагировать с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов. Карбонильные производные после растворения белкового осадка в 8 М мочеvine при 37°C определяли при 363 нм, используя коэффициент молярной экстинкции $22 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ [8].

Содержание перекисей липидов определяли по реакции взаимодействия малонового диальдегида с тиобарбитуровой кислотой, дающей цветное окрашивание, которое регистрировали при длине волны 535 нм [1].

Состояние антиоксидантного статуса оценивали по активности ключевого фермента антиоксидантной защиты организма СОД, которую определяли методом ингибирования супероксидрадикалов в реакции восстановления тетразолия нитросинего в присутствии НАДФН и феназинметасульфата [11].

Белок определяли по Лоури [10].

Результаты и обсуждение. Развитие любой патологии формирует определённый метаболический ответ организма, что приводит к изменению метаболического статуса, а его регистрация является важной и значимой, особенно при развитии патологических состояний

У животных с гипоксией исходный уровень ТБК-активных продуктов, карбонильных производных и активность супероксиддисмутазы в мембранах эритроцитов составили $6,8 \pm 0,45$; $5,38 \pm 0,32$; $12,15 \pm 0,68$ соответственно, что статистически значимо отличалось от показателей в группе интактных животных, где данные показатели составили $3,4 \pm 0,35$; $3,25 \pm 0,41$; $25,4 \pm 3,2$ соответственно. Это указывало на интенсификацию процессов СРО и снижение активности АОЗ у животных с гипоксией (табл. 1).

Особый интерес представляет исследование окислительной модификации белка в гомогенатах мозговой ткани в связи с повышенной чувствительностью последней к гипоксии, а также присутствием ионов железа и низкой антиоксидательной активностью. В головном мозге животных с гипоксией нами обнаружено образование карбонильных производных, которые в присутствии 2,4-ДНФ-гидразинов образуют 2,4-динитрофенолгидразоны при длине волны 363 нм, что свидетельствует об окислительной деструкции белков при гипоксии.

Ведущая роль в поддержании антиоксидантного статуса принадлежит СОД, которая осуществляет антирадикальную защиту и ингибирует ПОЛ на стадии зарождения цепного процесса. Особенностью функционирования СОД является то обстоятельство, что в присутствии избыточного количества H_2O_2 она может образовывать высоко реакционноспособный гидроксильный радикал, который атакует белковые молекулы фермента, приводя их к потере активности [6]. Для эффективной работы СОД нуждается в присутствии каталазы, катализирующей превращение H_2O_2 в O_2 и H_2O .

Таблица 1. Показатели системы свободнорадикального окисления в мембранах эритроцитов и в гомогенатах головного мозга крыс при гипоксии (n=7)

	Мембрана эритроцитов		Головной мозг	
	Контроль	гипоксия	контроль	гипоксия
МДА, нмоль /мг белка	3,4 ±0,35	6,8±0,45 p<0,001	4,35± 0,33	8,68±0. 41 p<0,001
Карбонильные производные, ед.опт.пл./мг белка	3,25±0,41	5,38±0,32 p<0,01	5,05±0,22	6,83±0,3 p<0,001
СОД, у.е./мг белка	25,4± 3,2	12,15± 2,7 p<0,01	30,4± 3,0	13,56±2,17 p <0,001

Обнаруженная нами при гипоксии животных активация перекисного окисления белков и липидов сопровождается одновременным ингибированием СОД в эритроцитарных мембранах, а также СОД в гомогенате мозга. Изменение активности СОД при гипоксии имеет большое физиологическое значение, т.к. при недостатке кислорода формируются условия для усиления окислительного повреждения переносчиков дыхательной цепи [12] и тем самым создаются предпосылки для усиления генерации активных форм кислорода (супероксидрадикала, пероксида водорода).

Заслуживает внимания увеличение карбонильных производных в мозговой ткани животных с гипоксией, что указывает на активирование процесса перекисного окисления в белках. Наиболее распространенным пусковым механизмом окислительного повреждения мембранных белков является реакция сульфгидрильных (SH) групп аминокислоты цистеина со свободными радикалами. При этом образуются радикалы с локализацией неспаренного электрона около атома серы ($-S\cdot$), которые затем, взаимодействуя друг с другом, образуют дисульфиды, либо окисляются кислородом до производных сульфоновой кислоты.

Помимо цистеина, окислению подвергаются гистидин, серин, аргинин, метионин, фенилаланин, тирозин [14]. В мембранных белках под действием АФК возможно формирование комплексов “окисленный липид – белок”, полимеризация белковых молекул, разрушение боковых групп аминокислот (в первую очередь, содержащих SH-группы).

Результатом окисления аминокислот может быть нарушение вторичной и третичной структуры белков, облегчающее дальнейшее окисление аминокислотных остатков, и денатурация белковых молекул, в результате чего нарушаются их функции, в частности инактивируются ферменты. Нарушение структуры белков делает их доступными для протеолитических ферментов. К этому добавляется действие специфических протеаз, гидролизующих окисленные белки, для которых окисленные аминокислотные остатки являются маркерами [15].

Считают, что в основе образования комплексов белков с окисленными липидами лежат, по крайней мере, два механизма: (а) образование ковалентной связи между свободными SH-группами аминокислот и альдегидами или карбонильными группами окисленных липидов и (б) образование полимерных продуктов за счет формирования поперечных связей ("сшивок") в белковых молекулах. Эти прочные нерастворимые поперечносшитые соединения не разрушаются ферментами лизосом.

Таким образом, повышенное образование продуктов свободнорадикального окисления белков и липидов, а также уменьшение активности СОД являются причиной для нормального функционирования мембран клеток при гипоксии.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Владимиров Ю.А., Арчаков А.И.*, Перекисное окисление липидов в биологических мембранах М, Наука, 252 с., 1972.
2. *Дубинина Е.Е.* Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток М., СПб: Медицинская пресса, 400с., 2006.
3. *Chakravarti B, Deb N.* Oxidative Modification of Proteins: Age-Related Changes, *Gerontology*, 53, p. 128-139, 2007.
4. *Dean R.T., Hunt J.V., Grant A.J. et al.* - Free radical damage to proteins: The influence of the relative localization of radical generation, antioxidants and target proteins - *Free Rad. Biol. Med.* vol.11, p.161-165, 1991.
5. *Ernst A., Stolzing A., Sandig G et al.* Protein oxidation and the degradation of oxidized protein in the rat oligodendrocyte cell line OLN93-antioxidative effect of the intracellular spin trapping agent PBN *Brain Res Mol Brain*, 122, p.126-132. 2004.
6. *Fridovich I.* Fundamental aspects of reactive oxygen species, or what's the matter with oxygen *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 893, p. 13-18, 1999.
7. *Halliwell B., Gutteridge J.* Free radical in Biology and Medicine. Oxford: Clarendon Press, 210 p., 1999.
8. *Levine R.L., Garland D., Oliver C.N.* Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Meth. Enzymol.*, 186, p. 464-478, 1990.
9. *Limber G.R., Davie R.F., Haker A.M.* Acrylamide gel electrophoresis studies of human erythrocyte membrane. *Blood*, 36, p.111-118, 1970.
10. *Lowry N.J., Rosenbogh, A.J., Farr et al.* Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 153, p. 256-275, 1951.
11. *Nishikimi N., Rao N.A., Iagi K.* The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced PMS and molecular oxygen. *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, 46, p. 849-854, 1972.
12. *Richter C., Schwejzer M.* Oxidative stress in mitochondria *N.Y. Acad. Sci.*, 1997.
13. *Sayre L.M., Smith M.A., Perry G.* Chemistry and biochemistry of oxidative stress in neurodegenerative disease. *Curr Med Chem.*, 8, p.721-732, 2001.
14. *Stadtman ER, Levine RL* Protein oxidation. *Ann NY Acad Sci.*, 899, 191-208, 2000.
15. *Thomas N.* Role of oxidative carbonylation in protein *The EMBO Journal*, 24, p. 1311-1317, 2005.

Поступила 07.04.2010.



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 3(62), 2010

ՀՐԱԶԴԱՆ ԳԵՏԻ ԶՐԱՅԻՆ ԷԿՈԶԱՄԱԿԱՐԳՈՒՄ ԱՐԾԱԹԱՓԱՅԼ ԼՃԱԾԱԾԱՆԻ ՄՆԵՐԴԱՌՈՒԹՅԱՆ ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

Ն.Է. ԲԱՐՍԵՂՅԱՆ

ՀՀ. ԳԱԱ Կենդանաբանության և հիդրոէկոլոգիայի գիտական կենտրոնի
հիդրոէկոլոգիայի և ձկնաբանության ինստիտուտ

2009 թ. կատարվել են Հրազդան գետի և Ախպարա ջրամբարի արծաթափայլ լճածածանի (կարասի) սննդառության ուսումնասիրություններ, որոնց արդյունքում պարզվել է, որ տարբեր ցուցանիշներից կախված (տաքիք, սեռական արգասիքների հասունացման փուլ, ջերմաստիճան և այլն) աղիների լցվածության ընդհանուր ինդեքսը տատանվում է 34-168 ‰ սահմաններում: Առավելագույն արժեքները գրանցվել են այն ձկների մոտ, որոնց սեռական արգասիքների հասունացումը IV-V փուլերում է:

Ձկների սննդառություն (արծաթափայլ լճածածան (Հրազդան գետի էկոհամակարգ

Результаты исследования питания серебряного карася р. Раздан и водохранилища Ахпара, проведенные в 2009 г., показали, что в зависимости от разных показателей (температура, возраст, стадия зрелости половых продуктов) общий индекс наполнения кишечника колеблется в пределах 34-168 ‰. Максимальные значения его были обнаружены у рыб на IV-V стадиях зрелости половых продуктов.

Питание рыб - серебряный карась - экосистема р. Раздан

The feeding of Crucian Carp in Hrazdan river and Akhpara reservoir was studied in 2009. As a result it was identified that depending on different parameters (temperature, age, stage of maturity of reproductive products) the general index of intestinal fullness ranges between 34 to 168 ‰. The maximal values were recorded for fishes on IV-V stages of maturity .

Feeding of fishes - Crucian Carp - ecosystem of river Hrazdan

Հրազդան գետը սկիզբ է առնում Սևանա լճից և մինչև Ջրառատ գյուղը հոսում է գրեթե ուղիղ դեպի արևմուտք, այնուհետև հարավ և հարավ-արևմտյան ուղղությամբ շարունակում է իր ընթացքը մինչև Երևան, և ապա Արարատյան դաշտով հասնում Արաքս: Ջրառատ և Աթարբեկյան գյուղերի շրջանում գետը հարստանում է աղբյուրների ու Մարմարիկ գետի ջրերով, շարունակում է հոսել դանդաղ և միայն Քաղսի գյուղից սկսած, երբ մեծանում է անկումը, մտնում է աստիճանաբար խորացող կիրճը և արագընթաց հոսքով հասնում Երևան [3]: Երևանից ներքև, դուրս գալով Արարատյան հարթավայր, թափվում է Արաքս գետը՝ Մեծամորի գետաբերանից 5 կմ ներքև [2]:

Հրազդան գետի իխտիոֆաունայի ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ այն ներկայացված է հետևյալ ձկնատեսակներով՝ քուռի սպիտակաձուկ (*Alburnus filippi*, Kessler 1877), հայկական տառելիկ (*Alburnoides bipunctatus*, Bloch 1782), արծաթափայլ լճածածան (*Carassius auratus gibelio*, Bloch 1782), բեղլու ճանարի (*Barbus capito*, Guldenstadt), սովորական վերխուկա (*Leucaspis delineatus*-Heckel 1843), անգորական լեղկաձուկ (*Nemacheilus angorae*, Steindachner 1897) [1]:

Մենք ուսումնասիրել ենք Ախպարա ջրամբարում և Հրազդան գետի ակունքում արծաթափայլ լճածածանի (*Carassius auratus gibelio*) սննդառության առանձնահատկությունները:

Արծաթափայլ լճածածանը (*Carassius auratus gibelio*) ծածանաձկների ընտանիքի ձուկ է: Հայաստանի կարպային տնտեսություններ է ներմուծվել պատահականորեն՝ XX դ. 70-ական թթ.: Ընկնելով բնական ջրամբարներ՝ լայնորեն տարածվել է գրեթե բոլոր գետերում, լճերում, արհեստական ջրամբարներում [1]:

Արծաթափայլ լճածածանը Սևանա լճում ունի արդյունաբերական նշանակություն, մյուս վայրերում՝ սիրողական ձկնորսության նպատակ:

Նյութ և մեթոդ: Արծաթափայլ լճածածանի սննդառության ուսումնասիրման նպատակով Հրազդան գետի ակունքից և Ախպարա ջրամբարից հավաքել և վերլուծության ենթ ենթարկվել 12 ձուկ, յուրաքանչյուր տարիքային խմբից (0+, 1+, 2+, 3+) երեքական օրինակ: Ձկների որսը կատարվել է կարթի և որսացանցի միջոցով:

Ձկների աղիների պարունակության մշակումը իրականացրել ենք ջրակենսաբանության մեջ ընդունված մեթոդներով [5, 9]: Աղիների պարունակության վերլուծությունն իրականացրել ենք բոլոր բաժիններում: Մինչև 15 սմ երկարությամբ ձկները ֆիքսվել են ամբողջությամբ, իսկ 15 սմ-ից ավել երկարությամբ ձկներից հանել ենք աղիքային տրակտը և ֆիքսվել ֆորմալինի 4%-անոց լուծույթով:

Մինչ աղիքային տրակտի հեռացումը որոշել ենք ձկների ձևաչափական ցուցանիշները: Չափվել է ձկների երկարությունը (L-ընդհանուր և 1-մինչև թեփուկային ծածկի վերջը), զանգվածը (G-ընդհանուր և g-փորոտիքը հեռացված), որոշել ենք սեռը, սեռական արգասիքների հասունացման փուլը, բովանդակությունը (ըստ Ֆուլտոնի, Կլարկի) և տարիքը, վերջինս որոշվել է թեփուկների միջոցով [4, 7, 8, 10]:

Ձկների սնման ինտենսիվության ցուցանիշ է հանդիսացել աղիների լցվածության ընդհանուր ինդեքսը ($^{0/000}$):

Արդյունքներ և քննարկում: Արծաթափայլ լճածածանը (*Carassius auratus gibelio*) հանդիպում է հարուստ բուսականությամբ դանդաղահոս ջրերում: Բնակվում է վտառներով՝ ջրամբարների մերձհատակային շրջանում կամ ջրի միջին շերտերում: Դիմացկուն է միջավայրի անբարենպաստ պայմանների (ջերմաստիճանային կտրուկ փոփոխություններ, թթվածնային քաղց) ազդեցությանը: Ամենակեր է, հասուն առանձնակները սնվում են դետրիտով, փափկամարմիններով, ստորակարգ խեցգետնակերպերով, բույսերով, մանրաձուկը՝ անվառորդերով, միջատների թրթուրներով, ստորակարգ խեցգետնակերպերով, այլ մանր անողնաշարավորներով, ջրիմուռներով: Սննդային ակտիվությունը բարձր է առավոտյան և երեկոյան:

Արարատյան դաշտի ջրամբարներում սեռահասուն է դառնում կյանքի 1-ին կամ 2-րդ տարում, Սևանա լճում՝ 2-րդ կամ 3-րդ տարում, երբեմն՝ ավելի ուշ: Հարթավայրային շրջաններում բազմանում են ընդմիջումներով՝ մարտ-մայիսին, երբեմն՝ հունիսին՝ ջրի 15-18° պայմաններում, Սևանա լճում՝ մայիս-հունիսին, երբեմն օգոստոսին՝ ջրի 14° և ավելի բարձր ջերմաստիճանների դեպքում: Մեռերի հարաբերությունը ՀՀ տարբեր վայրերում տարբեր է [1]:

Մեր կողմից կատարված ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ բնական պայմաններում (Հրազդան գետի ակունք-190 և Ախպարա ջրամբար-220) արծաթափայլ լճածածանի կերի բաղադրիչ են հանդիսացել դետրիտը, ֆիտոպլանկտոնը և զոոպլանկտոնը:

Հրազդան գետի ակունքում հանդիպած երեք մանրաձկներից (0+) երկուսը եղել են մակաբույծներով վարակված: Հիվանդ ձկների մոտ որովայնի օրգանների ծավալը փոքրացած էր, որովայնի խոռոչում առկա էին ծալքերով դասավորված ժապավենաձև որդի պլերոցերկոիդը, որովայնի խոռոչի պարունակության զանգվածը կազմում էր ձկան ընդհանուր զանգվածի 1/2 մասը ($g=1/2G$):

Առաջին (1+) տարիքային խմբի ձկներից երկուսը հանդիպել են Հրազդան գետի ակունքում, մեկը՝ Ախպարա ջրամբարում: Այս ձկների ընդհանուր երկարությունը 11-15 սմ է, ընդհանուր զանգվածը՝ 21-61 գ: Աղիների պարունակության վերլուծությունը ցույց է տվել, որ այս տարիքային խմբի ձկները որպես կեր օգտագործել են դետրիտ և ֆիտոպլանկտոն (աղ.1): Զոոպլանկտոն հայտնաբերվել է միայն 1+ տարիքային խմբի ամենափոքր կարասի (ընդհանուր երկարությունը՝ 11 սմ) աղիներում: Այս տարիքային խմբին պատկանող ձկները սեռահասուն չեն եղել:

Աղյուսակ 1. Տարբեր տարիքի արծաթափայլ լճածածանների կերի կազմը

Տարիք Կերի օբյեկտ	0+	1+	2+	3+
Զոոպլանկտոն	+	+	-	-
Ֆիտոպլանկտոն	+	+	+	+
Դետրիտ	-	+	+	+

Երկրորդ (2+) տարիքային խմբի ձկներից երկուսը հանդիպել են Ախպարա ջրամբարում, մեկը՝ Հրազդան գետի ակունքում: Ձկների երկարությունը 19-19.5 սմ է, ընդհանուր զանգվածը՝ 126-144 գ, սնվել են դետրիտով և ֆիտոպլանկտոնով (աղ.1): Հրազդան գետի ակունքում հանդիպած ձկան սեռական արգասիքները եղել են հասունացման II փուլում, իսկ արհեստական ջրամբարում հանդիպած ձկներինը՝ IV-V փուլում:

Երրորդ (3+) տարիքային խմբի բոլոր ձկները հանդիպել են միայն Ախպարա արհեստական ջրամբարում: Այս ձկների ընդհանուր երկարությունը 22.5-30 սմ է, ընդհանուր զանգվածը՝ 213-422 գ: Որպես կեր այս տարիքի ձկներն օգտագործել են դետրիտ և ֆիտոպլանկտոն (աղ.1): Ամենափոքր երկարությունն ունեցող ձկան մոտ սեռական արգասիքների հասունացումը II փուլում է, մյուս երկուսինը՝ IV-V փուլերում: Բովածության ցուցանիշը կարևոր նշանակություն ունի ձկների հաջող ձմեռման համար [6]:

Աղյուսակ 2. Տարբեր տարիքային խմբերի արծաթափայլ լճածածանների բովածության ցուցանիշները

Տարիք	Մեռն և հասունացման փուլը	Բովածության գործակիցը	
		Ըստ Ֆուլտոնի	Ըստ Կլարկի
1+	II	3.123	3.021
2+	IV-V	3.369	2.917
3+	IV-V	2.714	2.279

Ըստ Ֆուլտոնի՝ բովածության գործակիցն աճում է կախված տարիքից՝ սեռական արգասիքների զանգվածի ավելացման հաշվին: Այդ իսկ պատճառով առավել հավաստի արդյունք ստանալու համար նպատակահարմար է հաշվել Կլարկի գործակիցը [8]:

Տարբեր ցուցանիշներից կախված (տարիք, սեռական արգասիքների հասունացման փուլ, ջերմաստիճան և այլն) աղիների լցվածության ընդհանուր ինդեքսը 34-168 ‰ սահմաններում է: Աղիների լցվածության ընդհանուր ինդեքսի առավելագույն արժեքները գրանցվել են այն ձկների մոտ, որոնց սեռական արգասիքների հասունացումը IV-V փուլերում է:

Այսպիսով, արծաթափայլ լճածածանների սննդառության ուսումնասիրությունները ցույց տվեցին, որ այս ձկները սնվում են բիոցենոզի տարբեր բաղադրիչներով՝ ֆիտոպլանկտոնով, զոոպլանկտոնով և դետրիտով: Ձկների սննդառության վերաբերյալ առավել հավաստի տվյալներ ստանալու համար անհրաժեշտ է ուսումնասիրել մեծաքանակ ձկներ: Հավանական է, որ մեր ուսումնասիրությունների արդյունքում ստացված տվյալներում առկա լինեն որոշակի շեղումներ, քանի որ ուսումնասիրվել են քիչ թվաքանակով ձկներ:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Հայաստանի բնաշխարհ*. Հայկական հանրագիտարան. Հրատարակչություն, Երևան, էջ 157, 2006:
2. Չիլինգարյան Լ.Ա., Մնացականյան Բ.Պ., Աղաբաբյան Կ.Ա., Թորմաջյան Հ.Վ. ,Հայաստանի գետերի ու լճերի ջրագրությունը, Երևան, էջ՝ 5-37, 2002:
3. *Օհանյան Կ.Օ.* Հայկական ՍՍՌ-ի գետերն ու լճերը. Հայպետուսմանկիրատ, Երևան, էջ 23-28, 1961:
4. *Брюзгин В.Л.* Методы изучения роста рыб по чешуе, костям и отолитам. Киев, Изд-во Наукова Думка, 187с., 1969.
5. Методическое пособие по изучению питания и пищевых отношений рыб в естественных условиях, М., Изд-во “Наука”, 254с., 1974.
6. *Моисеев П.А., Азизова Н.А., Куранова И.И.* Ихтиология, М., Изд-во ,Легкая и пищевая промышленность, 1981.
7. *Никольский Г.В.* Экология рыб, М., "Высшая школа", 366 с., 1974.
8. *Правдин И.Ф.* Руководство по изучению рыб, М., Изд-во “Пищевая промышленность”, 376 с., 1966.
9. Руководство по изучению питания рыб в естественных условиях, М., Изд-во АН СССР, 263 с. 1961.
10. *Чугунова Н.И.* Руководство по изучению возраста и роста рыб, М., Изд-во АН СССР, 1959.
11. *Gabrielyan B.K.* An Annotated checklist of freshwater fishes of Armenia. Naga, ICLARM, 24, Nos. 3&4, Malaysia, p. 23-29, 2001.

Մտագլխել է 04.06.2010.



Биол. журн. Армении, 3 (62), 2010

ИЗУЧЕНИЕ КОМПЛЕКСОВ ДНК С ЛИГАНДАМИ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ

П.О. ВАРДЕВАНЯН, А.П. АНТОНЯН

Ереванский государственный университет

В работе обобщены данные по исследованию особенностей комплексообразования ДНК с лигандами, которые связываются с ней различными механизмами, на примере классического интеркалятора бромистого этидия (БЭ) и неинтеркалятора Hoechst 33258. Показано, что БЭ проявляет мультимодальность, так как может связываться с дц-ДНК тремя – интеркаляционным, полуинтеркаляционным и электростатическим, а с оц-ДНК двумя – полуинтеркаляционным и электростатическим механизмами. Сравнение экспериментально полученных значений параметров взаимодействия с теоретически рассчитанными выявило хорошее соответствие. Показано, что Hoechst 33258 также проявляет мультимодальность при связывании с дц-ДНК, которая зависит от условий внешних факторов, в частности от ионной силы раствора.

*ДНК – БЭ - Hoechst 33258 – интеркаляция –
полуинтеркаляция – мультимодальность*

Աշխատանքում ընդհանրացված են ԴՆԹ-ի հետ տարբեր մեխանիզմներով կապվող լիգանդների կոմպլեքսացիայից առանձնահատկությունների ուսումնասիրությունները՝ դասական ինտերկալատոր էթիդիում բրոմիդի (ԷԲ) և ոչ ինտերկալատոր Hoechst 33258-ի օրինակներով: Ցույց է տրվել, որ ԷԲ-ն դրսևորում է բազմաբնույթ փոխազդեցություն, քանի որ ԷԲ-ԴՆԹ-ի հետ կարող է կապվել երեք ինտերկալացիոն, կիսաինտերկալացիոն և էլեկտրաստատիկ, իսկ մշ-ԴՆԹ-ի հետ՝ երկու՝ կիսաինտերկալացիոն և էլեկտրաստատիկ մեխանիզմներով: Փոխազդեցության պարամետրերի փորձարարականորեն ստացված արժեքները տեսականորեն հաշվարկվածների հետ լավ համապատասխանության մեջ են: Ցույց է տրվել, որ Hoechst 33258-ը նույնպես դրսևորում է բազմաբնույթ փոխազդեցություն ԷԲ-ԴՆԹ-ի հետ կապվելիս, ինչը կախված է արտաքին գործոնների պայմաններից, մասնավորապես լուծույթի իոնական ուժից:

*ԴՆԹ - ԷԲ - Hoechst 33258 - ինտերկալացիա - կիսաինտերկալացիա -
բազմաբնույթ լիգանդ*

Investigations related to the peculiarities of DNA complexformation with ligands binding by different mechanisms, on examples of classic intercalator ethidium bromide (EtBr), and non-intercalator Hoechst 33258 are generalized in this work. It has been shown that EtBr exhibits multimodality, because it may bind with ds-DNA by three – intercalation, semiintercalation and electostatical, and with ss-DNA by two – semiintercalation and electrostaical mechanisms. The comparison of experimental values of interaction parameters to theoretically calculated ones reveals a good correlation. It has been shown that Hoechst 33258 also exhibits multimodality at the binding with ds-DNA, which depends on conditions of external factors, particularly, on ionic strength of solution.

DNA – EB - Hoechst 33258 – intercalation – semiintercalation – ultimodality

Одной из главных задач биофизики нуклеиновых кислот является выяснение особенностей процессов, связанных с их структурой и функцией, а также определение условий термодинамического равновесия, при которых устанавливается данная структура или происходит процесс с участием ДНК. К таким вопросам относятся как конформационные перестройки в самой ДНК, так и ее взаимодействие с различными низкомолекулярными соединениями – лигандами. Термодинамическое состояние данной структуры ДНК или ДНК-лиганд комплексов определяется величиной свободной энергии системы ΔG - $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$, где ΔH , T и ΔS соответственно энтальпия, температура и энтропия системы. С этой точки зрения процессы, происходящие с участием ДНК, обусловлены изменениями этих параметров. Более того, на эти величины оказывают определенное влияние как условия среды, при которых происходят эти процессы, так и присутствие различных молекул, следовательно, определение термодинамических параметров этих процессов позволяют выяснить механизмы, лежащие в основе функционирования нуклеиновых кислот [8, 13, 18, 19, 22, 30, 31].

В настоящее время взаимодействие биологически активных соединений с ДНК интенсивно изучается для определения специфичности их связывания с определенными участками ДНК, выявления особенностей механизмов этих взаимодействий и для понимания влияния лигандов на функционирование ДНК. Следовательно, данные исследования могут иметь не только теоретическое, но и большое практическое значение, поскольку спектр применения подобных веществ весьма обширен.

Лиганды могут связываться с ДНК различными способами: ковалентным, к примеру - *cis*-DDP (цис-диаминдихлорплатин) [13], или нековалентно, различными механизмами (интеркаляционным, внешним связыванием с одной из бороздок ДНК или электростатическим) [1, 2, 8, 9, 28, 33]. Более того, существует определенный класс лигандов, которые могут связываться с ДНК несколькими способами [18, 19, 30].

Лиганды, связывающиеся с ДНК интеркаляционным механизмом, представляют научный интерес, т.к. этот способ связывания малых молекул с нуклеиновыми кислотами первым был применен для определения биологической активности соединений, содержащих плоские ароматические хромофоров [11, 12, 21]. Указанным способом связываются с ДНК такие лиганды, как БЭ (рис. 1), актиномицин Д (АМД). Некоторые же лиганды, например нетропсин, дистамицин А, Hoechst 33258 (рис. 1), локализуются в одной из бороздок (в основном в малой) ДНК, вдоль главной оси, с высокой предпочтительностью к АТ последовательностям [25-27]. Важно отметить, что при интеркаляции, когда молекула лиганда проникает в плоскость между соседними парами оснований, структура ДНК претерпевает значительные локальные перестройки, тогда как при внешнем связывании лигандов такие изменения в молекуле ДНК незначительны [3, 14].

Несмотря на то что связывающиеся нековалентно с ДНК лиганды подразделяются на интеркаляторы и неинтеркаляторы, исследования последних лет выявили, что большинство из них являются мультимодальными, что нельзя не учитывать при выяснении особенностей их взаимодействия с ДНК. С этой точки зрения моделирование комплексообразования лигандов с различными структурами ДНК на основании данных, полученных на примере таких лигандов, каковыми являются БЭ, Hoechst 33258 и др. весьма значительно [4, 15, 20, 32].

Интеркалирование молекул лиганда реализуется в 3 этапа. Во-первых, структура ДНК претерпевает изменения для создания интеркаляционного места. При этом пары оснований отодвигаются на ван-дер-ваальсовы расстояния, вследствие чего образуется полость, которая подходит интеркаляционному хромофору.

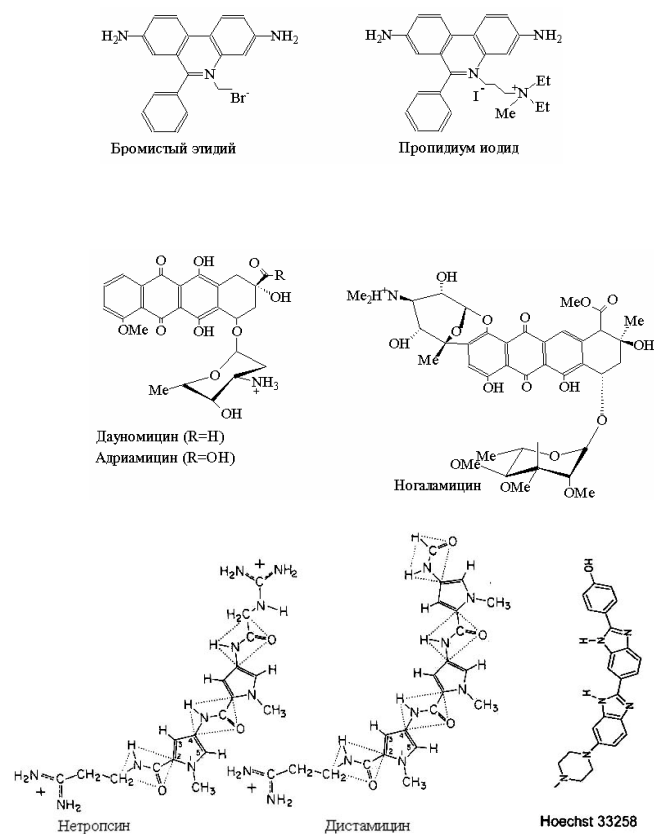


Рис. 1. Структура некоторых лигандов интеркаляторов – БЭ, пропидиум иодид, дауномицин, адриамицин, ногаламицин, и связывающиеся с ДНК внешне – нетропсин, дистамицин, Hoechst 33258.

При этом ДНК раскручивается, увеличивая расстояние между фосфатными группами, что, в свою очередь, приводит к изменению локальной плотности заряда. Во-вторых, происходит перенос интеркалятора из полярной среды в неполярное интеркаляционное пространство. Вследствие этого высвобождается дополнительное количество положительных зарядов из полимера (связанные с ней катионы), если интеркалятор заряжен положительно [12]. Далее интеркалятор внедряется между парами оснований. При этом происходит излом спирали, а также смещение локальных осей над и под участком интеркаляции [7]. При интеркаляции имеют место нековалентные межмолекулярные взаимодействия – водородные, ван-дер-ваальсовы, электростатические, а также стекинг-взаимодействия между ДНК и интеркалятором, которые вносят свой вклад в свободную энергию образования связи [12, 21]. Так, в работах [18, 19, 30] показано, что являющиеся ингибиторами транскрипции БЭ, АМД образуют два типа комплексов с ДНК – «сильный» и «слабый». При этом показано, что энтропия взаимодействия сильным способом претерпевает большие изменения, на основании чего было предположено, что сильный комплекс этих лигандов с ДНК образуется за счет интеркаляции [18, 19, 30]. Если при этом интеркалятор является катионом (например, БЭ), а нуклеиновые кислоты в растворе представляют собой полианионы, то естественным будет предположить, что возможно также электростатическое связывание

между молекулами красителя и фосфатными группами ДНК, которое характеризуется меньшей, по сравнению с интеркаляцией, константой связывания.

На это указывает и тот факт, что увеличение ионной силы раствора приводит к уменьшению константы связывания [18]. Два способа связывания БЭ с ДНК обнаружено различными методами – спектроскопическими (абсорбционным, флуориметрическим, кругового дихроизма, дисперсией оптического вращения, равновесного диализа, тепловой денатурации, дифференциальной импульсной вольтамперометрии и др.) [8, 13, 18, 19, 30, 31], или электрохимическим [23,29], один из которых – «сильный», другой – «слабый». На это указывает и тот факт, что кривые связывания БЭ с ДНК в координатах Скетчарда (зависимость g/C_f от g , где g является соотношением концентраций связанных молекул лиганда и ДНК, C_f – концентрация свободного лиганда в растворе), определяемые уравнением

$$\frac{g}{C_f} = K(1 - ng) \left[\frac{1 - ng}{1 - (n-1)g} \right]^{n-1}, \quad (1)$$

нелинейные и состоят из двух прямолинейных участков, соответствующих двум способам связывания.

Для определения числа способов и термодинамических параметров связывания информативным является также метод термо- или pH-индуцированного перехода спираль-клубок комплексов ДНК с лигандами. В частности, на основании термоиндуцированного плавления была разработана теоретическая модель [18] и были получены универсальные уравнения, описывающие многопараметрическую зависимость изменения температуры и ширины интервала плавления спираль-клубок комплексов ДНК с БЭ (и др. интеркаляторов) от концентрации лигандов. С помощью этих уравнений выявлено, что, кроме интеркаляционного и электростатического, с двухцепочечной ДНК эти соединения связываются также другими способами [18, 24]. Более того, экспериментальные исследования по плавлению комплексов при различных ионных силах раствора выявили, что существует по крайней мере два способа «слабого» взаимодействия БЭ с ДНК электростатической природы [18, 30]. В дальнейшем, сопоставлением данных, полученных спектроскопическим (флуоресцентным и абсорбционным) методом, наряду с флуоресцирующим «сильным» (интеркаляционным), был выявлен нефлуоресцирующий «сильный» способ связывания БЭ с ДНК, так как кривые связывания БЭ с ДНК в координатах Скетчарда, полученные на основании спектров флуоресценции и абсорбции комплексов, различаются [31]. Аналогичные данные получены также методом дифференциальной импульсной вольтамперометрии [23]. При наличии только одного способа взаимодействия изотермы адсорбции, полученные флуориметрическим и абсорбционным методами, должны совпадать, когда основным типом связывания является только интеркаляция. Различия же в кривых связывания, полученных флуориметрическим и абсорбционным методами, могут быть обусловлены тем, что кроме интеркаляционного, имеет место также другой способ связывания. Примечательным является тот факт, что термодинамические параметры, рассчитанные теоретически и полученные экспериментально для этого способа, находятся в хорошем соответствии. В работе [33] было показано, что АМД может частично интеркалировать в плоскость между соседними основаниями в одной из нитей ДНК – полуинтеркаляция. При этом термодинамические параметры полуинтеркаляционного комплекса АМД, полученные в работе [33], совпадали с таковыми для комплекса БЭ с ДНК, полученными из сопоставления результатов абсорбционных и флуориметрических исследований. С другой стороны, в работе [18] показано, что термодинамические параметры взаимодействия БЭ и АМД различными способами также находятся в хорошем соответствии. Экспериментальные исследования по взаимодействию БЭ с ДНК выявили, что этот лиганд, как и АМД, с ДНК может связываться тремя способами одновременно – интеркаляционным, полуинтеркаляционным и электростатическим [31].

Важным в изучении взаимодействия лигандов с ДНК является также и тот факт, что не исключается возможность для их связывания с одноцепочечными участками ДНК, так как в процессе реализации генетической информации, при репликации и транскрипции в молекуле ДНК образуются одноцепочечные участки. *In vitro* гибкая, нативная, флуктуирующая молекула дц-ДНК также содержит одноцепочечные участки. С этой точки зрения интересно отметить, что и теоретические, и экспериментальные исследования по взаимодействию БЭ и АМД с одноцепочечной (оц) ДНК выявили, по крайней мере, еще два способа, несмотря на предпочтительность связывания этих лигандов с двухцепочечными полинуклеотидами [18, 19]. Более того, в работе [6] методом ядерного магнитного резонанса (ЯМР) показано, что БЭ связывается с одноцепочечной ДНК полуинтеркаляционным способом. В работе же [3] нами получено, по крайней мере, два способа связывания БЭ с оц-полинуклеотидами. С учетом того, что полученные значения констант связывания БЭ с одноцепочечной ДНК отличаются на порядок, один из способов можно считать «сильным», а другой – «слабым» [3, 5]. В работе [18] показана идентичность термодинамических параметров связывания БЭ и АМД с двухцепочечной и одноцепочечной ДНК, исходя из чего можно допустить, что связывание лигандов с одноцепочечными полинуклеотидами также играет важную роль в регуляции биологической активности ДНК [3, 5, 6].

Значения констант и числа мест связывания БЭ с ДНК, полученных теоретически и экспериментально для различных способов, приведены в табл. 1. Как видно, рассчитанные теоретически и определенные экспериментально значения параметров связывания БЭ с ДНК различными способами находятся в хорошем соответствии.

Таблица 1. Значения констант (K) и числа мест (n) связывания БЭ с дц- и оц-ДНК, рассчитанные теоретически и полученные экспериментально.

N	Теория		Эксперимент	
	$K \times 10^{-5}; M^{-1}$	n	$K \times 10^{-5}; M^{-1}$	n
1	0,25	3	0,5	3
2	1,25	10	1,4	9
3	0,3	5	0,23	3
4	1,4	6,75	1,7	8
5	50	12	19	11

Таким образом, результаты исследований по взаимодействию БЭ с ДНК указывают на то, что этот лиганд в зависимости от концентрации может связываться как с двухцепочечной, так и с одноцепочечной участками ДНК, при этом образуя различные типы комплексов одновременно. Это может иметь важное значение с практической точки зрения, так как многие противоопухолевые препараты являются интеркаляторами, и эти данные могут лечь в основу при скрининге новых лекарственных препаратов.

Другой класс соединений – это локализующиеся в малом желобке ДНК лиганды, связывание которых осуществляется в два этапа: гидрофобный перенос лиганда из раствора в энергетически более выгодную малую бороздку ДНК и образование нековалентных взаимодействий с ДНК. Ван-дер-ваальсовы взаимодействия и водородные связи – важнейшие факторы образования таких комплексов [11, 12, 21]. Большинство этих лигандов проявляют ярко выраженную специфичность к определенным последовательностям ДНК. В этой связи в последнее время большее внимание уделяется таким препаратам, интерес к которым обусловлен тем, что они имеют прикладное значение, в частности, в химиотерапии опухолей. К этим веществам относятся олигопептиды, являющиеся производными лекситропсинов (например, нетропсин, дистамицин и бис-амиды, которые используются в качестве зондов, узнающих определенные последовательности ДНК) [34].

Бис-амидные вещества с умеренным антивирусным и антибактериальным свойствами представляют собой класс лигандов, связывающихся через малый желобок ДНК. Двухкатионные молекулы обратимо связываются с малой бороздой двойной спирали ДНК с умеренным сродством (порядка 1 ± 10 μM), проявляя предпочтение к АТ богатым участкам. При этом обнаружена отчетливая корреляция между сродством и биологической активностью бис-амидов [16, 17].

Среди лигандов неинтеркаляторов, связывающихся с ДНК со специфичностью к АТ последовательностям, определенный интерес представляет Н33258. Исследования последних лет о взаимодействии этого лиганда с ДНК выявили несколько способов связывания [4, 32]. В частности, при различных ионных силах раствора нами выявлены важные особенности влияния степени гидратации и эффекта полиэлектролита на сродство этого лиганда к ДНК, учитывая распределение положительного заряда вдоль поверхности молекулы Н33258. Нами показано, что при относительно высоких ионных силах раствора ($\mu > 0,004$ М Na^+) и высоких концентрациях лиганда наблюдается изменение формы кривой плавления в интервале изменения температуры $50 < T < 75^\circ\text{C}$, и обнаружено, что в этих условиях молекулы лиганда диссоциируют в указанном интервале изменения температуры, вследствие электростатической природы слабого способа связывания [4, 32]. С другой стороны, важно то обстоятельство, что изменение ионной силы раствора влияет на величину ширины интервала плавления комплексов ДНК-Н33258 в зависимости от g ($g = \text{лиганд}/\text{ДНК}$). При ионной силе $\mu = 0,002$ М Na^+ ширина интервала плавления комплексов увеличивается по сравнению с аналогичным параметром чистой ДНК, так как в ходе плавления происходит перераспределение молекул Н33258 с денатурированных участков на еще не денатурированные. Увеличение ионной силы приводит к увеличению плотности электроотрицательного заряда и уменьшению степени гидратированности в АТ богатых участках малого желобка ДНК, вследствие чего и специфическое связывание Н33258 с ДНК становится более выраженным [4, 32].

Полученные нами данные выявили также, что при ионных силах раствора $\mu = 0,002$ М Na^+ ; $\mu = 0,01$ М Na^+ и $\mu = 0,02$ М Na^+ кривые зависимости изменения ширины интервала плавления комплексов ДНК-Н33258 от концентрации лиганда практически не меняются уже при значениях $g \geq 0,1$, что указывает на то, что места связывания ограничены и при указанном значении g происходит их насыщение молекулами лиганда. Особый интерес представляют данные, полученные при $\mu = 0,004$ М Na^+ , поскольку изменение ширины интервала плавления $\delta(\Delta T/T_m^2)$ комплексов ДНК- Н33258 ($\delta(\Delta T/T_m^2) = \Delta T/T_m^2 - \Delta T_0/T_0^2$, где ΔT и ΔT_0 – ширины интервала плавления комплексов и чистой ДНК, T_m и T_0 – температуры плавления комплексов и чистой ДНК соответственно увеличивается при низких концентрациях лиганда ($g \geq 0,05$), проходит через плато и при значениях $g \geq 0,1$ начинает уменьшаться. При значениях же $g \geq 0,2$ - $\delta(\Delta T/T_m^2) \approx 0$. Эти данные являются результатом существования нескольких способов связывания Н33258, как и в случае с БЭ. Анализ показывает, что Н33258 с ДНК взаимодействует сильным способом с ограниченными местами связывания. Из полученных данных обнаружено, что при $\mu = 0,002$ М Na^+ специфичность к АТ последовательностям ДНК не проявляется, а при $\mu \geq 0,004$ М Na^+ этот лиганд связывается только специфически с АТ основаниями. Полученные нами данные находятся в хорошем соответствии с результатами работ [11, 12, 15, 20, 21], где показано, что специфическое узнавание АТ последовательностей молекулами лиганда в малом желобке ДНК обусловлено электростатическими, ван-дер-ваальсовыми и водородными взаимодействиями. На существование различных способов связывания Н33258 с ДНК указывают результаты Скетчард анализа кривых адсорбции (нелинейные кривые связывания), с помощью которых были определены значения констант (K) и число мест (n)

связывания [4, 32]. Учитывая, что H33258 с ДНК взаимодействует, по крайней мере, двумя способами, из кривых связывания были получены значения K и n для двух способов (табл.2). Значение K_s , полученное при ионной силе раствора $\mu=0.002$ М Na^+ , указывает на то, что H33258 с ДНК связывается неспецифически, сильным способом. Однако, как видно из табл. 2, значение K_s , соответствующее сильному способу связывания, уменьшается при повышении ионной силы раствора от 2 мМ Na^+ до 4 мМ Na^+ . Учитывая особенности взаимодействия H33258 с ДНК при ионной силе 4 мМ Na^+ , можно предположить, что молекулы лиганда с ДНК связываются двумя сильными способами одновременно, которые, по всей вероятности, конкурируют между собой. Дальнейшее повышение ионной силы раствора приводит к значительному увеличению величины K_s , что является следствием проявления ярко выраженного специфического взаимодействия молекул лиганда с АТ последовательностями ДНК (при 20 мМ Na^+ значение константы связывания наибольшее). Получены также значения n для этих двух способов связывания H33258 с ДНК (табл.2).

Таблица 2. Экспериментальные значения K и n , полученные для комплексов H33258 с ДНК при различных ионных силах раствора

Ионная сила М Na^+	$K_s \cdot 10^{-6} \text{ М}^{-1}$	$K_w \cdot 10^{-5} \text{ М}^{-1}$	n_s	n_w
0.002	$7,9 \pm 0,30$	$0,80 \pm 0,03$	14	3
0.004	$0,62 \pm 0,05$	$0,14 \pm 0,05$	8	3
0.01	$6,25 \pm 0,20$	$0,67 \pm 0,02$	11	3
0.02	$450,00 \pm 20,00$	$10,30 \pm 2,00$	17	4

K_s и K_w - значения констант сильного и слабого способов связывания соответственно, n_s и n_w - значения числа пар оснований, соответствующих одному месту сильного и слабого способов связывания соответственно.

Как видно из приведенных данных, значения n_s уменьшается при увеличении ионной силы раствора от 2 до 4 мМ Na^+ , а при дальнейшем повышении ионной силы раствора значения n_s увеличиваются. При $\mu=20$ мМ Na^+ значения n_s наибольшее, так как в этих условиях число мест связывания H33258 на ДНК сильным способом очень ограничено по сравнению с n_s , полученных при более низких ионных силах. Из табл.2 видно, что значения n_w практически одинаковы в интервале изменения ионной силы раствора $2 \leq \mu \leq 20$ мМ Na^+ . Это указывает на то, что при высоких концентрациях слабый способ связывания H33258 с ДНК происходит одним и тем же механизмом независимо от ионной силы раствора.

Из полученных данных можно заключить, что:

1. классический интеркалятор БЭ и желобково связывающийся лиганд Hoechst 33258 с ДНК могут связываться несколькими способами;
2. проявление того или иного способа связывания Hoechst 33258 с ДНК чувствительно к ионной силе раствора, в то время как в случае с БЭ мультимодальность при взаимодействии с ДНК не зависит от условий среды;
3. специфичность Hoechst 33258 к АТ последовательностям ДНК проявляется при высоких ионных силах раствора.

Проведенные исследования открывают широкие возможности для скрининга биологически активных соединений. Выявление механизмов, лежащих в основе специфического связывания малых молекул с данной конформацией или с определенными последовательностями ДНК, необходимо для понимания влияния

различных агентов на клеточный метаболизм и для синтеза новых, более селективно направленных соединений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Борисова О.Ф., Щелкина А.А., Карапетян А.Т., Суровая А.Н. Гетерогенность мест сильного связывания бромистого этидия на ДНК. Флуоресцирующие и нефлуоресцирующие комплексы. Мол. биология, 32, с. 855-862, 1998.
2. Бабаян Ю.С., Казарян Р.С., Согомонян Л.Р., Аветисян М.Г., Снргян А.Е., Гарибян Д.В. Исследование взаимодействия противоопухолевых соединений митоксантирона аметантрона с ДНК по характеру изменения спектров КД. Биофизика, 43, вып. 3, с. 422-426, 1998.
3. Вардеванян П.О., Антонян А.П., Манукян Г.А., Карапетян А.Т., Щелкина А.К., Борисова О.Ф. Связывание бромистого этидия с нативным и денатурированным poly(dA)poly(dT). Мол. биология, 34, с. 310-315, 2000.
4. Вардеванян П.О., Антонян А.П., Парсаданян М.А., Пирумян К.В., Бояджян З.Р., Карапетян А.Т. Влияние ионной силы на взаимодействие Hoechst 33258 с ДНК. Вестник МАНЭБ, 10, 5, вып. 2, с. 145-150, 2005.
5. Вардеванян П.О., Антонян А.П., Парсаданян М.А., Давтян А.Г., Карапетян А.Т. Связывание БЭ с однопочечной ДНК. Биофизика, 48, вып. 4, с. 644-647, 2003.
6. Веселков А.Н., Барановский С.Ф., Дымант Л.Н., Петренко Н.В., Веселков Д.А., Такер А., Дэвис Д.Б. Комплексообразование бромистого этидия с однопочечным некомплементарным дезокситетрануклеотидом 5'-d(ApApGpC). Мол. биология, 31, 2, с. 263-273, 1997.
7. Кантор Ч., Шиммел П. Биофизическая химия. 3, М.:Мир. 534 с., 1985.
8. Молекулярные основы действия антибиотиков. Под редакцией действительного члена АМН СССР Г.Ф. Гаузе. "Мир", М., 1975.
9. Тищенко Е.И., Карапетян А.Т., Борисова О.Ф. Гетерогенные комплексы бромистого этидия и их роль в стабилизации (dA)_n-(dT)_n-структур. Мол. биология, 30, с. 1370-1377, 1996.
10. Borisova O.F., Golova Yu.B., Gottich B.P., Zibrov A.S., Il'icheva I.A., Lysov Ju.P., Mamayeva O.K., Chernov B.P., Chernyi A.A., Shchyolkina A.K., Floretiev V.L. Parallel double-stranded helices and the tertiary structure of nucleic acids. J. Biomol. Struct. Dyn., 8, pp. 1187-1210. 1991.
11. Chaires J.B. Dissecting the free energy of drug binding to DNA. Anti-Cancer drug. Des., 11, pp. 569-580, 1996.
12. Chaires J.B. Energetics of drug-DNA interactions. Biopolymers, 44, 201-215, 1998.
13. Dalyan Y.B., Haroutiunian T.S., Haroutiunian S.G., Vardevanyan P.O. Melting of Complexes of DNA-cis-DDP in Acidic Environment. Experimental and Molecular Medicine, 35, pp. 534-537, 2003.
14. Doung T.H., Zakrzewska K. Influence of drug binding on DNA flexibility: A normal mode analyses. J.Biomol. Struct. Dyn., 14, 6, p. 691-701, 1997.
15. Ismail M.A., Rodger P.M., Rodger A. Drug self-assembly on DNA: sequence effects with trans-bis-(4-N-methylpyridiniumyl)diphenyl porphyrin and Hoechst 33258 //J. Biomol. Struct. Dyn. 11. p. 335-348, 2000.
16. Jenkins T.C., Lane A.N. AT selectivity and DNA minor groove binding by bis(amidine) ligands: molecular modeling, NMR and structural studies of the interactions of propamidine and pentamidine with d(CGCAAATTTGCG)₂. Biochim. Biophys. Acta, 1350, p. 189-204, 1997.
17. Jenkins T.C., Neidle S., Brown D.G., Lane A.N. NMR and molecular modelling studies of the interaction of berenil and pentamidine with d(CGCAAATTTGCG)₂. Eur. J. Biochem., 213, p. 1175-1184, 1993.
18. Karapetian A.T., Mehrabian N.M., Terzikian G.A., Vardevanyan P.O., Antonian A.P., Borisova O.F., Frank-Kamenetskii M.D. Theoretical treatment of Melting of Complexes of DNA With Ligands Having Several Types of Binding Sites on Helical and Single-stranded DNA. J. Biomol. Struct. Dyn., 14, pp. 275-283, 1996.

19. Karapetian A.T., Mehrabian N.M., Terzikian G.A., Antonian A.P., Vardevanian P.O., Frank-Kamenetskii M.D. Theoretical and Experimental Study of Conformational Transitions of Complexes of DNA With Ligands Having Several Types of Binding Sites on Different Forms of DNA. Structure, Motion, Interaction and Expression of Biological Macromolecules. N.Y., Adenine press, pp. 259-265, 1998.
20. Kakkar R, Grover S.R. Theoretical study of molecular recognition by Hoechst 33258 Derivatives. J. Biomol. Struct. & Dynam., 23, 1, p. 37-47, 2005.
21. Lane A.N., Jenkins T.C. Thermodynamics of nucleic acids and their interactions with ligands. Quart. Rev. Biophys., 33, pp. 255-306, 2000.
22. Marky L.A., Breslauer K.J. Origins of netropsin binding affinity and specificity: correlations of thermodynamic and structural data. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, pp. 4359-4363, 1987.
23. Minasyan S.H., Tavadyan L.A., Antonyan A.P., Davtyan H.G., Parsadanyan M.A., Vardevanyan P.O. Different Pulse Voltammetric Studies of Ethidium Bromide Binding to DNA. Bioelectrochemistry, 68, p. 48-55, 2006.
24. Monaco R.R. A Novel Major Groove Binding Site in B form DNA for Ethidium Cation. J. Biomol. Struct. Dyn, 25, 2, p. 119-125, 2007.
25. Neidle S. Crystallographic insights into DNA minor groove recognition by drugs. Biopolymers, 44, pp. 105-121, 1997.
26. Parkinson J.A., Barber J., Douglas K.T., Rosamond J., Sharples D. Minor-Groove Recognition of the Self-Complementary Duplex d(CGCGAATTCGCG)₂ by Hoechst 33258: A High-Field NMR Study. Biochemistry, 29, pp. 10181-10190, 1990.
27. Parkinson J.A., Ebrahimi S.E., McKie J.H., Douglas K.T. Molecular Design of DNA-Directed Ligands with Specific Interactions: Solution NMR Studies of the Interaction of a m-Hydroxy Analogue of Hoechst 33258 with d(CGCGAATTCGCG)₂. Biochemistry, 33, pp. 8442-8452, 1994.
28. Shchyolkina A.K., Timofeev E.N., Borisova O.F., Il'cheva I.A., Minyat E.E., Khomyakova E.B., Florentiev V.L. The R-form of DNA does exist. FEBS Lett., 339, pp. 113-118, 1994.
29. Tang T.-C. and Huang H.-J. Electrochemical Studies of the Intercalation of Ethidium Bromide to DNA, Electroanalysis, 11, pp. 1185-1190, 1999.
30. Vardevanian P.O., Antonian A.P., Manukyan G.A., Karapetian A.T. Study of Ethidium Bromide Interaction Peculiarities With DNA. Experimental and Molecular Medicine, 33, pp. 205-208, 2001.
31. Vardevanyan P.O., Antonyan A.P., Parsadanyan M.A., Davtyan H.G., Karapetyan A.T. The Binding of ethidium bromide with DNA: Interaction with single- and double-stranded structures. Exp. and Mol. Medicine, 35, 6, p. 527-533, 2003.
32. Vardevanyan P.O, Antonyan A.P., Parsadanyan M.A., Pirumyan K.V., Muradyan A.M., Karapetian A.T. Influence of ionic strength on Hoechst 33258 binding with DNA. J.Biomol. Struct. Dyn., 25, 6, p. 641-646, 2008.
33. Wadkins R.M., Jares-Erijman A.E., Klement R., Rudiger A., Jovin T.M. Actinomycin D Binding to Single-stranded DNA: Sequence specificity and hemi-intercalation model from fluorescence and ¹H NMR spectroscopy. J. Mol. Biol., 262, pp. 53-68, 1996.
34. Zimmer Ch., Wahnert U. Non-intercalating DNA-binding ligands: specificity of the interaction and their use as tools in biophysical, biochemical and biological investigations of the genetic material. In Prog. Biophys. Mol. Biol., 47, p.31-112, 1986.

Поступила 04.06.2010.



Биол. журн. Армении, 3 (62), 2010

ФЛУКТУАЦИИ ВЫХОДНОГО СИГНАЛА ДНК-БИОСЕНСОРА ПРИ НАЛИЧИИ ВНУТРЕННЕГО ШУМА

Г.А. АВЕТИСЯН¹, В.Б. АРАКЕЛЯН¹, А.Т. КАРАПЕТЯН²

¹Ереванский государственный университет

²Ереванский государственный университет архитектуры и строительства

В работе определены характерные особенности действия концентрации лигандов в растворе на флуктуации выходного сигнала ДНК-биосенсора. Рассмотрен случай произвольного заполнения ДНК дуплексов лигандами. Показано, что дисперсия выходного сигнала ДНК-биосенсора с увеличением концентрации лигандов в растворе вначале увеличивается, а затем, проходя через максимум, уменьшается и стремится к нулю при дальнейшем увеличении концентрации лигандов в растворе. Вычислены корреляционная функция и спектральная плотность выходного сигнала ДНК-биосенсора. Определены их характерные особенности.

*ДНК-биосенсор – флуктуация и дисперсия выходного сигнала –
спектральная плотность*

Աշխատանքում որոշված են ԴՆԹ-կենսասենսորի ելքային ազդակի ֆլուկտուացիաների վրա լուծույթում լիգանդների ազդեցության առանձնահատկությունները: Դիտարկված է լիգանդներով ԴՆԹ-ի դուպլեքսների կամայական հագեցման դեպքը: Ցույց է տրված, որ ԴՆԹ-կենսասենսորի ելքային ազդակի դիսպերսիան լուծույթում լիգանդների կոնցենտրացիայի աճին զուգընթաց սկզբում աճում է, այնուհետև մաքսիմումով անցնելով նվազում է և լուծույթում լիգանդների կոնցենտրացիայի հետագա աճի դեպքում, ձգտում է զրոյի: Հաշվարկված են ԴՆԹ-կենսասենսորի ելքային ազդակի կորելյացիոն ֆունկցիան և սպեկտրալ խտությունը: Որոշված են դրանց բնութագրական առանձնահատկությունները:

*ԴՆԹ-կենսասենսոր - ելքային ազդակի ֆլուկտուացիա և դիսպերսիա -
սպեկտրալ խտություն*

The peculiarities of the ligand effect on fluctuations of output signal of DNA-biosensors in the solution have been determined in present work. The case of DNA duplex arbitrary fillings with ligands has been observed. It is shown, that at first the dispersion of DNA-biosensor output signal increases with the rising of ligand concentration, then passing through the maximum point tends to zero, with the further rising of ligand concentration. The correlation function and spectral density of the output signal of DNA-biosensor have been calculated. Their characteristic peculiarities have been determined.

DNA-biosensor – fluctuation and dispersion of output signal – spectral density

В последние годы для решения широкого круга биомедицинских проблем, связанных с онкологическими и аутоиммунными заболеваниями, а также для решения задач генетической диагностики [6], стали применяться ДНК-биосенсоры. В ДНК - биосенсорах детектируется взаимодействие олигонуклеотида, закреплен-

ного на поверхности преобразователя сигнала, с комплементарными участками олигонуклеотидов пробы. Происходит процесс гибридизации, т.е. связывание нуклеотидов в устойчивые пары аденин-тимин и гуанин-цитозин с образованием спиральной двуниевой ДНК. Такие взаимодействия отличаются высокой специфичностью. Они позволяют регистрировать не только комплементарное связывание, но и влияние на него различных факторов [7]. Создаваемые ДНК-биосенсоры, подобно другим биосенсорам, обеспечивают быструю и прямую детекцию как с использованием, так и без использования каких бы то ни было меток. Развитие биосенсорных технологий сыграло решающую роль в научно-методическом и технологическом обеспечении расшифровки генома человека [8]. Важной задачей является определение эффективных лекарственных доз противораковых препаратов, отличающихся высокой токсичностью. В связи с этим ДНК-биосенсоры могут служить удобными моделями для изучения процессов *in vitro* в фармакологии как при определении эффективных доз высокотоксичных ДНК-активных фармакологических препаратов, так и при оценке специфичности связывания лекарственных препаратов с ДНК, выяснению механизмов регуляторного или повреждающего их действия на ДНК. С практической точки зрения важным является то обстоятельство, что технологии, связанные с ДНК-биосенсорами, имеют значительные преимущества перед традиционными молекулярно-биологическими методами, т.к. они позволяют миниатюризировать исследуемый образец и анализатор, что значительно снижает стоимость анализа и время его проведения, а также одновременно определять различные параметры исследуемого образца, причем без потери чувствительности. Однако миниатюризация неизбежно приводит к повышению уровня шумов выходного сигнала ДНК-биосенсора. Это связано с общими положениями статистической физики, согласно которым с уменьшением размеров системы увеличиваются относительные флуктуации в физико-химических системах [4], которые часто называют внутренним шумом системы. Внутренний шум влияет на формирование выходного сигнала ДНК-биосенсора. В связи с этим становится актуальным и важным исследование влияния внутреннего шума ДНК-биосенсора на флуктуации выходного сигнала ДНК-биосенсора, определение характерных особенностей этих флуктуаций.

Теоретическая часть. Теоретический расчет влияния внутреннего шума на величину выходного сигнала ДНК-биосенсора проведем в рамках модели формирования выходного сигнала, которая была описана в работе [1]. Считая, что величина выходного сигнала ДНК-биосенсора пропорциональна числу ДНК дуплексов N_d

$$I(t) = I_0 + N_d \beta \cdot x(t), \quad (1)$$

в [1] было показано, что среднее значение выходного сигнала $\overline{I(t)}$ ДНК-биосенсора и его дисперсия $\overline{\Delta I^2}$ равны

$$\overline{I(t)} = I_0 + N_d \beta \cdot \overline{x(t)} \quad (2)$$

$$\overline{\Delta I^2} = N_d^2 \cdot \beta^2 \cdot \overline{\Delta x^2} \quad (3)$$

$$(I_0 = N_d I_d),$$

где I_d – величина выходного сигнала от одного дуплекса; β – коэффициент пропорциональности, который равен изменению величины выходного сигнала при адсорбции одной молекулы лиганда на ДНК дуплексе и имеет размерность выходного сигнала; $\overline{x(t)}$ – среднее число лиган-

дов, адсорбированных на одном ДНК дуплексе; $\overline{\Delta x^2}$ – дисперсия числа лигандов, адсорбированных на одном ДНК дуплексе. Из (2) и (3) видно, что вычисление среднего значения выходного сигнала ДНК-биосенсора и его дисперсии сводится к вычислению среднего числа адсорбированных на ДНК дуплексе лигандов и его дисперсии. В работе [1] среднее значение выходного сигнала ДНК-биосенсора $\overline{I(t)}$ и его дисперсия $\overline{\Delta I^2}$ были вычислены для случая малых заполнений. В данной работе будет рассмотрен более общий случай произвольных заполнений, и, помимо $\overline{I(t)}$ и $\overline{\Delta I^2}$, будут вычислены также корреляционная функция выходного сигнала и его спектральная плотность. Как в [2] принимаем, что число адсорбционных центров на ДНК дуплексе равно числу пар оснований N_p , а один адсорбированный лиганд занимает n подряд расположенных адсорбционных центров на ДНК дуплексе. Используя результаты работы [2], можно написать следующие выражения для стационарного значения среднего числа адсорбированных на ДНК дуплексе лигандов $\left(\overline{x}\right)_{st}$ и дисперсии $\left(\overline{\Delta x^2}\right)_{st}$ в виде

$$\frac{\left(\overline{x}\right)_{st}}{N_p} = \sum_x x \cdot \left(\prod_{z=1}^x \frac{Kc_f(N_p - (z-1)n)^n}{z(N_p - (z-1)(n-1))^{n-1}} \right) \quad (4)$$

$$\frac{\left(\overline{\Delta x^2}\right)_{st}}{N_p} = \sum_x x^2 \cdot \left(\prod_{z=1}^x \frac{Kc_f(N_p - (z-1)n)^n}{z(N_p - (z-1)(n-1))^{n-1}} \right) - \left(\sum_x x \cdot \left(\prod_{z=1}^x \frac{Kc_f(N_p - (z-1)n)^n}{z(N_p - (z-1)(n-1))^{n-1}} \right) \right)^2, \quad (5)$$

где суммирование по x проводится до максимальных заполнений, K – константа равновесия при адсорбции лигандов на ДНК дуплексе, c_f – концентрация лигандов в растворе. Из (2) и (3) с учетом (4) и (5) можно получить следующие стационарные значения выходного сигнала ДНК-биосенсора $\left(\overline{I}\right)_{st}$ и его дисперсии $\left(\overline{\Delta I^2}\right)_{st}$

$$\left(\overline{I}\right)_{st} = I_0 + N_d \beta \cdot N_p \sum_x x \cdot \left(\prod_{z=1}^x \frac{Kc_f(N_p - (z-1)n)^n}{z(N_p - (z-1)(n-1))^{n-1}} \right) \quad (6)$$

$$\begin{aligned} \left(\overline{\Delta I^2}\right)_{st} = & N_d^2 \cdot \beta^2 \cdot N_p \left(\sum_x x^2 \cdot \left(\prod_{z=1}^x \frac{Kc_f(N_p - (z-1)n)^n}{z(N_p - (z-1)(n-1))^{n-1}} \right) - \right. \\ & \left. - \left(\sum_x x \cdot \left(\prod_{z=1}^x \frac{Kc_f(N_p - (z-1)n)^n}{z(N_p - (z-1)(n-1))^{n-1}} \right) \right)^2 \right). \end{aligned} \quad (7)$$

Исходя из (1) и определения корреляционной функции [3], можно найти следующую связь между стационарной корреляционной функцией выходного сигнала ДНК-биосенсора $C_I(t)$ и стационарной корреляционной функцией $C_x(t)$

$$C_I(t) = (N_d \beta)^2 \cdot C_x(t). \quad (8)$$

Стационарную корреляционную функцию $C_x(t)$ вычислим используя теорему регрессии [3]. Согласно этой теореме, стационарная корреляционная функция X определяется как произведение стационарной дисперсии $\left(\overline{\Delta x^2}\right)_{st}$ на временной экспоненциальный релаксационный множитель. В работе [5] вычислено время релаксации где $\overline{r}$ – число

$$\tau = \frac{(1 - \bar{n}r)(1 - (n-1)\bar{r})}{k_{-1}} \quad (9)$$

$$\bar{r} = \bar{x} / N_p ,$$

адсорбированных лигандов на пару оснований ДНК, k_{-1} - константа скорости распада комплекса лиганда с ДНК дуплексом. Учитывая (5), (7), (8), (9) и на основании теоремы регрессии [3], можно выписать следующее окончательное выражение для стационарной корреляционной функции выходного сигнала ДНК-биосенсора

$$C_I(t) = \left(\overline{\Delta I^2} \right)_{st} \times \exp(-t / \tau) . \quad (10)$$

При известном значении корреляционной функции (10) по формуле

$$S_I(\omega) = 2 \int_0^{\infty} \cos(t\omega) C_I(t) dt \quad (11)$$

легко вычислить спектральную плотность выходного сигнала ДНК-биосенсора. Подставив (10) в (11), после несложных вычислений получим

$$S_I(\omega) = \frac{S_I(0)}{1 + (\omega / \omega_c)^2} ,$$

$$S_I(0) = 2(\overline{\Delta I^2})_{st} \cdot \tau, \quad \omega_c = \frac{1}{\tau} . \quad (12)$$

Из (12) видно, что спектральная плотность выходного сигнала ДНК-биосенсора имеет лоренцевский вид. Частота ω_c соответствует той частоте, при которой амплитуда спектральной плотности уменьшается в два раза. Часто эту частоту называют частотой “завала”.

Результаты и обсуждение. Исследуем зависимость выходного сигнала ДНК-биосенсора от концентрации лигандов в растворе. Из (6) и (7) видно, что если в растворе отсутствует лиганд, т.е. когда $C_f = 0$, стационарное значение выходного сигнала ДНК-биосенсора равно I_0 , а стационарное значение дисперсии выходного сигнала равно нулю. Из (6) видно также, что с увеличением концентрации лигандов в растворе C_f выходной сигнал также увеличивается. Представляет интерес сопоставить зависимости относительного увеличения стационарного значения выходного сигнала ДНК-биосенсора от концентрации лигандов в растворе для случая с произвольным заполнением (6) со случаем малых заполнений, полученным в работе [1]

$$(\bar{I})_{st} = I_0 + N_d \beta \cdot \frac{Kc_f N_p}{1 + (2n-1)Kc_f} . \quad (13)$$

На рис.1 представлена зависимость относительного увеличения стационарного значения выходного сигнала ДНК-биосенсора от безразмерной концентрации лигандов в растворе.

Параметр $(N_d \beta \cdot N_p) / I_0$ показывает эффективность влияния адсорбированных лигандов на величину выходного сигнала. С его увеличением растет относительное увеличение стационарного значения выходного сигнала ДНК-биосенсора. Из рис.1 видно, что величина выходного сигнала ДНК-биосенсора монотонным образом зависит от концентрации лигандов в растворе. Из рис.1

видно также, что при малых концентрациях лигандов в растворе зависимости относительного увеличения стационарного значения выходного сигнала ДНК-биосенсора при произвольных и малых заполнениях совпадают.

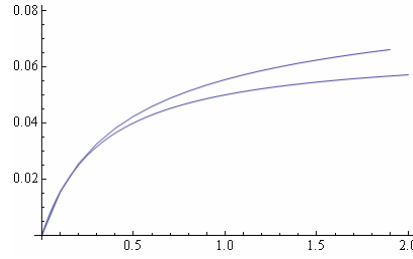


Рис. 1. Зависимость относительного увеличения стационарного значения выходного сигнала ДНК-биосенсора от безразмерной концентрации лигандов в растворе при $n = 2$.

По оси Y отложены $\left(\left(\bar{I}\right)_{st} - I_0\right) / I_0$, по оси X отложены Kc_f .

Верхняя кривая построена по формуле (6), нижняя кривая построена по формуле (13).

На обеих кривых параметр $(N_d \beta \cdot N_p) / I_0 = 0.2$.

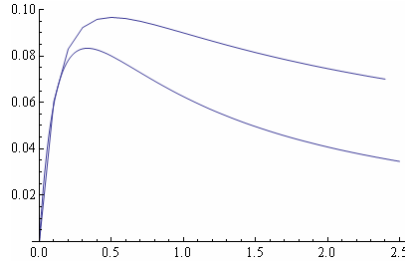


Рис. 2. Зависимость безразмерной стационарной дисперсии выходного сигнала ДНК-биосенсора от безразмерной концентрации лигандов при $n = 2$.

По оси Y отложены $\left(\overline{\Delta I^2}\right)_{st} / (N_d^2 \cdot \beta^2 \cdot N_p)$, по оси X отложены Kc_f .

Верхняя кривая построена по формуле (7), нижняя кривая построена по формуле (14).

При больших концентрациях лигандов в растворе кривая для произвольных заполнений идет выше. Это связано с тем, что при больших концентрациях лигандов в растворе изотерма адсорбции для малых заполнений приближенно описывает процесс адсорбции [2]. Сопоставим зависимости дисперсии выходного сигнала ДНК-биосенсора от концентрации лигандов в растворе для случая с произвольным заполнением (7) со случаем малых заполнений, полученным в работе [1]

$$\left(\overline{\Delta I^2}\right)_{st} = N_d^2 \cdot \beta^2 \cdot N_p \frac{Kc_f}{(1 + (2n - 1)Kc_f)^2} \quad (14)$$

На рис.2 представлена зависимость безразмерной стационарной дисперсии выходного сигнала ДНК-биосенсора от безразмерной концентрации лигандов.

Из рис.2 видно, что дисперсия выходного сигнала немонотонно зависит от концентрации лиганда в растворе. При малых концентрациях лиганда дисперсия растет с увеличением концентрации. Далее с увеличением концентрации лиганда дисперсия достигает максимального значения и при стремлении его к бесконеч-

ности дисперсия стремится к нулю. Из рис.2 видно также, что при малых концентрациях лигандов в растворе кривые зависимости дисперсии выходного сигнала ДНК-биосенсора от концентрации лигандов в растворе при произвольных и малых заполнениях совпадают. При больших концентрациях лигандов в растворе кривая для произвольных заполнений идет выше.

Совместное рассмотрение формул (7), (9) и (10) позволяет исследовать зависимость стационарной корреляционной функции выходного сигнала ДНК-биосенсора от концентрации лигандов в растворе. На рис.3 представлена зависимость стационарной корреляционной функции выходного сигнала ДНК-биосенсора от безразмерного времени при различных значениях безразмерной концентрации лигандов в растворе.

Из рис.3 видно, что с увеличением безразмерного времени стационарная корреляционная функция выходного сигнала ДНК-биосенсора уменьшается и при продолжительности периода времени стремится к нулю. Из рис.3 видно также, что с увеличением концентрации лиганда в растворе корреляционные кривые пересекают ось Y вначале вблизи начала координат, затем с увеличением концентрации координата точки пересечения увеличиваются и при дальнейшем увеличении концентрации лиганда координата пересечения оси Y начинает уменьшаться. Как и ожидалось, такое поведение точки пересечения оси Y согласуется с кривой на рис.2.

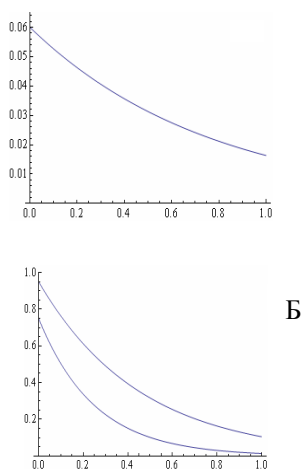


Рис. 3. Зависимость безразмерной стационарной корреляционной функции выходного сигнала ДНК-биосенсора от безразмерного времени при различных значениях безразмерной концентрации лигандов в растворе при $n = 2$.

По оси Y отложены $C_I(t) / (N_d^2 \cdot \beta^2 \cdot N_p)$, по оси X отложены $\tau \cdot k_{-1}$. А. Безразмерная

концентрация $Kc_f = 0.1$. Б. На верхней кривой безразмерная концентрация

$Kc_f = 0.5$, на нижней кривой $Kc_f = 2$.

Представляет интерес зависимость времени релаксации выходного сигнала ДНК-биосенсора от концентрации лигандов в растворе (рис.4).

Из рис.4 видно, что с увеличением безразмерной концентрации безразмерное время релаксации выходного сигнала ДНК-биосенсора уменьшается.

Часто экспериментально удобно измерять спектральную плотность. По этой причине приведем графики спектральной плотности выходного сигнала, соответствующие их корреляционным функциям, изображенным на рис.3.

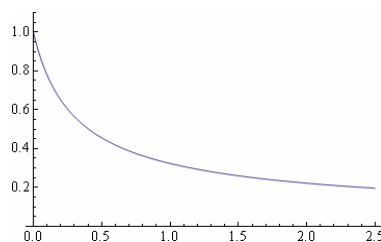


Рис. 4. Зависимость безразмерного времени релаксации выходного сигнала ДНК-биосенсора от концентрации лигандов в растворе при $n = 2$.

По оси Y отложены $\tau \cdot k_{-1}$, по оси X отложены Kc_f .

На рис.5 представлены спектральные плотности выходного сигнала ДНК-биосенсора при различных значениях концентрации лигандов в растворе.

Из рис.5 видно, что с увеличением концентрации лиганда в растворе амплитуда спектральной плотности выходного сигнала вначале растет, а затем при дальнейшем увеличении концентрации лигандов в растворе уменьшается. Такое поведение амплитуды согласуется с кривыми на рис.4. Из рис.5 видно также, что с увеличением концентрации лигандов в растворе частота “завалов” на кривых сдвигается в область больших частот.

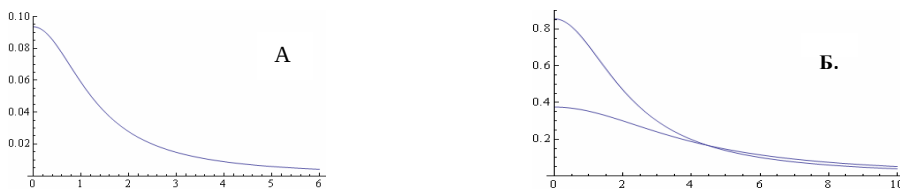


Рис. 5. Зависимость спектральной плотности выходного сигнала ДНК-биосенсора от частоты при $n = 2$. По оси Y отложены $S_I(\omega) \cdot k_{-1} / (N_d^2 \cdot \beta^2 \cdot N_p)$, по оси X отложены ω / k_{-1} . А. Безразмерная концентрация $Kc_f = 0.1$ Б. На верхней кривой безразмерная концентрация $Kc_f = 0.5$, на нижней кривой $Kc_f = 2$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аветисян Г.А. Влияние внутреннего шума на выходной сигнал ДНК-биосенсора. МАНЭБ, 2010.
2. Аракелян В.Б., Бабаян С.Ю., Таирян В.И., Аракелян А.В., Парсаданян М.А., Вардеванян Р.О. Кинетика связывания лигандов с нуклеиновыми кислотами при произвольном связывании. Биофизика, 51, 3, с.370-375, 2006.
3. Ван Кампен Н.Г. Стохастические процессы в физике и химии. М., Высш. шк. 1990.
4. Кубо Р. Статистическая механика. М., 1967.
5. Arakelyan V. B., Babayan Yu. S., Tairyan V.I., Arakelyan A.V., Parsadanyan M.A., Vardevanyan P.O. Kinetics of ligand binding to nucleic acids. J. Biomol. Str. Dyn., 23, 4, p.479-484, 2006.
6. Domany E. Analysis of DNA-chip and antigen chip data: studies of cancer, stem cells and autoimmune diseases. Comp. Phys. Commun., 169, p.183-187, 2005.
7. Ihara T., Takata J., Takagi M. Novel method of detecting mismatch on DNA by using photo-induced electron transfer through DNA. Anal. chem. acta, 365, p.49-54, 1998.
8. Mockler T.C., Chan S., Sundaresan A., Chen H., Jacobsen S.E., Ecker J.R. Applications of DNA tiling arrays for whole-genome analysis. Genomics, 85, p.1-15, 2005.

Поступила 19.07.2010.



Биол. журн. Армении, 3 (62), 2010

ВЛИЯНИЕ ВНЕШНЕГО ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКОГО ПОЛЯ НА АКРОСОМАЛЬНЫЙ СТАТУС СПЕРМАТОЗОИДОВ КРЫС

Г.В. СААКЯН, А.В. ЗИЛЬФЯН, Г.Г. АРЦРУНИ

ЕГМУ, лаборатория биохимических и биофизических исследований, НИЦ

Исследовано влияние электростатического поля (ЭСП) на количество и акросомальный статус эпидидимальной спермы крыс. Спектральными и иммуноморфологическими исследованиями показано, что одночасовое воздействие ЭСП напряженностью 200кВ/м приводит к повышению количества жизнеспособных сперматозоидов в хвостике эпидидимиса крыс, но одновременно снижает оплодотворяющую способность гамет в результате повреждения их акросомального аппарата.

Электростатическое поле – сперматозоид – акросома - FITC-PNA

Ուսումնասիրվել է 200 կՎ/մ լարվածությամբ էլեկտրաստատիկ դաշտի (ԷՄԴ) ազդեցությունը առնետների էպիդիդիմալ սպերմատոզոիդների քանակի ևակրոսոմային ստատուսի վրա: Սպեկտրալ և իմունամորֆոլոգիական հետազոտությունների արդյունքում պարզվել է, որ ԷՄԴ-ի մեկժամյա ազդեցությունից հետո առնետների էպիդիդիմիսի պոչիկում կենսունակ սպերմատոզոիդների քանակը աճում է, սակայն, միաժամանակ, վերջիններիս ակրոսոմային ապարատի վնասման հետևանքով, նվազում է գամետների բեղմնավորման ընդունակությունը:

Էլեկտրաստատիկ դաշտ - սպերմատոզոիդ - ակրոսոմ - FITC-PNA

The influence of 200 kV/m electrostatic field (ESF) on the quantity and acrosomal status of rat epididymal spermatozooids is investigated. As a result of spectral and immunomorphological investigations it is shown that the one-hour influence of ESF leads to the increase in the quantity of viable spermatozooids in rat cauda epididymis, but, simultaneously, the fertilization capacity of gametes due to disruption of their acrosome decreases.

Electrostatic field – spermatozoid – acrosome - FITC-PNA

Повышение мужского бесплодия в последние десятилетия, по мнению многих исследователей, обусловлено появлением новых экологических факторов [8, 9]. Среди антропогенно измененных физических факторов внешней среды как по распространенности, так и по динамичности изменений выделяются электростатические поля (ЭСП) вышефоновых напряженностей.

Ранее нами было показано, что влияние ЭСП приводит к изменениям структурно-функционального состояния сперматозоидов, в частности к изменениям фосфолипидного состава спермальных мембран и количества жизнеспособных гамет в эпидидимисе [17]. Однако для более полной характеристики функционального состояния сперматозоидов необходимо исследовать их акросомальный статус, так как интактная акросома является необходимым условием оплодотворяющей способности сперматозоидов [9, 14].

Целью данной работы являлось исследование влияния ЭСП на акросомальный статус эпидидимальной спермы крыс.

Материал и методика. Опыты проводили на 12-15-недельных белых беспородных крысах-самцах массой 130-150 г. Как для контрольных, так и для опытных животных были созданы одинаковые пищевые, световые и тепловые условия. ЭСП создавали при помощи установки конденсаторного типа с контролируемыми параметрами поля [1]. Объектом исследований служили сперматозоиды, выделенные из хвостика эпидидимиса крыс, подвергшихся одночасовому воздействию ЭСП напряженностью 200 кВ/м.

Выделение жизнеспособных сперматозоидов из придатка эпидидимиса было проведено методом [11]. Сразу после декапитации извлекали эпидидимисы животных, отделяли хвостики. Измельченную ткань хвостика взвешивали и инкубировали в растворе Ringer/Tris в соотношении 1мг : 9мл в течение 30 мин при температуре 4°. Полученную массу фильтровали для отделения больших частиц ткани. Раствор отмывали при температуре +4° в течение 10 мин, вначале при 130×g для осаждения мелких частиц ткани, после – при 650×g для выделения сперматозоидов в виде осадка.

Функциональное состояние сперматозоидов определяли оптическим методом при помощи витального красителя [10]. Сущность метода состоит в том, что жизнеспособные сперматозоиды в метаболически активном состоянии способны превратить резазурин темно-синего цвета в резазурин розового цвета. Доказано, что количество редуцированной краски, следовательно и оптическая плотность, прямо пропорциональны подвижности спермы и количеству морфологически нормальных жизнеспособных сперматозоидов.

Сразу после воздействия поля к выделенным из хвостика эпидидимиса сперматозоидам добавляли раствор Ringer/Tris (0,11M NaCl, 2млM KCl, 1,4 млM CaCl₂, 10 млM Tris, pH 7,2) и краситель в соотношении 1:100. Полученную смесь инкубировали в термостате при температуре 48-50° в течение 60 мин, охлаждали до комнатной температуры и измеряли оптическую плотность на спектрофотометре (СФ-24) при длине волны 610 нм. Для каждого опыта использовали 12 контрольных и 12 подопытных животных.

Акросомальный статус выделенных гамет определяли методом количественной иммуноморфологии при помощи FITC-PNA (Fluorescein Isothiocyanate-Conjugated Peanut Agglutinin; Sigma) метки, описанной в работе [16]. Сразу после выделения гамет из полученного сперматозоид-содержащего осадка брали по 1мл как для контрольных, так и для опытных образцов. Наносили на предметное стекло, высушивали, добавляли 20μл FITC-PNA и инкубировали в темноте при 4° в течение 15 мин, промывали в холодном фосфатном буфере и высушивали в темноте при комнатной температуре. На полученный препарат наносили фиксирующую среду (4,5мл глицерин, 0,5мл фосфатный буфер, 5мг р-фениленедиамин) и плотно покрывали покровным стеклом. Исследования проведены при помощи люминесцентного микроскопа Воесо (Германия). Микросъемки проводили при помощи цифрового аппарата Canon (Япония). На рис. 1 в качестве примера приведена иллюстрация интактных сперматозоидов, окрашенных данным методом, согласно которому метка избирательно связывается с мембраной акросомального аппарата сперматозоидов и приводит к специфическому ярко-зеленому свечению в участках локализации акросомального аппарата.

Количественно-флуоресцентный анализ проводили на люминесцентном микроскопе ЛЮАМ-ИЗ (ЛМО) при помощи флуоресцентной насадки ФМЭЛ-1А (Россия). Было исследовано по 6 препаратов с каждой группы. В каждом препарате было подсчитано по 100 сперматозоидов. Интенсивность флуоресценции – специфическую эмиссию выражали в условных единицах (у.е.).

Результаты и обсуждение. Результатами спектральных исследований с использованием резазурина, проведенных сразу после воздействий ЭСП, показано, что одночасовое воздействие поля приводит к достоверному повышению оптической плотности сперматозоид-содержащего раствора на 45.85%, что свидетельствует об увеличении количества жизнеспособных гамет в эпидидимисе после воздействия поля (рис. 2).

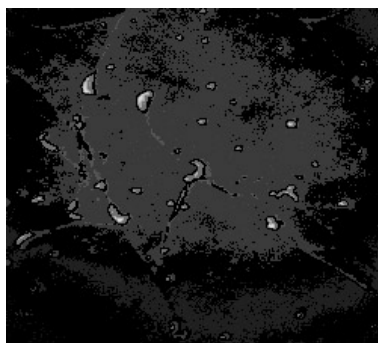
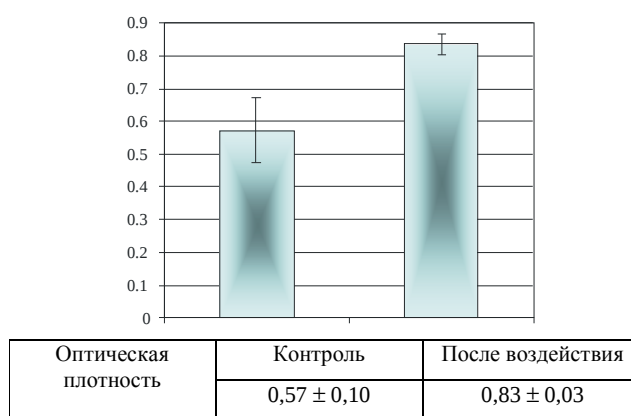


Рис.1. Специфическая эмиссия в акросомальных локусах сперматозоидов обработанных FITC-PNA, об. 40, ок. 10



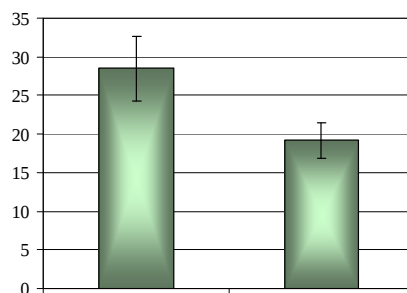
$p < 0.01$

Рис. 2. Изменение оптической плотности сперматозоид-содержащего раствора после однократного воздействия ЭСП напряженностью 200 кВ/м

Количественно-флуоресцентный анализ показал, что воздействие ЭСП приводит к снижению интенсивности специфического свечения в локусах локализации акросомы на 32.6% по сравнению с контролем (рис.3), что свидетельствует о понижении в эпидидимисе количества сперматозоидов с интактной акросомой (рис. 4).

Известно, что сперматозоиды, выделенные из семенников и начальных отделов эпидидимиса, не имеют оплодотворяющую способность и координированную подвижность. Они полностью созревают и становятся жизнеспособными только в хвостике эпидидимиса [12, 13]. Исходя из этого, нами в качестве объекта исследований использовались сперматозоиды, выделенные из хвостика эпидидимиса.

Ранее нами было показано, что однократное воздействие ЭСП напряженностью 200 кВ/м приводит к таким изменениям структурно-функционального состояния семенников и количества гормонов, участвующих в регуляции сперматогенеза, которые активизируют гаметогенез в семенниках крыс [5, 6]. В частности, в просветах семенных канальцев было выявлено заметное повышение количества сперматозоидов по сравнению с контролем.



0.05 > p > 0.025

Специфическая эмиссия, у.е.	Контроль	После воздействия
	28.5 ± 4,2	19,21 ± 2,3

Рис. 3. Изменение специфической эмиссии в акросомальных локусах сперматозоидов, обработанных FITC-PNA после одночасового воздействия ЭСП напряженностью 200 кВ/м

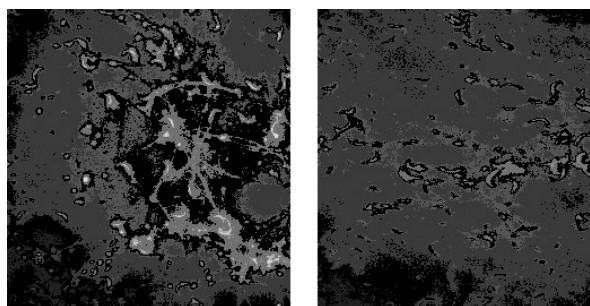


Рис. 4. Специфическая эмиссия в акросомальных локусах сперматозоидов, обработанных FITC-PNA после одночасового воздействия ЭСП напряженностью 200 кВ/м, об. 40, ок.10
а/ контроль,
б/ после воздействия

Результаты спектрального анализа, приведенные в данной работе, согласно которым после одночасового воздействия поля оптическая плотность, следовательно и количество жизнеспособных сперматозоидов, достоверно повысились, полностью согласуются с вышеприведенными данными.

Можно предположить, что при воздействии поля имеет место повышенный выброс сперматозоидов из семенников в эпидидимис. Это наше предположение опирается на работы, в которых показано, что кратковременное воздействие ЭСП приводит к выбросу секретируемых веществ [2, 3, 15].

Нужно отметить, что концентрация и подвижность сперматозоидов сами по себе не могут служить параметром оплодотворяющей способности мужских гамет. Для полноценной оценки влияния ЭСП на функциональную активность сперматозоидов нужно исследовать более определяющие показатели, одним из которых является акросомальный статус гамет [9, 14].

Известно, что акросома находится на головке сперматозоида в виде колпачка и представляет собой видоизмененный аппарат Гольджи. В нем синтезируются факторы, которые растворяют клеточную стенку яйцеклетки. Очевидно, что отсутствие интактной акросомы указывает на потерю оплодотворяющей способности сперматозоида [7, 9, 14].

Как показали результаты проведенных иммуноморфологических исследований, после одночасового воздействия ЭСП заметно снижается интенсивность специфического свечения в акросомальных локусах гамет, что свидетельствует о понижении в эпидидимисе количества сперматозоидов с интактной акросомой. Это может быть как следствием непосредственного влияния изучаемого фактора на мембранные структуры акросомального аппарата, так и результатом нарушения процессов созревания гамет в хвостике эпидидимиса при воздействии поля. Выдвинутые нами предположения опираются на многочисленные литературные данные, свидетельствующие об изменении мембранных структур под воздействием ЭСП [4, 18, 19, 20], и наши предыдущие исследования [17], в которых показано, что воздействие данного фактора приводит к таким изменениям липидного состава мембран эпидидимиальных сперматозоидов, которые указывают на нарушения процессов созревания гамет в эпидидимисе.

Говорить о конкретных механизмах повреждения акросомального аппарата в результате воздействия исследуемого поля на данном этапе невозможно, однако можно констатировать, что одночасовое воздействие ЭСП приводит к нарушению акросомального статуса сперматозоидов и, следовательно, к уменьшению их оплодотворяющей способности.

Сопоставление полученных данных с литературными и результатами наших предыдущих работ позволяет заключить, что одночасовое воздействие ЭСП напряженностью 200 кВ/м приводит к увеличению выброса гамет из семенников и тем самым повышает количество сперматозоидов в хвостике эпидидимиса, но при этом снижает оплодотворяющую способность гамет вследствие повреждения их акросомального аппарата.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Арируни Г.Г.* Камера для изучения действия ЭСП на мелкие лабораторные животные. Удост. на рац. предложение, № 134, 1983.
2. *Арируни Г., Зильфян А., Азгалдян Н., Довлатян Р.* Влияние внешнего электростатического поля на секрецию катехоламинов надпочечниками крыс. Косм. биол. и авиакосм. медицина, 6, с. 67-70, 1987.
3. *Арируни Г., Довлатян Р., Авакян Л.* Влияние электростатического поля на структурное и функциональное состояние коры надпочечников. Ж. авиакосм. и эколог. медицины, 30, 1, с. 58-60, 1996.
4. *Арируни Г., Тадевосян Ю., Батикян Т.* Качественно-количественный состав и деацилирование фосфолипидов мембран митохондрий крыс после воздействия электростатического поля. Мед. наука Армении, *XLI*, 1, с. 51-56, 2004.
5. *Довлатян Р., Авакян Л., Арируни Г.* Влияние внешнего электростатического поля на структурно-функциональное состояние семенников крыс. Мед. наука Армении, *XLIV*, 2, с. 33-37, 2004.
6. *Саакян Г.В., Арируни Г.Г.* Влияние электростатических полей на уровень половых гормонов. Арм. биолог. Ж., 1-2, с. 80-84, 2006.
7. *Barros C., J. Meléndez, M. Valdivia, M. Ríos, R. Yunes.* Sperm passage through the egg coats. Biol Research, 26, 417-427, 1993.
8. *Carlson E., Giwercman A., Keiding N., Skakkebaek N.* Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. British Medical Journal, 305, 6854, 609-613, 1992.
9. *Dohle G., Jungwirth A., Colpi G., Giwercman A., Diemer T., Hargreave T.* Guidelines on Male Infertility. European Association of Urology, 2008.
10. *Ericsson R., Ericsson S.* Kit for testing human males for fertility. US Patent Issued on November 26, 1991.
11. *Gustavo A., Barisone, Hedrick J., Cabada M.* Vitelline Envelope of Bufo arenarum: Biochemical and Biological Characterization. Biology of Reproduction 66, 1203-1209, 2002.

12. Hall J., Hadley J., Doman T. Correlation between changes in rat sperm membrane lipids, protein, and the membrane physical state during epididymal maturation. *Journal of Andrology*, 12, 1, 76-87, 1991.
13. Jones R., Mann T., Sherins R. Peroxidative breakdown of phospholipids in human spermatozoa. Spermicidal properties of fatty acid peroxides, and protective action of seminal plasma. *Fertil Steril* 31, 531-537, 1979.
14. Miyake M., Coney P., Iritani A., Kling O. Motility and fertilizing ability of rat epididymal spermatozoa washed by a continuous gradient of Percoll. *Gamete Res.*, 24, 49-57, 1989.
15. Roshenkech K. Evaluation of the electrostatic strength at the site of oocytosis in adrenal chromaffin cells. *Biophys. J.*, 75, 3, 1237-1243, 1998.
16. Roth T., Weiss R., Buff J., Bush L., Wildt D., Bush M. Heterologous in vitro fertilization and sperm capacitation in an endangered African antelope, the scimitar-horned oryx (*Oryx dammah*). *Biol.Reprod.* 58, 475- 482, 1998.
17. Sahakyan G.V., Batikyan T.B., Artsruni G.G. The Influence of Electrostatic Fields on Structural and Functional State of Epididymal Spermatozoids. *The New Armenian Medical J.*, 2, 4, 75-84, 2008.
18. Starke-Peterkovic T., Turner N., Else P.L., Clarke R.J. Electric field strength of membrane lipids from vertebrate species: membrane lipid composition and Na⁺-K⁺-ATPase molecular activity. *Am. J. Physiol.*, 288, 663-670, 2005.
19. Vasilkoski Z. The effect of electric fields on lipid membranes. *Biological Physics*, 1, 15-22, 2006.
20. Wilkea N., Maggio B. Effect of externally applied electrostatic fields on the surface topography of ceramide-enriched domains in mixed monolayers with sphingomyelin. *Biophysical Chemistry*, 122, 1, 36-42, 2006.

Поступила 12.05.2010.



Биол. журн. Армении, 3 (62), 2010

ТОКСИЧНОСТЬ ДИМЕТИЛВИНИЛЭТИНИЛКАРБИНОЛА ПРИ ОДНОКРАТНОМ И МНОГОКРАТНОМ ВОЗДЕЙСТВИЯХ

Ф.Р. ПЕТРОСЯН, Э.С. ВОСКАНЯН, В.С. ВОСКАНЯН, А.М. АГАБЕКЯН

ЗАО “Завод-Наирит”, Армянский гос.экономический университет

В однократных и многократных экспериментах на белых крысах и мышях карбинол обладает умеренно выраженной токсичностью кожно-раздражающим и слабо выраженным раздражающим действием на кожу. При его многократном воздействии выявлены слабо выраженные кумулятивные свойства.

*Диметилвинилэтинилкарбинол – однократное и многократное
воздействие – порог*

Կենդանիների վրա տարբեր ուղիներով միանվագ և բազմանվագ ներմուծելու պայմաններում կարբինոլը օժտված է չափավոր թունավորությամբ և վտանգավորությամբ, այդ թվում մաշկառեգործիկ և պոտենցիալ գոնադոտոքսիկ հատկություններով: Կարբինոլի տեղական գրգռիչ և կումուլյատիվ հատկությունները թույլ են արտահայտված:

Դիմեթիլվինիլէթինիլկարբինոլի միանվագ և բազմանվագ ազդեցությունն ընդես

Carbinol has moderate toxicity and danger in case of momentary input into animals in different ways, as well as shows body-rezorb and potential gonadotoxic abilities.

Locally irritable and cumulative abilities in carbinol are poorly manifested.

Dimetilviniletinilcarbinol – single and repeated experiments – threshold

Диметилвинилэтинилкарбинол (2-метилгексин-3-ен-5-ол-2; карбинол; C_7H_9OH) является ненасыщенным винилацетиленовым одноатомным спиртом. Применяется в органическом синтезе для получения лекарственных препаратов, в частности препарата промедола. Широко известны клеи на основе карбинола, которые применяются в производстве оптико-механических и аналитических приборов.

Карбинол получается из моновинилацетилена и ацетона. В настоящее время в ЗАО “Завод-Наирит” функционирует опытно-промышленное производство карбинола.

Карбинол – бесцветная жидкость с характерным резким запахом, молекулярная масса 110,16, удельная масса 0,892 (20^0), температура кипения 145^0C , упругость паров 3,24 мм рт.ст., летучесть 19540 мг/м³, растворимость в воде 0,072 г/л, коэффициент преломления 1,4786, коэффициент распределения масло/вода 8928. Благодаря содержанию двойной и тройной связи, карбинол химически очень активное вещество, вступает в многочисленные реакции [4].

В литературе имеются данные о токсических свойствах карбинола [1, 2], однако эти эксперименты проведены с техническим карбинолом, содержащим 80% продукта, а также толуол, стабилизатор неозон Д, ацетон и др.

Целью нашей работы являлось изучение токсических свойств чистого карбинола при однократном и многократном воздействии его для сравнения с аналогичными данными технического карбинола и уточнения существующей ПДК этого соединения, установленной на уровне $0,05 \text{ мг/м}^3$.

Материал и методика. Работа проведена на 206 белых крысах, 96 белых мышах и 5 кроликах. Токсичность карбинола в острых опытах изучали при ингаляции, введении в желудок и нанесении на неповрежденную кожу. Ингаляционные опыты проводили на мышах в 20-литровых тарах и на крысах – в 750-литровых затравочных камерах при экспозиции, 2 и 4 ч соответственно. Карбинол вводили в желудок с 0,2 мл подсолнечного масла. Для изучения кожно-резорбтивного действия 2/3 хвоста животных опускали в сосуд с исследуемым веществом, термостатированным при $28-29^\circ\text{C}$. При изучении местного раздражающего действия 0,1 мл карбинола наносили на выстриженную кожу спины кролика площадью $10-12 \text{ см}^2$. На слизистую оболочку глаз кролика наносили каплю вещества и следили за местной и общей реакцией животного. Расчет среднесмертельных эффектов карбинола проводили по методу Прозоровского [5]. Пороги однократного действия карбинола определяли на крысах по суммационно-пороговому показателю (СПП), потреблению кислорода, работоспособности, гексеналовому сну, активности микросомальных ферментов печени и гонадотоксическому эффекту. Определение порогов раздражающего действия и ощущения запаха проводили на людях-добровольцах.

Кумулятивные свойства карбинола изучали на крысах при 30-кратном введении в желудок его масляных растворов на уровнях 1/5, 1/10, 1/20 и 1/50 ЛД_{50} [5]. Цифровые данные обрабатывали статистически и оценивали по критерию Стьюдента-Фишера [3]. По завершению острых опытов при повторной интоксикации внутренние органы животных подвергали патоморфологическому исследованию.

Результаты и обсуждение. При однократном введении в желудок крыс среднесмертельная доза (ЛД_{50}) карбинола составила 1250 мг/кг , а у мышей – 460 мг/кг . По этому показателю карбинол относится к III классу химических соединений (умеренно токсичные и умеренно опасные) [5]. Среднесмертельная концентрация (ЛК_{50}) карбинола в ингаляционных опытах для мышей рассчитана на уровне 6142 мг/м^3 . В аналогичных опытах насыщающая концентрация карбинола (19540 мг/м^3) не вызывала гибель крыс. Среднесмертельное время (ЛТ_{50}) карбинола установлено для крыс на уровне 312 мин, что указывает на его умеренно выраженное кожно-резорбтивное свойство.

Карбинол обладает слабовыраженным местным раздражающим свойством. Так, внесение капли вещества в конъюнктивальный мешок глаза кролика вызывало беспокойство животного, слезотечение и проходящую гиперемию конъюнктивы. При нанесении карбинола на кожу спины кроликов, а также кожу хвоста крыс отмечена гиперемия кожи, проходящая через 4-5 дней.

Симптомы острого отравления независимо от пути введения карбинола идентичны. В начале экспозиции наблюдается шатающаяся походка с нарушением координации движения. Через час отмечались глубокое и замедленное дыхание, парез задних конечностей. Через 2-3 ч животные принимали боковое положение. Гибель животных наступала через 2-7 дней после введения карбинола.

При патоморфологическом исследовании органов животных, подвергнутых острой интоксикации карбинолом, выявлялись умеренно выраженные структурные нарушения. При этом в головном мозге наблюдались полнокровие сосудов мягкой мозговой оболочки и слабовыраженные дистрофические изменения нейроцитов коры. В печени, на фоне выраженных гемодинамических нарушений, обнаруживались белковая дистрофия, некробиоз и кариорексис многих гепатоцитов. В почках – слабовыраженная белковая дистрофия нефроцитов.

Пороговая концентрация однократного интегрального действия ($Lim_{ac.sp.}$) карбинола у крыс определялась на уровне 503 мг/м^3 – по снижению уровня потребления кислорода. Порог однократного гонадотоксического действия ($Lim_{ac.sp.}$) его у крыс-самцов оказался на уровне 250 мг/м^3 (по уменьшению концентрации сперматозоидов), что почти в 2 раза ниже порога острого интегрального действия. Это в целом указывает на возможность повреждения мужской репродуктивной функции при длительном контакте с этим токсикантом.

Пороги запаха и раздражающего действия карбинола у людей-добровольцев оказались на уровне, соответственно 286 и 640 мг/м^3 .

Исследование кумулятивных свойств карбинола при повторном 30-кратном внутрижелудочном введении крысам 1/5, 1/10, 1/20 и 1/50 LD_{50} , выявило слабовыраженную функциональную кумуляцию, которая характеризуется достоверным сокращением продолжительности гексеналового сна животных при дозе 1/5 LD_{50} , а также значимым повышением массовых коэффициентов печени, селезенки и тимуса в дозе 1/10 LD_{50} .

При патоморфологическом исследовании внутренних органов животных, подвергнутых повторной интоксикации карбинолом в дозах 1/5 и 1/10 LD_{50} наблюдались: в головном мозге – полнокровие; в миокарде – зернистая дистрофия кардиомиоцитов; в легких – утолщение межальвеолярных перегородок и пролиферация подэпителиальных лимфофолликулов, косвенно указывающих на частичное выведение яда через дыхательную систему; в печени – застойное полнокровие, лимфоидная инфильтрация вокруг сосудов и желчных ходов, реже – зернистая дистрофия гепатоцитов; в почках – полнокровие, отек и сморщивание сосудистых клубочков.

Сравнительный анализ результатов наших исследований и данных литературы [1, 2] показал, что технический, неочищенный карбинол обладает более выраженным токсическим эффектом, в том числе местным раздражающим действием, чем чистый 99%-ный (табл. 1). По LD_{50} у крыс и LK_{50} у мышей технический карбинол соответственно в 2 и 200 раз токсичнее чистого продукта, что мало вероятно, тем более в наших исследованиях при ингаляционном отравлении насыщающей концентрацией карбинола (19510 мг/м^3) гибель крыс не отмечена. С другой стороны, в составе технического карбинола содержатся в большом количестве толуол и ацетон, которые обладают слабовыраженными токсическими свойствами: толуол вызывает гибель мышей при концентрации $30\text{--}35000 \text{ мг/м}^3$, а ацетон – при 150000 мг/м^3 [1, 2]. Раздражающее свойство технического карбинола можно объяснить только наличием в его составе толуола.

Таблица 1. Токсикометрические показатели чистого и технического карбинола

Показатели	Технический карбинол [1, 2]	Чистый карбинол
LD_{50} , крысы, мг/кг	600	1250
LD_{50} , мыши, мг/кг	590	460
LK_{50} , мыши, мг/м ³	30	6192
LT_{50} , крысы, мин	-	312
$Lim_{ac.int.}$, мг/м ³	-	503
$Lim_{ac.sp.}$, мг/м ³	-	250
Порог раздражающего действия, мг/м ³	-	640
Порог запаха, мг/м ³	-	286
Кумулятивное свойство	среднее	слабое

Таким образом, в острых опытах на животных при различных путях поступления в организм чистый карбинол обладает умеренной токсичностью. Раздражающее действие на кожу и слизистые оболочки, а также кумулятивные свойства этого вещества при многократном воздействии слабо выражены.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вредные вещества в промышленности. Под ред. *Н.В.Лазарева, Э.Н.Левиной*. Том 1, М., с. 98-102, 381-382, 529-533, 1976.
2. *Измеров Н.Ф.* и др. Параметры токсикометрии промышленных ядов при однократном воздействии. Справочник. М., 1977.
3. *Лакин Г.Ф.* Биометрия. М., Высшая школа, 1980.
4. Назаров И.Н. Избранные труды. М., 1961.
5. Общая токсикология. Под ред. *Б.А.Курляндского, В.А.Филова*. М., 2002.

Поступила 10.09.2009.



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 3(62), 2010

**ԻՐԱՆԻ ՍԱՐԻ ՔԱՂԱՔԻ ԱՇԱԿԵՐՏՆԵՐԻ ԿԵՆՏՐՈՆԱԿԱՆ
ՀԵՄՈԴԻՆԱՄԻԿԱՅԻ ՑՈՒՑԱՆԻՇՆԵՐԻ
ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԲՆՈՒՅԹԸ ՈՒՍՈՒՄՆԱԿԱՆ
ԾԱՆՐԱԲԵՌՆՎԱԾՈՒԹՅԱՆ ԴԻՆԱՄԻԿԱՑՈՒՄ**

Ռ. ԳՈԼԻՍՔԱՐԴԻ

Երևանի պետական լսարան,

S. Մուշեղյանի անվան մարդու և կենդանիների ֆիզիոլոգիայի ամբիոն

Ուսումնասիրվել է Իրանի Սարի քաղաքի տաղանդավոր երեխաների դպրոցի 9-րդ դասարանի աշակերտների (15 տարեկան) կենտրոնական հեմոդինամիկայի ցուցանիշների փոփոխությունները օրական, շաբաթական և տարեկան ուսումնական ծանրաբեռնվածության պայմաններում: Որոշվել է աշակերտների պատկանելիությունը էքստրա-, ինտրավերտներին և նեյրոտիզմի մակարդակը ըստ Այզենկի, անհատական անհանգստության մակարդակը՝ ըստ Սպիլբերգերի: Բացահայտվել է, որ օրական մտավոր ծանրաբեռնվածության ժամանակ զարգանում են հոգնածության նշաններ, որոնք գումարվում են շաբաթական և տարեկան ծանրաբեռնվածությունների դինամիկայում ու առավել արտահայտված են տղաների մոտ: Հայտնաբերվել է վիճակագրորեն հավաստի համահարաբերակցություն հետազոտվողների հեմոդինամիկայի ցուցանիշների մեծության և անհատական անհանգստության մակարդակի միջև:

Հեմոդինամիկա - արյան ճնշում - արյան սիստոլային ծավալ - արյան րոպեական ծավալ

Изучено изменение показателей центральной гемодинамики учащихся 9-го класса (15 лет) школ одаренных детей г. Сари (Иран) при однодневной, недельной и годовой учебных нагрузках. Определялись принадлежность к экстра-, интровертам, уровни нейротизма по Айзенку, личностной тревожности по Спилбергеру. Установлено, что под воздействием однодневной умственной нагрузки развиваются признаки утомления, кумулирующего в динамике недельной и годовой нагрузок, наиболее выраженные у мальчиков. Выявлена достоверная корреляция между уровнем гемодинамических показателей и личностной тревожности испытуемых.

Гемодинамика - кровяное давление - систолический объем крови - минутный объем крови

The dynamics of central hemodynamic indicators of male and female students of 9th grade (15 years old) at the school for gifted children of Sari city (Iran) during one-day, one-week and one-year long academic load was studied. Belonging to extra and introverts, level of neuroticism by Eysenck and anxiety by Spielberg was detected as well. It was determined that in case of one-day mental workload tiredness is registered that is being cumulated during one-week and one-year workload, which is more prominent in male study participants. There is a statistically significant relationship between hemodynamic indicators and level of anxiety of the studied participants.

Hemodynamics - blood pressure - blood systole volume - blood minute volume.

Լարված մտավոր գործունեությունն առաջացնում է դպրոցականների առողջական վիճակի լուրջ փոփոխություններ՝ կապված ուսումնառության ինտենսիվացման, դասավանդման նոր մեթոդների ներդրման, մեծ ծանրաբեռնվածության, անբավարար շարժողական ակտիվության, քննական սթրեսային իրավիճակների հետ [9, 12, 13, 16, 18]: Ուսումնական ծանրաբեռնվածությունը, հատկապես ավագ դպրոցներում, հնարավորություն չի ընձեռում աշակերտներին շարժվել և քնել այնքան, որքան նախատեսված է այդ տարիքի երեխաների բնականոն զարգացման համար: Այն անդրադառնում է նրանց ինքնազգացողության վրա: Լարված մտավոր գործունեությունն ուղեկցվում է նաև հոգեհուզական լարվածությամբ, ներոտիզմով, որի հետևանքով դեռահասների մոտ կարող են առաջանալ անբարենպաստ ֆիզիոլոգիական և հոգեբանական հետևանքներ: Չնայած օրգանիզմի գործառական համակարգերի փոփոխություններն ապահովում են արտաքին միջավայրի գործոնների նկատմամբ հարմարողականության առաջացում, սակայն կարգավորող մեխանիզմների նյարդա-ներգատական վերակառուցումը հաճախ առաջացնում է ոչ ադեկվատ պատասխան արտաքին ազդակների նկատմամբ, ինչպիսին մտավոր ծանրաբեռնվածությունն է: Վերջինս պահանջում է հիշողության, ուշադրության, մտավոր լարվածություն, քանի որ ուսուցումը կապված է նոր, լայնածավալ տեղեկատվության անընդհատ ընկալման հետ:

Դպրոցականները կազմում են մտավոր աշխատանքով զբաղվողների մեծաքանակ խումբ, որոնց գործունեությունը բնութագրվում է մեծ ու անհավասարաչափ ծանրաբեռնվածության առկայությամբ: Այն հատկապես դրսևորվում է վարժարաններում, ձեմարաններում, տաղանդավոր երեխաների դպրոցներում: Նշված հաստատություններում դիտվում է սնման և հանգստի ռեժիմների խախտում, ինչը բերում է գերհոգնածության, գիտելիքների յուրացման ընդունակության նվազման և վերջին հաշվով դառնում հարմարման գործընթացների խանգարման ու ախտաբանական երևույթների առաջացման պատճառ: Նոր տիպի ուսումնական հաստատություններում սովորող դպրոցականների առողջական վիճակի վերաբերյալ գրական տվյալները հակասական են: Համաձայն որոշ հեղինակների հետազոտությունների, նոր տիպի կրթական համակարգերում սովորողների մոտ առողջական վիճակի շեղումներ չեն հայտնաբերվել [8,14]: Սակայն բազմաթիվ աշխատանքներում նշվում է մասնագիտացված ուսում-նական հաստատություններում սովորողների առողջական վիճակի զգալի վատթարացում [1, 5, 7, 10, 11, 17, 19]:

Վերջին տարիներին ինչպես Հայաստանի Հանրապետությունում, այնպես էլ Իրանի Իսլամական Հանրապետությունում զգալի չափով ավելացել են ուսուցման ինտենսիվ ռեժիմով աշխատող ուսումնական հաստատությունները՝ ձեմարանները, վարժարանները, քոլեջները, տաղանդավոր երեխաների ուսուցմամբ զբաղվող ավագ դպրոցները: Ուստի ուսումնական գործընթացի արդյունավետության բարձրացման նպատակով կարևորվում է հետազոտել նման հաստատություններում սովորողների առողջական ու ֆիզիոլոգիական գործառույթների վիճակը:

Սույն հետազոտության նպատակն է եղել ուսումնասիրել Իրանի Սարի քաղաքի տաղանդավոր երեխաների դպրոցի 9-րդ դասարաններում սովորող աղջիկների և պատանիների կենտրոնական հենոդինամիկական ու հոգեֆիզիոլոգիական ցուցանիշ-ների փոփոխությունները ուսումնական ծանրաբեռնվածության դինամիկայում՝ օրական, շաբաթական և տարեկան կտրվածքով: Այս դպրոցը ժամանակակից ուսումնական հաստատություն է, որտեղ կրթական գործընթացը բնութագրվում է ուսումնական մեծ ծանրաբեռնվածությամբ և լարված մտավոր գործունեությամբ: Ուստի նման ուսումնական հաստատությունում սովորող աշակերտների կազմաբանագործառական վիճակի ուսումնասիրությունն առավել կարևորվում է:

Նյութ և մեթոդ: Հետազոտությանը մասնակցել են Իրանի Սարի քաղաքի տաղանդավոր դպրոցականների 9-րդ դասարանում սովորող 20-ական աղջիկ և պատանի (15 տարեկան): Բոլոր հետազոտությունները կատարվել են ծնողների և երեխաների համաձայնությամբ: Ուսումնասիրությունները կատարվել են 2008-2009թթ. ընթացքում:

Հետազոտության խնդիրների համաձայն իրականացվել է աշակերտների առողջական տվյալների նախնական վերլուծություն և ընտրվել են շեղումներ չունեցող աշակերտներ: Հետազոտվողների անհատական առաձևահատկությունները բացահայտելու և հոգեախտորոշիչ նպատակներով ըստ Ս. Սպիլբերգերի հարցաթերթիկի՝ որոշվել է նրանց անհանգստության մակար-դակը, իսկ Այզենկի հարցաթերթիկով՝ նեյրոտիզմի մակարդակը [6]: Սպիլբերգերի հարցաշարի գնահատմամբ մինչև 30 նիշը համարվում է անհանգստության ցածր մակարդակ; 30-45-ը՝ միջին; 45-ից ավելին՝ բարձր: Այզենկի հարցաշարով որոշվել է հետազոտվողի հոգեբանական բնութագիրը. պատկանելությունը էքստրա- և ինտրավերտներին, ինչպես նաև իրենց բնորոշ նեյրոտիզմի մակարդակը:

Հետազոտվողների՝ տղաների և աղջիկների խմբերում որոշվել են հեմոդինամիկայի հիմնական ցուցանիշները. սրտի կծկումների հաճախությունը (ՄԿՀ), արյան ճնշումը (սիստոլային՝ (ՍԶՀ), դիաստոլային՝ (ԴՍՀ), անոթազարկային ճնշումը՝ (ԱԶՀ), միջին դինամիկական ճնշումը՝ (ՄԴՀ): Արյան ճնշումը չափվել է Կորոտկովի մեթոդով: ՄԿՀ-ն որոշվել է ըստ էլեկտրասրտագրության ցուցանիշների: Ստաթի բանաձևով հաշվարկվել են արյան սիստոլային (ԱՍԾ) և ռոպտական (ԱՐԾ) ծավալները: Կենտրոնական հեմոդինամիկայի ցուցանիշների հիման վրա հաշվարկվել են նաև սրտամկանի լարվածության ցուցիչը (ՄԼՑ), սրտամկանի արտաքին աշխատանքի ցուցիչը (ՄԱԱՑ), սրտամկանի արդյունավետության ցուցիչը (ՄԱՑ):

Հետազոտությունները կատարվել են յուրաքանչյուր ամսվա երկրորդ շաբաթվա ընթացքում մինչև մայիս ներառյալ: Օրական, շաբաթական և տարեկան ուսումնական ծանրաբեռնվածության պայմաններում առաջացած փոփոխություններն ուսումնասիրվել են դասերից առաջ և անմիջապես հետո, շաբաթ և հինգշաբթի օրերին, որպես շաբաթվա սկիզբ և վերջ, քանի որ Իրանում՝ ըստ Եվրոպական օրացույցի ուրբաթ օրը համարվում է հանգստյան օր: Տարեկան կտրվածքով հետազոտությունները կատարվել են հոկտեմբերին (ուսումնական տարվա սկիզբ), դեկտեմբերին և մայիսին (ուսումնական տարվա վերջ):

Ստացված տվյալների վիճակագրական մշակումը կատարվել է ըստ Մոյտուդենտի t չափանիշի, Biostat և համակարգչային ծրագրով:

Արդյունքներ և քննարկում: Աշակերտների թեստավորման արդյունքում բացահայտվել է սաների մեծամասնության (70%) պատկանելիությունը էքստրավերտներին: Էքստրավերտներին բնորոշ է եղել անհատական անհանգստության (ԱԱ) միջին մակարդակ (30<ԱԱ<45 միավոր) և հիմնականում եղել են սանգվինիկներ և խոլերիկներ: ԱԱ-ի համեմատաբար բարձր մակարդակ (45 միավոր) հիմնականում գրանցվել է տղաների մոտ:

Հետազոտողների կենտրոնական հեմոդինամիկայի ցուցանիշների փոփոխություններն օրական ուսումնական ծանրաբեռնվածության պայմաններում ներկայացված են աղ. 1-ում: Ստացված տվյալներից հետևում է, որ մտավոր աշխատունակությունը ուսումնական օրվա և շաբաթվա վերջում զգալիորեն նվազում է, որի արդյունքում նկատվում է սրտի կծկումների հաճախության, սիստոլային և դիաստոլային ճնշումների նվազում: Այն պահպանվում է օրվա և ողջ ուսումնական տարվա ընթացքում: Հեմոդինամիկայի ցուցանիշների նվազման միտումն ավելի արտահայտված է հինգշաբթի օրը դասերի ավարտից հետո: Այսպես, շաբաթ օրը, որը Իրանում համարվում է շաբաթվա սկիզբ, աղջիկների ՄԿՀ-ը նվազել է 7.28%-ով ($p<0.05$), իսկ տղաներինը՝ 10%-ով: Շաբաթվա վերջին՝ հինգշաբթի օրը, աղջիկների ՄԿՀ-ն նվազել է 12.41% ($p<0.05$), իսկ տղաներինը՝ 15.25%-ով ($p<0.01$): Օրական և շաբաթական ծանրաբեռնվածության ընթացքում էական տեղաշարժեր են նկատվել նաև արյան ճնշման ցուցանիշներում: Աղջիկների ՍԶՀ-ի նվազումը շաբաթ օրը դասերից հետո կազմել է 8.31% ($p<0.05$), իսկ հինգշաբթի օրը՝ 10.48%: Տղաների ՍԶՀ-ն շաբաթ օրերին դասերից հետո նվազել է 9.62%-ով ($p<0.05$), իսկ հինգշաբթի օրը՝ 14.79%-ով ($p<0.02$): Համանման փոփոխություններ են նկատվել նաև դիաստոլային զարկերակային ճնշման մեծություններում: Ի տարբերություն ՍԶՀ-ի ԴՍՀ-ն առավել էական փոփոխությունների է ենթարկվել շաբաթվա վերջին:

Ինչպես հետևում է աղ.1-ում ներկայացված տվյալներից, աղջիկների և տղաների դիաստոլային զարկերակային ճնշումները հինգշաբթի օրը դասերից հետո համապատասխանաբար նվազել են 10.09%-ով և 13.86%-ով: Այս ցուցանիշները վկայում են, որ ուսումնական մեծ ծանրաբեռնվածությունը նպաստում է աշակերտների զարկերակային սիստոլային և դիաստոլային ճնշումների նվազման օրվա և շաբաթվա դինամիկայում: Նշված տեղաշարժերն առավել արտահայտված են տղաների մոտ: Ուսումնական շաբաթվա վերջում տղաների մոտ նկատվում է նշանակալի հոգնածություն, իսկ աղջիկների մոտ դեռևս պահպանվում է հարմարողական հնարավորությունների բնականոն մակարդակը: Զգալի բարձրանում է նաև տղաների ԱԱ-ի մակարդակը: Դասերի ավարտին նվազում են նաև աղջիկների և տղաների անոթազարկային և միջին դինամիկական ճնշումները (ԱՀ, ՄԴՀ): Հինգշաբթի օրը դասերից հետո աղջիկների ՄԴՀ-ն և ԱՀ-ն նվազում են 11.04% և 15.32%-ով, իսկ տղաների նույնատիպ ցուցանիշները՝ 14.94%-ով ($p<0.01$) և 19.58%-ով ($p<0.001$) համապատասխանաբար: Սրտի աշխատանքի բնութագրի առավել ստույգ ցուցանիշ է սրտային արտամղումը, որի արտացոլումն են ԱՄԾ-ը և ԱՐԾ-ը: Դասերի ավարտին արյան սիստոլային ծավալները երկու սեռի սովորողների մոտ վիճակագրորեն հավանական փոփոխությունների չեն ենթարկվել: Մինչդեռ գրանցվել է ԱՐԾ-ի նվազման միտում: Շաբաթվա վերջում աղջիկների ԱՐԾ դասերի ավարտին նվազել է 14.94%-ով, իսկ տղաներինը՝ 13.93%-ով:

Այս դեպքում տղաների ԱՐԾ-ն ավելի արտահայտված փոփոխության է ենթարկվել: Օրական և շաբաթական ծանրաբեռնվածության դինամիկայում մեր կողմից դիտվող ԱՐԾ-ի իջեցումը կապված է ՄԿՀ-ի մակարդակի նվազման հետ, որն ամենայն հավանականությամբ կարող է պայմանավորված լինել շաբաթվա վերջին արտի ռիթմի կարգավորման սիմպաթիկ մեխանիզմների ակտիվության իջեցմամբ: Սրտի քրոնոտրոպ ֆունկցիայի նվազման հետ կապված ԱՐԾ-ի փոքրացումը կարող է դիտվել արյան շրջանառության ֆունկցիայի տնտեսման դրսևորում: ԱՐԾ-ի նվազումն ամենայն հավանականությամբ պայմանավորված է սիմպաթո-ադրենալային համակարգի ակտիվության նվազմամբ: Օրական և շաբաթական դինամիկայում էական փոփոխությունների են ենթարկվել նաև ՄԼՑ-ի, ՍԱԱՑ-ի և ՍԱՑ-ի մեծությունները: Աղջիկների մոտ այդ մեծությունները հինգշաբթի օրը դասերից հետո համապատասխանաբար նվազել են 21.61%-ով ($p<0.01$) և 11.07%-ով ($p<0.05$), իսկ ՍԱՑ-ը մեծացել է 13.55%-ով ($p<0.02$): Տղաների ՄԼՑ-ը նվազել է 28.33%-ով ($p<0.01$), ՍԱԱՑ-ը՝ 13.70%-ով ($p<0.01$), իսկ ՍԱՑ-ը մեծացել է 20.33%-ով ($p<0.001$):

Աղյուսակ 1. Սարի քաղաքի տաղանդավոր երեխաների ուսուցմամբ դպրոցի 9-րդ դասարանի աշակերտների հեմոդինամիկայի ցուցանիշները օրական և շաբաթական ուսումնական ծանրաբեռնվածության դինամիկայում

Ցուցանիշներ	Աղջիկներ				Տղաներ			
	շաբաթ		հինգշաբթի		շաբաթ		հինգշաբթի	
	Միջին դասերը	Դասերից հետո	Միջին դասերը	Դասերից հետո	Միջին դասերը	Դասերից հետո	Միջին դասերը	Դասերից հետո
ՄԿՀ	91.05±2.68 $p<0.05$	84.42±2.06 $p<0.05$	89.60±3.05	78.48±2.12 $p<0.02$	86.38±2.34 $p<0.05$	78.02±1.98 $p<0.05$	88.12±2.34	74.68±3.14 $p<0.01$
ՍՁԸ	110.82±2.74 $p<0.05$	111.60±3.64 $p<0.05$	110.40±4.06	98.82±3.42 $p<0.05$	108.68±3.16 $p<0.05$	98.24±2.84 $p<0.05$	108.32±4.12	92.28±2.08 $p<0.02$
ԴՁԸ	69.70±1.96 $p<0.05$	65.20±2.04 $p<0.05$	70.21±2.82	63.12±1.96 $p<0.05$	68.31±2.64 $p<0.05$	62.22±2.12 $p<0.05$	69.80±2.04 $p<0.05$	60.12±2.18 $p<0.02$
ԱԸ	40.38±2.02 $p<0.05$	35.14±1.98 $p<0.05$	40.46±2.12	34.26±2.08 $p<0.02$	40.42±2.61 $p<0.05$	36.17±1.98 $p<0.05$	38.80±2.40 $p<0.05$	31.20±2.0 $p<0.001$
ՄԴԸ	85.86±4.08 $p<0.05$	80.30±3.62 $p<0.05$	87.61±3.84	77.85±2.96 $p<0.05$	85.69±4.31 $p<0.05$	77.76±3.48 $p<0.05$	86.48±4.44 $p<0.05$	73.54±3.75 $p<0.01$
ԱՄՄ	65.98±2.76 $p<0.05$	65.58±2.84 $p<0.05$	65.76±3.06	66.24±2.96 $p<0.05$	66.75±3.01 $p<0.05$	67.77±3.24 $p<0.05$	65.02±3.18 $p<0.05$	66.16±3.02 $p<0.02$
ԱՐԾ	5.00±0.28 $p<0.05$	5.54±0.18 $p<0.05$	5.89±0.63	5.20±0.24 $p<0.05$	5.77±0.34 $p<0.05$	5.27±0.28 $p<0.05$	5.74±0.24 $p<0.05$	4.94±0.64 $p<0.02$
ՄԼՑ	10.08±0.84 $p<0.02$	8.53±0.62 $p<0.02$	9.83±0.48	7.70±0.44 $p<0.01$	9.35±0.56 $p<0.01$	7.66±0.62 $p<0.01$	9.53±0.75 $p<0.01$	6.83±0.22 $p<0.001$
ՄԱԱՑ	5.67±0.12 $p<0.05$	5.30±0.18 $p<0.05$	5.78±0.24	5.14±0.20 $p<0.05$	5.74±0.22 $p<0.05$	5.29±0.18 $p<0.05$	5.62±0.24 $p<0.05$	4.85±0.16 $p<0.01$
ՄԱՑ	0.56±0.03 $p<0.05$	0.63±0.02 $p<0.05$	0.59±0.02	0.67±0.03 $p<0.02$	0.61±0.02 $p<0.05$	0.69±0.03 $p<0.05$	0.59±0.01 $p<0.05$	0.71±0.03 $p<0.001$

Ուսումնական տարվա տարբեր շրջաններում (հոկտեմբեր, դեկտեմբեր, մայիս) իրականացված հետազոտությունների վերլուծությունը ցույց է տվել, որ ուսումնական տարվա սկզբին հետազոտված աշակերտների հեմոդինամիկայի ցուցանիշները գտնվել են որոշակի բարձր մակարդակի վրա (աղ.2):

Ուսումնական տարվա ընթացքում ծանրաբեռնվածությանը զուգընթաց նկատվել է սրտի կծկումների և զարկերակային ճնշման ցուցանիշների աստիճանական նվազում, որն առավելապես դրսևորվել է դեկտեմբերին: Ուսումնական տարվա սկզբի համեմատությամբ դեկտեմբերին աղջիկների ՄԿՀ-ն նվազել է 5%-ով ($p<0.05$), ՍՁԸ-ը՝ 2%-ով ($p<0.05$), իսկ ԴՁԸ-ը՝ 8.16%-ով ($p<0.01$): Վիճակագրական հավանական իջեցում է նկատվել նաև տղաների ՍՁԸ-ի և ԴՁԸ-ի ցուցանիշներում: Տղաների ՄԴԸ-ն դեկտեմբերին նվազել է 3.45%-ով ($p<0.05$):

Ուսումնական տարվա վերջում՝ մայիսին դիտվում է կենտրոնական հեմոդինամիկայի ցուցանիշների մեծությունների ավելացում դեկտեմբերի համեմատությամբ, սակայն դրանք չեն հասնում ուսումնական տարվա ցուցանիշներին (աղ.2): Սրտի աշխատանքի առավել ցայտուն ցուցանիշներ են համարվում նաև արյան սիստոլային և րոպեական ծավալները:

Տարեկան ուսումնական ծանրաբեռնվածության դինամիկայում դիտվել են արյան սիստոլային և րոպեական ծավալների աննշան փոփոխություններ, որոնք հավանական

բնույթ չեն կրել և, ըստ երևույթին, պայմանավորված են տարիքային այս խմբում ավելի ձևավորված սիրտ-անոթային համակարգով ու նյարդային տիպով: Հարկ է նշել, որ տաղանդավոր երեխաների դպրոցի 9-րդ դասարանի աշակերտները դպրոց են ընդունվում քննությունների հիման վրա՝ մրցութային կարգով: Այդ պատճառով նրանք ավելի վստահ են իրենց գիտելիքների վրա: Սակայն 9-րդ դասարանցիների համար ուսումնական տարին վճռորոշ է, քանի որ պետք է սովորեն ինտենսիվ ուսուցման ռեժիմով և այդ տարվա գիտելիքներով ու գնահատականներով է որոշվում նրանց հետագա ուսումնառության իրավունքը:

Աղյուսակ 2. Սարի քաղաքի տաղանդավոր երեխաների ուսուցմամբ դպրոցի 9-րդ դասարանի աշակերտների հեմոդինամիկայի ցուցանիշները ուսումնական տարվա դինամիկայում

Ցուցանիշներ	Հոկտեմբեր		Դեկտեմբեր		Մայիս	
	Աղջիկներ	Տղաներ	Աղջիկներ	Տղաներ	Աղջիկներ	Տղաներ
ՍԿՀ	90.83 [°] 1.69	86.31 [°] 4.62	86.32 [°] 2.40 p<0.05	84.31 [°] 4.38	88.86 [°] 1.82	85.82 [°] 1.28
ՍԶԸ	108.04 [°] 4.64	106.52 [°] 2.65	105.86 [°] 2.84 p<0.05	99.67 [°] 1.42 p<0.05	104.76 [°] 2.81	104.02 [°] 2.61
ԴԶԸ	67.95 [°] 2.82	65.38 [°] 0.82	62.4 [°] 2.36 p<0.05	61.82 [°] 1.63 p<0.05	65.38 [°] 3.48	64.62 [°] 3.69
ԱԸ	40.42 [°] 2.02	39.92 [°] 1.98	43.8 [°] 2.21 p<0.05	38.64 [°] 1.84	39.82 [°] 2.04 p<0.05	40.08 [°] 1.92
ՄԴԸ	84.96 [°] 2.56	83.34 [°] 3.62	82.34 [°] 4.02	80.46 [°] 2.44 p<0.05	83.28 [°] 3.32	83.94 [°] 2.61
ԱՍԾ	68.03 [°] 2.84	68.07 [°] 3.21	70.06 [°] 1.62	69.91 [°] 3.34	68.87 [°] 2.64	67.84 [°] 3.32
ԱՐԾ	6.17 [°] 0.12	5.67 [°] 0.11	6.06 [°] 0.21	5.96 [°] 0.19 p<0.05	6.09 [°] 0.22	5.82 [°] 0.24
ՄԼՑ	9.81 [°] 1.02	9.19 [°] 0.98	9.14 [°] 0.64 p<0.05	8.61 [°] 0.94 p<0.05	9.30 [°] 0.89 p<0.05	8.92 [°] 1.12
ՄԱԱՑ	5.78 [°] 0.24	5.67 [°] 0.46	5.77 [°] 0.32	5.58 [°] 0.44	5.74 [°] 0.86	5.69 [°] 0.31
ՄԱՑ	0.59 [°] 0.01	0.60 [°] 0.03	0.63 [°] 0.03 p<0.05	0.65 [°] 0.02 p<0.05	0.64 [°] 0.02 p<0.05	0.64 [°] 0.04

Այսպիսով, կատարված հետազոտությունների արդյունքները վկայում են, որ օրական, շաբաթական և տարեկան ուսումնական ծանրաբեռնվածության դինամիկայում տաղանդավոր երեխաների դպրոցի 9-րդ դասարանի սաների հեմոդինամիկայի ցուցանիշների մեծություններում նկատվում է նվազման միտում, որը պայմանավորված է ինչպես մտավոր լարվածությամբ, այնպես էլ ուսումնական ծանրաբեռնվածության հետևանքով առաջացած հոգնածությամբ: Հայտնի է, որ մտավոր աշխատանքի առաջին երեք ժամում ի հայտ է գալիս լարվածություն, իսկ դրանից հետո զարգանում է գերհոգնածություն [11]: Որոշ գիտնականների տվյալներով շաբաթական դինամիկայում սովորողների զարկերակային ճնշման բաղադրիչների նվազումը հանդիսանում է օրգանիզմի ֆիզիոլոգիական ռեակցիան ուսումնական ծանրաբեռնվածությանը և մտավոր լարվածությանը [5]: Օրական, շաբաթական ուսումնական ծանրաբեռնվածության նկատմամբ առավել օպտիմալ է հանդիսանում հեմոդինամիկայի ցուցանիշների կարգավորման պարասիմպաթիկ պատասխանը, քանի որ սիմպաթիկ կարգավորումն ի վերջո կարող է հյուծել օրգանիզմի հարմարողական փոխհատուցողական մեխանիզմները [2,4,15]: Ուսումնական պարապմունքների ընթացքում ստեղծվում են բավականին լուրջ նախադրյալներ (ուսուցման պայմանները, ուսումնական գործընթացի ինտենսիֆիկացումը, շարժողական ցածր ակտիվությունը, ուսումնական մեթոդների անհամապատասխանությունը, դպրոցականների տարիքային հնարավորություններին) սովորողների հոգնածության և հարմարման մեխանիզմների լարվածության համար, որոնք հետագայում, անտարակույս, կարող են հասցնել աճող սերնդի առողջական վիճակի վատթարացմանը [3]:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Аветисян Л.Р.* Состояние сердечно-сосудистой системы учащихся школ интенсивного обучения. Вестник МАНЭБ, 6, 147-176, 2001.
2. *Артеменков А.А.* Изменения вегетативных функций у студентов при адаптации к умственным нагрузкам. Гигиена детей и подростков, 2, 62-64, 2007.

3. *Безруких М.М., Сонькин В.Д.* Педагогическая физиология. Физиология развития человека. Материалы междунар. научн. конф., 22-26 ноября. Новые исследования: альманах. М., 74-75, 2004.
4. *Геворкян Э.С., Минасян С.М., Адамян Ц.И.* Динамика интегральных характеристик variability сердечного ритма и психофизиологических показателей студентов в режиме однодневной и недельной учебной нагрузки. Физиология человека, 32, 4, 57-63, 2006.
5. *Гребняк Н.П., Щудро С.А.* Адаптация старшеклассников к обучению. Гигиена и санитария, 1, 55-58, 2008.
6. *Гришин В.В., Лушин П.В.* Методики психодиагностики в учебно-воспитательном процессе. М., 64с., 1990.
7. *Даян А.В., Ксаджикян Н.Н., Минасян С.М.* Типологический анализ кардиодинамики у старшеклассников в условиях экзаменационного напряжения, Ученые записки ЕГУ, 3, 100-105, 2004.
8. *Дмитриев А.Д.* Влияние особенностей учебной нагрузки на организм учащихся. Гигиена и санитария, 2, 32-35, 1994.
9. *Дмитриев Д.А., Дмитриев А.Д., Карпенко Ю.Д., Саперова Е.В.* Влияние экзаменационного стресса и психоэмоциональных особенностей на уровень артериального давления и регуляцию сердечного ритма у студентов. Физиология человека, 34, 5, 84-89, 2008.
10. *Зорина И.Г.* Влияние внутришкольных факторов на умственную работоспособность и состояние здоровья учащихся. Гигиена и санитария, 3, 48-51, 2006.
11. *Минасян С.М. Геворкян Э.С., Ксаджикян Н.Н.* Реакция гемодинамических показателей подростков на учебную нагрузку. Вестник хирургии Армении, 3, 97-103, 2005..
12. *Панкова Н.Б., Надоров С.А., Карганов М.Ю.* Анализ variability сердечного ритма и артериального давления при разных функциональных состояниях. Физиология человека, 34, 4, 64-72, 2008.
13. *Рапопорт И.П., Тимошенко К.Т.* Дифференцированный подход к оценке динамики показателей состояния здоровья старшеклассников. Матер. Всеросс. научно-практ. конф. межд. участ.: "Гигиена детей и подростков: история и современность", М., 363-365, 2009.
14. *Степанова М.И., Чайкин С.В.* Гигиеническое обоснование. Новые структуры учебного года в школах. Гигиена и санитария, 3, 51-57, 2004.
15. *Buddeberg-Fischer B., Klaghofer R., Leuthold A. et al.* School climate and psychological symptoms-correlations between school stress, sense, of coherence and physical-psychological impairment in high school students. Psychother. Psychosom. Med. Psychol. 50, 5, 222-229, 2000.
16. *Dimitriev D.A., Dimitriev Yu.D., Karpenko and E.V. Saperova.* Influence of Examination Stress and Psychoemotional Characteristics on Blood Pressure and Heart Rate Regulation in Female Students. Human Physiology, 34, 5, pp. 617-624, 2008.
17. *Shcherbatykh Yu.V.* Self-Regulation of Autonomic Homeostasis in Emotional stress. Fiziol. Chel., 26, 5, p.151, Hum. Physiol. (Engl. Transl.), 26, 5, p.641, 2000.
18. *Shcherbatykh Yu.V., Esaulenko I.* The systematic approach to forecasting and correction of an examination stress of higher school students. Sistemnyj anliz i upravlenie w biomedicinskih sistemah., 1, 3: 319-322, 2002.
19. *Zahner L., Puder Y., Roth R. et al.* A school-based physical activity program to improve health and fitness in children aged 6-13 years ("Kinder-Sportstudie Kiss"): study design of a randomized controlled trial (ISRCTN15360785). BMC Public Health. 6: 147, 2006.

Ստացվել է 21.04.2010.



Биол. журн. Армении, 3 (62), 2010

РОЛЬ БАКТЕРИАЛЬНОГО МЕЛАНИНА В ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССАХ ПОСЛЕ ТРАВМЫ МОТОРНЫХ ТРАКТОВ

Л.Р. МАНВЕЛЯН, Т.Р. ПЕТРОСЯН, О.В. ГЕВОРКЯН, И.Б. МЕЛИКСЕТЯН

*Институт физиологии им.Л.А. Орбели НАН РА
E-mail: lmanvel@neuroscience.am.*

Исследовалось действие раствора бактериального меланина на пост-травматическое восстановление позного тонуса и локомоции у крыс с заранее выработанным инструментальным рефлексом после травмы кортико-спинального и рубро-спинального трактов. Результаты экспериментов подтверждают нейропротекторный эффект использованной в работе концентрации бактериального меланина после травмы моторных трактов.

*Инструментальный условный рефлекс – бактериальный меланин –
протекторное действие*

Նախապես գործիքային պայմանական ռեֆլեքս մշակված առնետների մոտ կեղևոդնողեղային և կարմիր կորիզ-ողնուղեղային ուղիների վնասումից հետո ուսումնասիրվել է մանրէական մելանինի լուծույթի ազդեցությունը հետվնասվածքային շրջանում կենդանու դիրքի և շարժումների վերականգնման վրա: Փորձերի արդյունքները հաստատում են մանրէական մելանինի հետազոտված կոնցենտրացիայի նյարդապաշտպանիչ ազդեցությունը շարժիչ ուղիների վնասումից հետո:

*Գործիքային պայմանական ռեֆլեքս –մանրէական մելանին – պաշտպանիչ
ներգործություն*

Protective action of bacterial melanin solution on posttraumatic recovery of posture and locomotion was studied after lesions of corticospinal and rubrospinal tracts in rats, initially trained to an instrumental reflex. The results of experiments confirm neuroprotective action of the studied bacterial melanin concentration after lesions of motor tracts.

Instrumental conditioned reflex – bacterial melanin – protective action

После травмы структур центральной нервной системы (ЦНС) для ускорения структурно-функционального восстановления необходимы специальные мероприятия, такие как нейтрализация факторов, тормозящих рост поврежденных аксонов и подавление образования рубца на месте повреждения, которые мешают реактивации программы роста в зрелой нервной системе, а впоследствии, регенерации и направлению нервных волокон к их специфическим мишеням [9]. Повреждение нисходящих моторных аксонных путей, в частности кортико-спинального и рубро-спинального трактов, становится причиной гибели элементов нервной ткани, а

также воспаления и демиелинизации аксонов. Но часто стабилизация и дифференциация аксонного терминального ветвления может способствовать восстановительным процессам в тех областях ЦНС, которые утратили свой специфический вход [6], не исключая также положительного влияния нейротрофных факторов, инициирующих спраутинг и регенерацию аксонов после травмы.

Известно, что функции кортико-спинального и кортико-руброспинального трактов сходны, поскольку оба они берут начало в сенсомоторной коре, но не идентичны: первый из них участвует в выполнении самых тонких и сложных форм выученных движений (автоматизм, выполнение точных движений), а специфика влияния кортико-руброспинального тракта выражается в обеспечении взаимодействия позного тонуса и локального компонента двигательной реакции [4]. Этим объясняется то обстоятельство, что после повреждения обоих трактов наблюдается одинаковый дефицит движения – парализуется сгибательное движение задней балансирующей конечности, получающей иннервацию со стороны травмированных структур. Без терапевтического вмешательства восстановление парализованного флексорного движения конечности у крыс является длительным и трудным процессом, поэтому целью настоящих экспериментов было использование раствора бактериального меланина (БМ) как нейропротектора, который способствовал бы ускорению посттравматических восстановительных процессов после повреждения указанных выше моторных трактов.

Материал и методика. Работа была выполнена на четырех группах белых крыс ($n=6$ в каждой) с массой тела 180-250г. У всех животных предварительно вырабатывали инструментальный условный рефлекс (ИУР) балансирования по методике [8], использованной в наших экспериментах. После этого у двух групп под нембуталовым наркозом (40мг/кг, в/б) проводили унилатеральную поперечную перерезку бульбарной пирамиды выше места их перекреста [7]. На следующий день после операции одной группе оперированных крыс в/м вводили раствор БМ, полученного биотехнологическим методом армянскими учеными [5], в концентрации 6 мг/мл, из расчета 170 мг/кг, а вторая группа служила контролем.

У следующих двух групп после предварительной выработки ИУР на уровне С3-4 спинного мозга разрушали рубро-спинальный тракт. Так как в наших поведенческих экспериментах ИУР был выбран моделью для исследования балансирующего движения конечности у крыс до и после травмы, то у нас была возможность сравнить сроки восстановления сгибательного движения задней конечности у контрольных, не получавших БМ животных с экспериментальными, которым был введен раствор БМ.

Тестирование животных возобновляли у всех крыс через 2 дня после травмы. Опыты продолжались до момента полного восстановления нормального балансирующего движения (сгибание) задней конечности животных всех 4 групп. После завершения поведенческих экспериментов проводили морфогистохимические исследования мозга крыс по выявлению активности Ca^{2+} -зависимой кислой фосфатазы (КФ), которые, помимо избирательной и четкой морфологической картины, дают возможность судить о метаболизме исследуемых структур [3].

Результаты и обсуждение. Данные хронических поведенческих экспериментов по временным параметрам выработки ИУР до и после травмы, а также восстановления балансирующего движения задней конечности, парализованной после операций, без введения раствора БМ (контрольные) и после введения (экспериментальные группы) обобщены в табл. 1. Приведенные в ней данные являются средними показателями для каждой серии экспериментов при $n=6$ крыс в группе.

Как видно из табл. 1, в случае повреждения кортико-спинального тракта сроки восстановления между контрольными и экспериментальными группами животных значительно различаются. Срок восстановления позного тонуса (ИУР) сокращается в 2 раза, а балансирующего движения задней конечности – более чем в 7 раз.

Таблица 1. Средние показатели сроков выработки ИУР и восстановления балансирующего движения задней парализованной конечности до и после травмы кортико-спинального и рубро-спинального трактов у крыс при введении раствора БМ.

Серия экспериментов	Исследованные образования ЦНС	Контрольные группы (сроки в экспериментальных днях)			Экспериментальные группы с введением БМ после травмы (сроки в экспериментальных днях)		
		Выработка ИУР до травмы	Выработка ИУР после травмы	Восстановление движения балансирующая после травмы	Выработка ИУР до травмы	Выработка ИУР после травмы и введения БМ	Восстановление движения балансирующая после травмы и введения БМ
1	Кортико-спинальный тракт	2,5 ±0,8	3,9±1,1	16,0±1,2	2,7±0,5	1,75±0,9	2,2±0,8
2	Кортико-рубро-спинальный тракт	2,75±0,3	8,3±1,6	13,7±1,9	2,7±0,8	2,5±0,2	3,4±1,1

Аналогичные изменения наблюдаются и в случае травмы рубро-спинального тракта, но здесь в обоих случаях срок восстановления сократился в 3-4 раза. Большую разницу в сроках восстановления ИУР, наверное, можно объяснить меньшими размерами рубро-спинального тракта по сравнению с пирамидным.

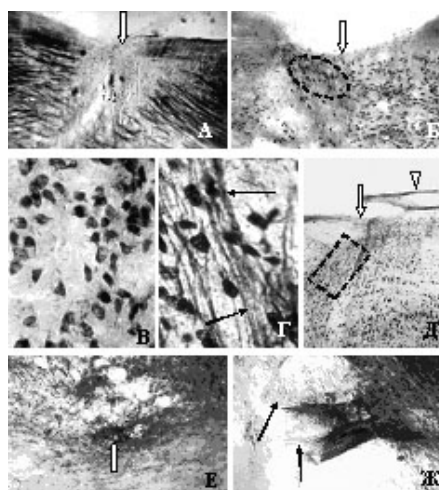


Рис.1. Горизонтальные срезы ствола мозга пирамидотомированных (А-Д) крыс и после иссечения рубро-спинального тракта (Е-Ж); контрольных крыс (А, Е) и с в/м инъекцией раствора меланина в/м в концентрации 6 мг/мл (Б-Д, Ж) (белые стрелки – места перерезки; А – наличие рубца; черные стрелки – нервные волокна в участке перерезки; белый треугольник – крупный кровеносный сосуд над участком травмы; В – фрагмент Б в овале, где отсутствует рубец, место травмы заполнено нервными клетками; прямоугольник – ориентация нейронов по ходу разреза). Выявление активности Ca^{2+} - зависимой КФ. Увеличение: ок.10, об. 10 (А, Б, Д); 16 (Е); 40 (В, Ж); 100 (Г).

После завершения поведенческих экспериментов проводились морфогистохимические исследования мозга подопытных животных. Был использован метод выявления активности Ca^{2+} -зависимой кислой фосфатазы, так как полученная мор-

фологическая картина адекватна, обладает большой информативностью и позволяет судить об определенных звеньях метаболизма исследованных структур. Данный методический подход основан на выявлении внутриклеточных фосфорсодержащих соединений, занимающих ключевые позиции в обменных энергетических процессах клеток. Это является основанием для использования данного метода при изучении морфофункционального состояния клеточных структур ЦНС до и после травмы. На рис. 1 срезов мозга у контрольных животных после обоих случаев травмы ясно виден рубец на участке повреждения кортико-спинального (А) и рубро-спинального (Е) трактов. На срезах мозга крыс, получавших БМ, видно усиление васкуляризации (Д), вследствие чего усиливается трофика нервной ткани, способствуя подавлению образования рубца. На (Г) – на участке пирамидотомии и на (Ж) – на месте разрушения травмы рубро-спинального тракта черные стрелки указывают на нервные волокна, рост которых обычно предопределяет интенсивность пролиферации, дифференциации и формирования новых клеточных структур [1].

Таким образом, результаты как поведенческих экспериментов, так и морфогистохимического исследования мозга всех подопытных животных подтверждают протекторное действие введенной концентрации БМ на посттравматические восстановительные процессы, особенно на локомоцию, после нейротравмы обоих моторных трактов, что показано также в наших других работах [2].

ЛИТЕРАТУРА

1. Банин В.В. Новообразование сосудов: клеточные и молекулярные механизмы регуляции. Морфология (Санкт-Петербург), Тез. докл VI конгресса Междун. ассоц. морфологов, Колос. чтения, с. 18, 2002.
2. Манвелян Л.Р., Петросян Т.Р., Геворкян О.В., Меликсетян И.Б. Влияние унилатеральной пирамидотомии и введения бактериального меланина на кортикофугальную пластичность у взрослых крыс. Актуальные вопросы функциональной межполушарной асимметрии и нейропластичности. М., Изд-во Научный мир, стр. 596 -600, 2008.
3. Меликсетян И.Б. Выявление активности Ca^{2+} -зависимой кислой фосфатазы в клеточных структурах мозга крыс. Морфология, 131, 2, 77-80, 2007.
4. Фанарджян В.В. Избранные главы нейрофизиологии. Ереван, изд-во Гитутюн, НАН РА, стр. 190, 2002.
5. Agadjanyan A.E., Hambartsumyan A.A., Hovsepyan A.S., Asaturian R.A., Vardanyan A.A., Saghiyan A.S. Isolation, purification and physicochemical characterization of water-soluble Bacillus thuringiensis melanin. Pigment Cell Res. 18, 130-135, 2005.
6. Bareyre F.M. and Schwab M.E. Inflammation, degeneration and regeneration in the injured cord: insights from DNA microarrays. Trends Neurosci, 26, 555-563, 2003.
7. Barron D. H. The results of unilateral pyramidal section in the rat. J. Com. Neurol, 60, 45-46, 1934.
8. Kenedy P.R., Humphry D.R. The compensatory role of the parvocellular division of the red nucleus in operantly conditioned rats. Neurosci. Res. 5, 39-62, 1987.
9. Maier I.C. and Schwab M.E. Sprouting, regeneration and circuit formation in the injured spinal cord: factors and activity. Phil. Trans. R. Soc., 361, 1611-1634, 2006.

Поступила 06.09.2010.



Биол. журн. Армении, 3 (62), 2010

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ В АССОЦИИ С ПОЧВЕННЫМИ СВОБОДНОЖИВУЩИМИ БАКТЕРИЯМИ ДЛЯ ИНОКУЛЯЦИИ НЕБОБОВЫХ РАСТЕНИЙ

Т.У. СТЕПАНЯН, С. А. АРУТЮНЯН, Н.М. АЛЕКСАНИЯ,
Ф.С. МАТЕВОСЯН, Ж. И. АКОПЯН

Центр микробиологии и депонирования микробов НАН РА
Абовян, 378510 Армения, Phone/fax: (374222) 21622, (374222) 21622
E-mail: microbio@pnas.sci.am

В результате трехгодичных экспериментов, проведенных в различных почвенно-климатических зонах Армении, выяснилось, что комбинированное удобрение, приготовленное нами на основе клубеньковых бактерий родов *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Synorhizobium*, а также свободноживущих бактерий видов *Azotobacter chroococcum* и *Paenibacillus polymyxa*, способствовало росту растений озимой пшеницы, ячменя, кукурузы и накоплению в них азота в условиях полевого опыта. Подобный результат получен также в условиях вегетационного опыта с растениями двух сортов рапса. Схожие результаты зарегистрированы также в вариантах, инокулированных с цеолитом.

*Клубеньковые бактерии – свободноживущие почвенные бактерии –
небобовые растения – цеолит*

Հայաստանի տարբեր հողակլիմայական գոտիներում իրականացված երեք տարվա փորձերի արդյունքում պարզվել է, որ *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium* ցեղերի պալարաբակտերիաների և հողի ազատ ապրող *Azotobacter chroococcum* և *Paenibacillus polymyxa* տեսակների բակտերիաների հիման վրա մեր կողմից պատրաստված կոմբինացված պարարտանյութը նպաստել է աշնանացան ցորենի, գարու, եգիպտացորենի բույսերի աճին ու ազոտի կուտակմանը դաշտային փորձերում և ռապսի (հլածուկ) բույսերի երկու տրոսերում, վեգետացիոն փորձի պայմաններում: Նմանատիպ արդյունքներ են գրանցվել նաև ցեոլիտի հետ ինոկուլացված տարբերակներում:

*Պալարաբակտերիաներ Ուհողի ազատ ապրող բակտերիաներ Ս
նշ ընդգրկող բույսեր - ցեոլիտ*

As a result of three- year field experiments in various soil-climatic zones of Armenia it is shown that combined preparation on the basis of symbiotic nodule bacteria of genus *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium* and free-living soil bacteria of species *Azotobacter chroococcum* and *Paenibacillus polymyxa* stimulates growth and accumulation of nitrogen in wheat, barley, maize and canola in vegetation experiments. The same results are obtained in variants inoculating with zeolite.

Nodule bacteria – free living soil bacteria – non legume plants – zeol

Огромны запасы азота в природе, но преобладающая часть этого соединения находится в атмосфере в элементарном, газообразном состоянии и не доступна ни растениям, ни животным. Связывание атмосферного азота и превращение его в доступную для растений форму осуществляется в основном двумя способами: химическим – который обходится дорого и не во всех случаях оправдывает себя, и биологической фиксацией атмосферного азота.

Две группы почвенных бактерий - симбиотические и свободноживущие способны в значительном количестве ассимилировать элементарный азот атмосферы для удовлетворения потребности физиологических функций, обогащая почву азотистыми соединениями [14, 15].

Среди микроорганизмов - фиксаторов атмосферного азота особую роль играют симбиотические клубеньковые бактерии родов *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mezorhizobium*. Изучению воздействия клубеньковых бактерий на ассоциативную азотфиксацию, стимулированию роста и урожая сельскохозяйственных культур уделяется значительное внимание [1,2, 9-13].

В настоящей работе сделана попытка разработки технологии получения биопрепарата на основе симбиотических клубеньковых бактерий гороха, сои, нута, фасоли, эспарцета со свободноживущими почвенными микроорганизмами – азотобактером и бациллами (*Azotobacter chroococcum* и *Paenibacillus polymyxa*), с использованием смеси микроорганизмов с измельченным цеолитом, из расчета 200 кг на один гектар. Цеолиты – это алюмосиликаты вулканического происхождения, которые содержат в своем составе оксиды щелочных, щелочноземельных металлов, отличающихся строго регулярной структурой пор, которые в обычных температурных условиях заполнены водой. Был использован цеолит, измельченный до 2-х мм в диаметре из Ноемберянского месторождения, находящегося у села Кохб.

Было испытано действие комбинированного биоудобрения на рост и урожайность растений пшеницы, ячменя, кукурузы в полевых условиях, а также на некоторые биометрические показатели растений рапса, выращенного в условиях вегетационного опыта.

Материал и методика. В формуле комбинированного удобрения были использованы высокоэффективные штаммы клубеньковых бактерий родов *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, которые защищены авторскими свидетельствами, патентом Франции и многократно испытаны в полевых экспериментах в Армении и Франции, а также свободноживущих ассоциативных бактерий *Azotobacter chroococcum*, штамм-6111 ИНМИА и *Paenibacillus polymyxa*, штамм-280 ИНМИА [1,10]. Соотношение микроорганизмов в суспензии 10 : 10 : 1. Начальный титр клубеньковых бактерий составлял порядка 10⁸-10⁹ кл/мл.

Полевые опыты проведены в 2004-06 гг. в фермерских хозяйствах в рамках минигрантов Министерства сельского хозяйства Армении на землеучастках марзов Вайка, Арабата и вблизи города Абовяна. Для испытаний были отобраны сорта озимой пшеницы "Армянка 60", "Муш"- ячменя и кукурузы сорта Краснодарский.

Статистическую обработку данных проводили по методу, описанному Доспеховым [6].

В вегетационном опыте исследовали растения рапса ярового, сорта "Кубанский" и озимого масличного Эчмиадзинского воспроизводства сорта ВАУ-2. Растения рапса выращивали в 3-килограммовых сосудах с песком, обогащенным средой Прянишникова, активность азотфиксации определяли по количеству содержания общего азота методом Кьелдаля [3]. Из обезвоженной растительной навески жир экстрагировали эфиром. Определение сырого жира в листьях и семенах проводили по массе обезжиренного остатка по методу, описанному Плешковым [8].

Результаты и обсуждение. Рапс считается модельной культурой и изучается многими исследователями в разных аспектах [5,7,13]. Результаты опытов по инокуляции проростков рапса суспензией комбинированного биоудобрения, содержащего клубеньковые бактерии сои, люцерны, нута, эспарцета и штаммы 6111-

азотобактера и 280-бацилл приведены в табл. 1. Данные таблицы свидетельствуют о том, что обработанные растения по сравнению с контрольными, необработанными растениями значительно отстают и в росте, и по ряду биохимических показателей. Сухой вес надземной зеленой массы у контрольных растений составлял 4,8 г у ярового и 3,5 г у озимого сорта, а у инокулированных растений 6,8 г и 4,8; прирост составлял 41,6% и 37,1%, соответственно. Кроме того, варианты, бактеризованные вместе с цеолитом, отличались большей массой по сравнению с таковыми, но без цеолита. В процентном отношении прирост составлял 52,0 и 45,7. Содержание общего азота в листьях и семенах у ярового составляло 0,58% и 1,42% соответственно, а у наиболее выделяющегося варианта с цеолитом - 1,1% азота в листьях и 1,58% в семенах. Контрольные варианты ярового рапса по содержанию сырого жира –2,8% уступали инокулированным вариантам: у ярового сорта он составлял 35,0%, а у озимого масличного- 40%.

Результаты эксперимента свидетельствуют о том, что обработка растений рапса комбинированным препаратом способствовала увеличению роста, веса зеленой массы, содержания азота и сырого жира.

Оценку эффективности инокуляции комбинированным удобрением на зерновые культуры проводили в полевых условиях фермерских хозяйств Вайка, Арарата и в Абовяне. Получены достоверные прибавки урожая у всех изученных вариантов и с цеолитом и без него. В табл. 2 представлены результаты трехлетних экспериментов. По сравнению с контролем прибавка урожая у пшеницы составляла от 3.2 ц/га до 5.2 ц/га, у ячменя - от 2.3–2.6 ц/га, у кукурузы – 4.4 ц/га. В процентном выражении прибавка урожая зерна пшеницы, ячменя и кукурузы составляла 11, 17 и 19 соответственно. При этом прирост сырого протеина составлял 2,2-2,4 %, 3,6-3,8% и 2,1% соответственно.

Таблица 1. Влияние комбинированного удобрения на озимую и яровую сорта рапса

Варианты	Яровой, сорт Кубанский							Озимый, сорт ВАУ-2						
	высота растений, см	зеленая масса, г	%	содержание общего азота %		содержание сырого жира %		высота растений, см	зеленая масса,	%	содержание общего азота, %		содержание сырого жира, %	
				лист	семя	лист	семя				лист	семя	лист	семя
Контроль	17.2	4.8	100.0	0.58	1.42	16.0	28.0	15.6	3.5	100	0.56	1.37	15,0	34.0
Контроль + цеолит	19.0	5.2	108.3	0.62	1,44	18.8	*	6.4	4.0	114.5	0.60	*	15,5	*
Комбинированное удобрение	23.4	6.8	141.6	1.0	1,50	21.4	*	20.2	4.8	137.1	1.06	*	20,0	*
Комбинированное удобрение	25.0	1.3	152.0	1.1	1.58	25.0	35,0	20.6	5.1	145.7	1.06	1.51	24,0	40,0

* не исследовали

Следует особо отметить, что применение комбинированного удобрения в смеси с цеолитом в определенном соотношении дает огромные преимущества: 1. – цеолит сам по себе поддерживает почвенную структуру, что способствует посто-

янной аэрации почвы, 2.- значительно удерживает влажность в почве, благодаря своей структуре, 3. – способствует дозированному использованию биопрепарата, удлиняя сроки его действия и реактивации, а также обладает еще одной важной способностью: заметно повышает устойчивость семян к различного рода заболеваниям.

Таблица 2. Влияние комбинированного удобрения на урожай пшеницы, ячменя и кукурузы

Варианты	Ячмень, сорт Муш				Пшеница, сорт Армянка 60				Кукуруза, сорт Краснодарский			
	высота растений, см	масса 1000 семян, г	Сырой протеин, %	урожай, ц/га	высота растений, см	масса 1000 семян, г	сырой протеин, %	урожай, ц/га	высота растений, см	масса 1000 семян, г	сырой протеин, %	урожай, ц/га
Контроль, без бактериализации	69.6	45.8	12.0	22.5	78.0	47.6	14.3	26.8	155	328	10.3	24.8
Контроль + цеолит	73.1	48.0	12.1	23.0	80.2	50.0	15.0	27.1	*	*	*	*
Комбинированное удобрение	81.6	55.7	14.2	24.8	88.0	56.0	17.9	30.0	220	360	12.4	29.2
Комбинированное удобрение + цеолит	85.5	59.8	14.6	25.1	90.0	56.2	18.1	32.0	*	*	*	*

* не исследовали

Таким образом, выявлено, что применение предлагаемого нами комбинированного биоудобрения улучшает азотное питание исследуемых злаковых растений, что выражается в увеличении урожая и содержания протеина в зерне и благоприятно влияет на некоторые биометрические показатели растений рапса. Приведенный материал также позволяет сделать заключение, что данный способ инокуляции способствует получению экологически чистого урожая, что важно для человека и животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Авакумова Е.Н., Арутюнян С.А.* Способ получения штаммов клубеньковых бактерий образующих азотфиксирующие клубеньки на корнях злаковых культур. Авторское свидетельство N1536737, 1989.
2. *Арутюнян С. А., Асланян С.Г., Алексанян Н.М, Степанян Т.У., Матевосян Ф.С.* О возможности инфицирования клубеньковыми бактериями злаковых культур. Биолог. журн. Армении 53, 1-2, 2001.

3. Большой практикум по физиологии растений. Под ред. Б.А. Рубина, М., "Высшая школа", 407с., 1978.
4. Волова Т.Г. Биологические удобрения. Биотехнология, Под ред. акад. И.И. Гительсона, Новосибирск, Изд-во СО РАН, с. 190-193, 1999.
5. Глаголева О. Б., Ковальская Н. Ю., Киреев И.И., Лобакова Е.С. Умаров М.М. Параноудуляция рапса при инокуляции азотфиксирующими ризосферными бактериями. Микробиология, 66, с. 545-552, 1997.
6. Ковальская Н.Ю., Е.С. Лобакова, М.М. Формирование искусственного азотфиксирующего симбиоза у растений рапса (*Brassica Napus* var *Napus*) в нестерильной почве. Микробиология, 70, 5, с.701-708, 2001.
7. Плешков Б.А. Практикум по биохимии растений. Изд- во "Колос", М. 178с., 1968.
8. Степанян Т.У., Алексанян Н.М., Матевосян Ф.С., Арутюнян С.А. Влияние клубеньковых бактерий в ассоциации с другими почвенными микроорганизмами на азотфиксацию растений сои и пшеницы. Биолог. журн. Армении 58, 1-2, 43-47, 2006.
9. Akopian J., Stepanian T., Matevossian F., Alexanian N. Le nitragin et la zeolite naturelle: nouveaux procedes de leur utilizarion dans l'agroculture. 06. 06. 08, Brevet d' invention, N0603146, Republique Francaise.
10. Aleksanyan N., Stepanyan T., Harutyunian S., Matevosyan F., Akopian J., Saghian A. Nitragin and natural zeolites-new wayes of their implementation in agriculture. International conferense State-of the-Art Biotechnology in Armenia &ISTC contribution, Tsakhkadzor, Republic of Armenia, Sept.28-Oct.-02, 2008.
11. Galleguillos C., Aguirre C., Barea J.M., Azcon R. Growth promoting efect of two Sinorhizobium meliloti strains (a wild type and its genetically modified derivative) on a non-legume plant species in specific interaction with two arbuscular mycorrizial fungi. Plant Sci., 159, p. 57-63, 2000.
12. Noel T. C., Sheng C., Yost C. K., Pharis R. P., Hynes M. F. Rhizobium leguminosarum as a plant-promoting rhizobacterium: direct growh promotion of canola and lettuce. Can. J. Microbiol., 42, p. 279-283, 1996.
13. Rajae S., Alikhani H.A., Raiesi F. Effect of plant growth promoting potentials of Azotobacter chroococcum native strains on growth, yield and uptake of nutrients in wheat. J.of Sciense and Technology of Agriculture and Natural Resourses, 11, 41, p. 297, 2007.
14. Young Y.M., Park D.C Probably synonymy of the nitrogen fixing genus Azotobacter and genus Pseudomoas. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 57, p. 2894- 2901, 2007.

Поступила 16.07.2010.



LINKAGES BETWEEN CCR4 AND G1-PHASE CYCLINS

A. M. MANUKYAN

Institute of Molecular Biology NAS RA, Yerevan, Armenia,
arkadi.manukyan@gmail.com

Department of cell Biology and Biochemistry Texas Tech University
Health Sciences Center, Lubbock, Texas 79430

Genetic analysis has revealed that G1-phase cyclins are involved in the relationship in terms of cell size and commitment to cell division. When *CLNs* were expressed at more than normal physiological level they dramatically reduce the critical cell size and advance the progression past Start point. In contrast, reduction or delay of the expression of *CLNs* will produce abnormally large cells and delay the Start. To identify the genetic pathways that may link G1-phase cyclins to cell size, we conducted a systematic genomic-wide genetic screen in yeast. In this screen we identified several genes affecting cell size. Some of those gene products interact physically in highly conserved Ccr4-Not complex. Loss of function of these genes dramatically increases cell size at which cells are being divided. To investigate the role of cell size mutants in the coordination of cell growth with proliferation we choose Ccr4, one of the core components of the Ccr4-Not complex, for further study. We found that the strain with deleted *CCR4* gene has delayed *CLN1* and *CLN2* transcription which results to formation of large cell phenotype.

G1-phase cyclin – Ccr4-Not complex – cell size – Start

Գենետիկական վերլուծությունը ցույց է տվել, որ G1 փուլի ցիկլինները ներգրավված են բջջի չափերի կարգավորման գործում: Երբ ցիկլինների քանակությունը բջջում գերազանցում է նորմալ ֆիզիոլոգիական մակարդակը, բջջի բաժանման ժամանակ տեղի է ունենում, Ստարտե սահմանային կետի վաղաժամ անցում և բջջի կրիտիկական չափերի փոքրացում և ընդհակառակը: G1 փուլի ցիկլինների և բջջի չափերի փոխկապակցության հիմքում ընկած գենետիկական մեխանիզմի բացահայտման համար իրականացրել ենք գեների հաջորդական հետազոտություն խմորասնկերում: Այս հետազոտության ընթացքում բացահայտվել են բազմաթիվ գեներ, որոնցից կողավորվող սպիտակուցները ուղղակիորեն փոխազդում են CCR4-Not համալիսի հետ: Այս գեների ֆունկցիայի բացակայությունը առաջ է բերում բջջի բաժանման խթանման համար անհրաժեշտ չափերի աճ: Հետագա հետազոտությունների համար ընտրվել է CCR4 գենը, որը հանդիսանում է Ccr4-Not համալիսի հիմնական բաղադրիչներից մեկը: Մենք հայտնաբերել ենք, որ Ccr4 գենի դելեցիա պարունակող մուտանտի մոտ *CLN1* և *CLN2* գեների տրանսկրիպցիան հետաձգված է, որն էլ հանդիսանում է բջջի չափերի աճի հիմնական պատճառը:

G1 փուլի ցիկլիններ - Ccr4-Not համալիս - բջջի չափեր - ,Ստարտե

Генетический анализ показал, что в процесс регулирования размеров клетки вовлечены циклины фазы G1. Но взаимоотношения между циклинами (*CLN1* и *CLN2*), размером клетки и готовностью клетки к делению весьма сложны. Экспрессия *CLN*-ов выше нормы, резко снижает критический размер клетки, необходимый для старта начала клеточного цикла и наоборот. С целью выявления генетических путей связывающих циклины фазы G1 и размер клетки, мы провели систематический всегеномный скрининг у дрожжей.

В ходе анализа мы выявили несколько генов, генетические продукты которых физически взаимодействовали в высоко консервативном комплексе Ccr4-Not. Потеря функции этих генов критически увеличивала размер клетки, который необходим для начала процесса деления. Для дальнейшего изучения роли размера клетки в координации процесса деления, мы выбрали *CCR4*, один из основных составляющих комплекса Ccr4-Not. Мы обнаружили, что у штамма с делецией *ccr4* гена, транскрипция *CLN1* и *CLN2* циклинов задержана которое приводит к образованию фенотипа клеток, отличающихся большим размером.

Циклины фазы-G1 – Ccr4-Not комплекс – размер клетки – «Старт»

In most eukaryotes, cells become committed to round of cell division at an event in G1 phase. This event is called Start in the yeast and restriction point in mammalian cells [1, 2, 6, 8].

In *Saccharomyces Cerevisiae*, it is well known that Start is dependent upon the G1-phase cyclins Cln1, Cln2, Cln3 and its associated cycline dependent kinase (Cdk) Cdc28 [1, 2, 6, 10, 11 and 14]. Just prior to Start, as cells approach the required critical size, Cln3-Cdc28 kinase phosphorylates Whi5, promoting its dissociation from transcription factors SBF and MBF, whose basal activity is kept low by Whi5. SBF and MBF induce the transcription of about 200 genes [7, 13] which are involved in DNA synthesis and repair, but the key transcripts are the G1 cyclins *CLN1* and *CLN2* and the B-type cyclins *CLB5* and *CLB6* [7, 13]. When no Cln3 is present, other cyclins, such as Bck2, may substitute for it, although quite inefficiently; therefore, the entrance into S phase takes place after a longer G1-phase than in wild-type cells [9].

As G1-phase cells grow in size toward Start, the abundance of the Cln1 and Cln2 mRNAs and proteins increases [4, 15]. In both yeast and mammalian cells it is widely believed that a critical amount of G1-phase cyclins must accumulate to induce cell cycle progression [1, 2, 6, 10, 11, and 14]. However, the relationship between G1-phase cyclins, cell size and commitment to cell division has not been well understood.

To identify the genetic pathways that may link G1-phase cyclins to cell size, we conducted a systematic genomic-wide genetic screen in yeast. Several hundred genes were identified that dramatically altered cell size and are involved in cell size homeostasis. Most of the currently known cell size control genes directly or indirectly affect the expression or activity of G1-phase cyclins, demonstrating the integral role of cell cycle regulation and G1-phase cyclins in cell size control. Interestingly, the gene products of five large mutants, Ccr4, Hpr1, Paf1, Pop2, and Rlr1, physically interact with or are components of Ccr4-Not complex. This complex plays an essential role in the control of gene expression. Characterization of several cell size mutants revealed that these genes function by regulating the timing of expression of G1-phase cyclins. By elucidating the role of *CCR4* in the coordination of cell growth with proliferation we found that *CLN1* and *CLN2* transcription were delayed in *ccr4Δ* strain which lead large cell phenotype.

Materials and Methods. Strains and media

The strains used in this work were derived from S288c *S. Cerevisiae*. Yeast cultures were grown in YEP-based medium (20.0 g of Difco Bacto Peptone and 10.0 g of Difco Bacto Yeast Extract dissolved in 900 ml of water, 100 ml of 20% glucose, sucrose, or raffinose).

Quantification of cell size, percentage of budded cells, and cell cycle distribution.

Cell cycle synchronizations were performed by centrifugal elutriation as previously described (3). The percentage of budded cells was determined by coding samples and then counting the cells with visible buds in a minimum of 200 cells. Analysis of the cell size distribution of yeast strains was done with a Coulter Counter Channelyzer ZM or Z2.

Recombinant DNA technique

Escherichia coli transformations, plasmid extractions, restriction digestions, and molecular cloning techniques were conducted using standard protocols as previously described (Ausubel 1987). To make a *GAL-CCR4* construct, oligonucleotides were designed for the amplification of the complete open reading frame. A typical 100- μ l PCR reaction contained 10 ng of DNA template, 2–5 units of Pfu polymerase, 100 pmol of each primer, 1 ml of 25 mM dNTPs, and 10 ml 10X Pfu buffer. Typical reactions had 30 cycles consisting of denaturation for 1 min at 95°C, annealing at 50°C–58°C for 1 min, and a 1- to 3-min extension at 72°C (1 min for a 1-kb fragment) performed with an Eppendorf Mastercycler.

Preparation of RNA and Northern analysis

RNA preparation and Northern analysis were conducted using standard protocols as previously described (12). Quantification of Northern data was conducted with the FluorChem 2.0 spot densitometry analysis program (Alpha Innotech). Images captured on film were digitized and analyzed. To ensure linearity of the signal from film exposures, three to seven exposures were analyzed in each case. To control for loading, *CLN* mRNA signals were normalized to the *ACT1* mRNA.

Results and Discussion.

G1-phase cyclin *CLN1* and *CLN2* expression linked to cell size threshold

G1-phase cyclin *CLN1* and *CLN2* are cell cycle regulators that promote transition from G1 to S phase. Deletion of these genes cost abnormally large cell phenotype and delay G1/S transition (Start). (Fig. 1A).

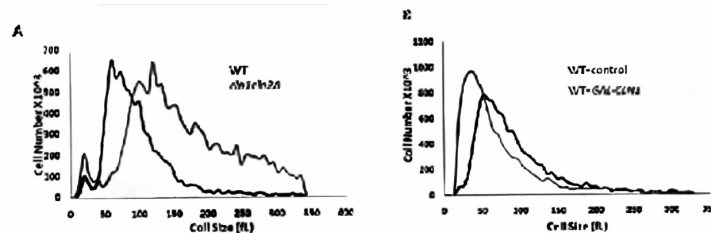


Fig. 1. Loss of *Cln1* and *Cln2* functions results in abnormally large cells. Average mean cell sizes were 92 ± 1 fl (WT), 148 ± 5 fl (*cln1cln2* Δ) ($P=0.0005$) (A) Ectopic overexpression of *CLN1* reduces the size of wild-type cells. The mean cell sizes of diploid wild-type cells transformed with control plasmid (e.g., an empty *GAL*-promoter construct), *GAL-CLN1*, grown in YEPRG as described were 84 ± 5 fl, 53 ± 4 fl, respectively ($P=0.005$) (B) Similar data (56 ± 3 fl) were obtained with overexpression of *CLN2* (not shown).

In log phase the average size of wild-type diploid cells from the S288c background is 92 ± 1 fl, when they grow in rich media. Under the same condition the size of *cln1cln2* Δ double deletion strain significantly increased (148 ± 5 fl; $P=0.0005$). This data suggests that cell size requirements may in part reflect the need for a critical amount of the *Cln1* and *Cln2* proteins. Since the absence of G1-phase cyclin *CLN1* and *CLN2* expression produce large cells, next we examined whether overexpression of *CLN1* or *CLN2* reduce cell size of wild-type cells. Wild type strains containing integrated *GAL-CLN* constructs give high, nonphysiological levels of *CLN* expression when induced with 1% galactose. We found that overexpression of *CLN1* (or *CLN2*) significantly decrease the size of wild type cells (Fig. 1B). Overall this data suggest that there is a threshold requirement for G1-phase *CLNs* which is a major determinant of critical cell size required for G1-S transition.

Cell cycle control and Ccr4-Not complex genes are involved in cell size homeostasis

To identify the genetic pathways that link G1-phase cyclin expression and proliferation to cell size, we conducted a systematic genomic-wide genetic screen in yeast. In this light, mutations were identified that either dramatically increased or decreased average cell size. Interestingly a group of mutants that dramatically altered cell size are member of cell cycle control genes.

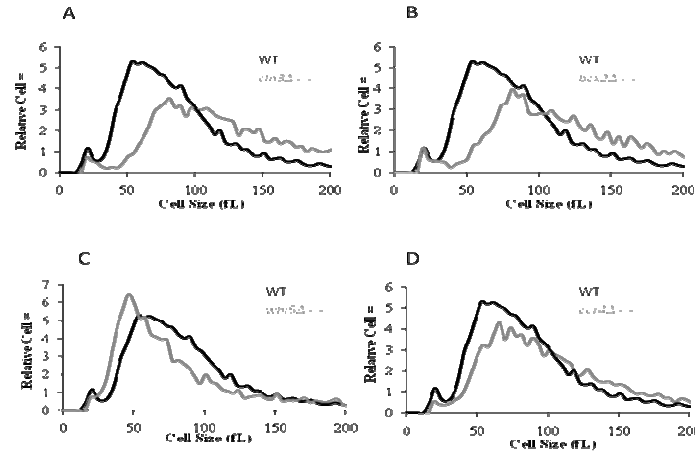


Fig. 2 Loss of *Cln3*, *Bck2* and *Ccr4* function result in abnormally large cells. In contrast loss of *Whi5* function results abnormally small cells. The mean cell sizes of diploid wild-type, *cln3*Δ (A), *bck2*Δ (B), *whi5*Δ (C) and *ccr4*Δ (D) cells grown in YPD as described were plotted as a function of cell number. Average mean cell sizes were 92 ± 1 fl (WT), 128 ± 10 fl (*cln3*Δ), 110 ± 5 fl (*bck2*Δ), 76 ± 5 fl (*whi5*Δ) and 106 ± 4 fl (*ccr4*Δ) ($P=0.0005-0.02$).

In our screen we found that deletion of either *bck2*Δ or *cln3*Δ increases cell size (Fig. 2A and 2B; $P=0.02-0.05$). Since it has been shown that *Cln3* and *Bck2* activate the transcription of the downstream G1-phase cyclins *CLN1* and *CLN2*, we suggest that large cell phenotype of *bck2*Δ or *cln3*Δ is reason of down-regulation of *CLN1* and *CLN2* expression. In contrast we found that in *whi5*Δ deletion strain average cell size was decreased (Fig. 2C). *Whi5* protein, functionally equivalent with pRB tumor suppressor gene in mammalian cells, suppresses G1-phase cyclins *CLN1* and *CLN2* expression. Therefore loss of *Whi5* function results in premature *CLN1* and *CLN2* expression.

We also found a group of cell size mutants that are members of the highly conserved *Ccr4*-Not complex or associated with this complex. We elucidated the role of *Ccr4* in the coordination of cell growth with proliferation. We found that deletion of *ccr4*Δ produce abnormally large cells (Fig. 2D). Since the strain with *CCR4* gene deletion (*ccr4*Δ strain) has similar phenotype with *bck2*Δ and *cln3*Δ strain we suggest that *Ccr4* may also regulate *CLN1* and *CLN2* expression.

Overexpression of *CCR4* dramatically decreases the size of wild-type strain

Since deletion of *ccr4*Δ increased the average cell size we examined whether overexpression of *CCR4* could reduce cell size. We created *GAL-CCR4* construct, which gave high, nonphysiological levels of *CCR4* expression when induced with 1% galactose. By overexpressing this construct in wild type strains we found that average cell size was decreased (Fig. 3).

During our study we also examined the role of *Ccr4* in G1/S transition point Start. For that reason we synchronized wild type and *ccr4*Δ strains using centrifugal elutriation. Similar sized unbedded early G1 cells were collected (≈ 35 to 45 fl), resuspended in fresh YEPD media and incubated at 30°C . Samples were taken at regular intervals, and cell size and percent budding were measured. When the budding data are plotted as a function of time (Fig. 4A) and the same budding data are plotted as a function

of cell size (Fig. 4B) we found that budding was delayed around 30 min in *ccr4Δ* cells compare with wild type strain. Moreover, data indicated that *ccr4Δ* cells were budded 8-10 fl larger size than wild type strain.

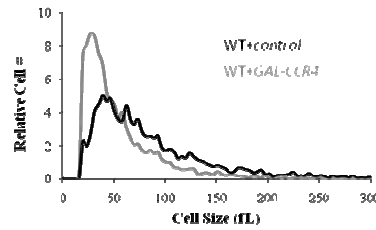


Fig. 3. Ectopic overexpression of *CCR4* reduces cell size. The mean cell sizes of diploid wild-type cells transformed with control plasmid (e.g., an empty GAL-promoter construct), *GAL-CCR4*, grown in YEPRG as described were 84 ± 5 fl, 58 ± 4 fl, respectively.

During our study we also examined the role of Ccr4 in G1/S transition point Start. For that reason we synchronized wild type and *ccr4Δ* strains using centrifugal elutriation. Similar –sized unbudded early G1 cells were collected (≈ 35 to 45 fl), resuspended in fresh YEPD media and incubated at 30°C. Samples were taken at regular intervals, and cell size and percent budding were measured. When the budding data are plotted as a function of time (Fig. 4A) and the same budding data are plotted as a function of cell size (Fig. 4B) we found that budding was delayed around 30 min in *ccr4Δ* cells compare with wild type strain. Moreover, data indicated that *ccr4Δ* cells were budded 8-10 fl larger size than wild type strain.

Overexpression of CLN1 and CLN2 dramatically decrease the size of ccr4Δ strain

It has been shown that *CLN3* and *BCK2* are major regulators of *CLN1* and *CLN2* expression. So deletions of other *CLN3* or *BCK2* will down-regulate *CLN1* and *CLN2* expression and produces abnormally large cells.

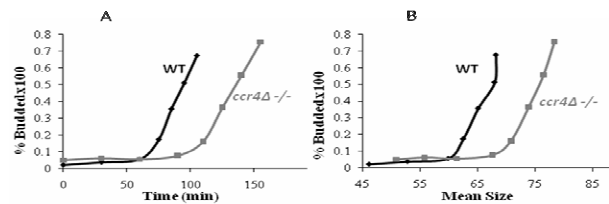


Fig. 4. Progression past Start is delayed in cells lacking *CCR4*. Centrifugal elutriation was used to isolate small, unbudded G1-phase cells. Following elutriation, cells were resuspended in fresh medium at 25°C and time points were taken every 15 min. The percentage of budded cells is plotted as a function of time (A) and as a function of cell size (B).

Since overexpression of *CLN1* or *CLN2* will reduce the cell size (Fig. 1B) we examined whether overexpression of *CLN1* or *CLN2* will rescue large cell phenotype of *ccr4Δ* strain. By overexpressing *CLN1* gene under the control of GAL promoter in *ccr4Δ* cells we found that the average size *ccr4Δ* strain was decreased (Fig. 5). This data indicated that the large phenotype of *ccr4Δ* is the reason of *Cln1* and *Cln2* deficiency.

CLN transcription is delayed in ccr4Δ deletion strain

To address the question whether *ccr4Δ* cells are abnormally large due to *CLN1* and *CLN2* deficiency we compared the abundance of *CLN1* and *CLN2* mRNA during mid-log phase in mutant and wild type strain. Northern analysis revealed that the levels

of *CLN1* and *CLN2* mRNAs were only modestly changed in mutants (Fig. 6A), suggesting that *CLN1* and *CLN2* mRNA expression levels were unlikely to be the reason that cells are unusually large.

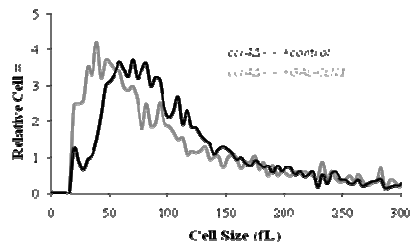


Fig. 5. Ectopic overexpression of *CLN1* reduces cell size. The mean cell sizes of diploid *ccr4Δ* cells transformed with control plasmid (e.g., an empty GAL-promoter construct), *GAL-CLN1*, grown in YEPRG as described were 94 ± 6 fl, 85 ± 6 fl, respectively.

The large critical cell size and the delayed Start of *ccr4Δ* cells strongly suggested that *CLN* expression might also be delayed. To examine this possibility, RNA was isolated from the same time points from for budding and cell size. The expression of *CLN1* and *CLN2* mRNA were then measured by Northern. Consistent with the timing of Start, in the wild type cells, the expression of *CLN1* and *CLN2* mRNA was undetectable until the 60 min time point and peaked between 75-90 min. In contrast, in the cells *CLN1* and *CLN2* mRNA was undetectable until the 90 min time point and peaked between 110~125min (Fig. 6B).

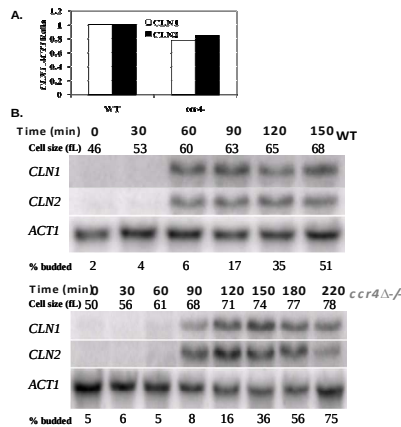


Fig. 6 *CLN1* and *CLN2* mRNA expression is advanced or delayed in cells cell size mutants. Total RNA isolated from mid-log-phase wild-type and cell size mutants YPD cultures were analyzed by Northern analysis. Blots were hybridized with *CLN1* and *CLN2* probes. *ACT1* probes were used as loading controls. Quantitation revealed that *CLN1* and *CLN2* levels were reduced only 10 and 15%, respectively, in *ccr4Δ* mutant (A). Total RNA was isolated from the elutriation fractions. Blots from wild-type cells and *ccr4Δ* cells were hybridized with *CLN1* and *CLN2* probes. *ACT1* probes were used as loading controls. Analysis of data reveals that, in *ccr4Δ* cells, ~50% of cells have progressed past G1-phase when cells are 75–79 fl, while in wild-type cells this happens at ~73 fl.

The result indicated that *CLNs* expression also delayed in *ccr4Δ* strain. From the above data, we concluded that Ccr4 positively regulated *CLN1* and *CLN2* mRNA expression and determines the timing of their expression.

Finally, the present study is the first investigation concerning the role of Ccr4 in the cell cycle control, such as regulation of the expression of G1-phase cyclin *CLN1* and *CLN2*.

REFERENCES

1. Blagosklonny, M.V., and A.B. Pardee. The restriction point of the cell cycle. *Cell Cycle* 1, 103–110, 2002.
2. Cross, F.R. Starting the cell cycle: what's the point? *Curr. Opin. Cell Biol.* 7, 790–797, 1995.
3. Day, A.C. Schneider, and B.L. Schneider. Yeast cell synchronization. In H. B. Lieberman *Cell cycle checkpoint control protocols*. Humana Press, Totowa, N.J 2003.
4. Dolznig, H., Grebien, F., Sauer, T., Beug, H., and Mullner, E.W. Evidence for a size-sensing mechanism in animal cells. *Nat. Cell Biol.* 6, 899–905, 2004.
5. Futcher, B. Transcriptional regulatory networks and the yeast cell cycle. *Curr. Opin. Cell Biol.* 14, 676–683, 2002.
6. Hartwell, L.H., J. Culotti, J.R. Pringle, and B.J. Reid. Genetic control of the cell division cycle in yeast. *Science* 183, 46–51, 1974.
7. Hartwell, L.H., and Unger, M.W. Unequal division in *Saccharomyces cerevisiae* and its implications for the control of cell division. *J. Cell Biol.* 75, 422–435, 1977.
8. Hovland, P., J. Flick, M. Johnston, and R.A. Sclafani. Galactose as gratuitous inducer of GAL gene expression in yeasts growing on glucose. *Gene* 83, 57–64, 1989.
9. Moore, S.A. Kinetic evidence for a critical rate of protein synthesis in the *Saccharomyces cerevisiae* yeast cell cycle. *J. Biol. Chem.* 263:9674–9681, 1988.
10. Polymenis, M., and E.V. Schmidt. Coordination of cell growth with cell division. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 9, 76–80, 1999.
11. Popolo, L., M. Vanoni, and L. Alberghina. Control of the yeast cell cycle by protein synthesis. *Exp. Cell Res.* 142, 69–78, 1982.
12. Schneider BL, Zhang J, Markwardt J, Tokiwa G, Volpe T, Honey S, Futcher B. Growth rate and cell size modulate the synthesis of, and requirement for, G1-phase cyclins at start. *Mol Cell Biol.* Dec; 24(24):10802-13, 2004.
13. Stocker, H., and E. Hafen. Genetic control of cell size. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 10, 529–535, 2000.
14. Tokiwa, G., M. Tyers, T. Volpe, and B. Futcher. Inhibition of G1 cyclin activity by the Ras/cAMP pathway in yeast. *Nature* 371, 342–345, 1994.
15. Tyers, M., G. Tokiwa, R. Nash, and B. Futcher. The Cln3-Cdc28 kinase complex of *S. cerevisiae* is regulated by proteolysis and phosphorylation. *EMBO J.* 11, 1773–1784, 1992.

Received 13.09.2010



ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТКОВ ГЕРБИЦИДА ГРАНСТАР МЕТОДОМ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

К.В. АВЕТИСЯН, Л.А. АДЖЕМЯН

Научный центр земледелия и защиты растений, Эчмиадзин

Разработан метод определения остатков гербицида гранстар. Он основан на извлечении препарата ацетоном и хроматографировании в подвижной фазе гексан-ацетон (3 : 2) на пластинках “Силуфол”. Гербицид проявляется двумя близко расположенными синими пятнами на желтом фоне.

Гербицид – гранстар – остатки – тонкослойная хроматография

Մշակվել է կենսաբանական օրյեկտներում գրանստար հերբիցիդի մնացորդների որոշման մեթոդ, որի հիմքում ընկած է պատրաստուկի ագեստով կորզումը և քրոմատոգրաֆիան հեքսան-ացետոն շարժուն փուլում, Սիլուֆոլե մակնիշի թիթեղների վրա: Հայտաձուլից հետո պատրաստուկը ի հայտ է գալիս դեղին ֆոնի վրա, միմյանց շատ մոտ գտնվող երկու բծերի տեսքով:

Հերբիցիդ – գրանստար – մնացորդներ – նրբաշերտ քրոմատոգրաֆիա

Method of residual amounts detection of the herbicide granstar was elaborated. It is based on extraction of preparation by acetone. Chromatography was carried out in hexane-acetone system (3:2) on the “Silufol” plates. Herbicide was revealed in form of two closely located blue spots on yellow background.

Herbicide – granstar – residual – layer chromatography

Гербицид гранстар (DPX-L5300) выпускается в виде 75%-ных водорастворимых гранул фирмой «Дюпон» США.

Химическое название гербицида гранстар – метил 2 [3- (4- метокси-6-метил-1, 3, 5 – триазин – 2- ил) –3- метил- мочевиносulфонил] бензоат.

Гербицид обладает широким спектром действия в борьбе против двудольных сорняков, и наилучшие результаты получаются при послевсходовом внесении.

Препарат может поглощаться корневой системой и листьями сорняков. По мере распространения его по растению он ингибирует фермент ацетолактатсинтазу, косвенно вызывая нарушение в делении клеток.

Материал и методика. Метод определения остатков основан на извлечении гербицида ацетоном и последующем хроматографировании в тонком слое на пластинке «Силуфол».

50-100 г воздушно-сухой почвы, предварительно просеянной через сито, заливается ацетоном до покрытия пробы и встряхивается в течение одного часа. Экстракт пропускается через безводный сернокислый натрий, выпаривается и наносится этим же растворителем на хроматографическую пластинку.

К 5-10г зерна грубого помола добавляется ацетон и встряхивается на качалке 30 мин. Процедура повторяется 2-3 раза. Ацетоновые экстракты объединяются, проводятся через безводный сернокислый натрий, выпариваются до 0,1-0,3 мл на ротонном испарителе и наносятся на пластинку.

20 г растертых зеленых листьев заливаются ацетоном и ставятся на качалку на 30 мин. Процедура повторяется еще 2 раза. Объединенные экстракты пропускаются через безводный сернокислый натрий, выпариваются на ротационном испарителе и наносятся на пластинку. При наличии воды после выпаривания препарат извлекается гексаном, сушится безводным сульфатом натрия и упаривается.

Пластинка помещается в хроматографическую камеру с подвижным растворителем гексан-ацетон в соотношении 3 : 2.

Проявка хроматограммы проводится смесью равных частей 2%-ного водного раствора азотнокислого серебра и 0,4%-ного ацетонового раствора бромфенолового синего. Для осветления фона пластинка опрыскивается 2%-ным водным раствором лимонной кислоты.

Гранстар проявляется в виде двух близко расположенных синих пятен на желтом фоне пластинки с R_f –0,33 и ,35.

Результаты и обсуждение. Метрологическая характеристика метода следующая: чувствительность метода - 2 мкг в пробе; размах варьирования, %: в почве –10, зерне – 5, листьях – 10; точность определения в среднем составляет, %: в почве –89, зерне –82,5, листьях – 83,3; стандартное отклонение в почве –3,7; зерне – 2,8; листьях – 4,1; относительное стандартное отклонение в почве –4,2; зерне – 3,7; листьях – 4,9.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бажанова Н.В., Арутюнян Ж.А., Аветисян К.В., Арутюнян М.Г., Аджемян Л.А. Методы определения микроколичеств гербицидов и фунгицидов и динамика их детоксикации в объектах окружающей среды Армянской ССР, Ереван, 1986.

Поступила 28.09.2009.



ՎԱՍՏԱԿԱՇԱՏ ԳԻՏՆԱԿԱՆ ՌԻ ՄԱՆԿԱՎԱՐԺԸ

Լրացավ Երևանի պետական համալսարանի կենսաֆիզիկայի ամբիոնի պատվավոր վարիչ, կենսաբանական գիտությունների դոկտոր, պրոֆեսոր, գիտության վաստակավոր գործիչ, հմուտ մանկավարժ Գերասիմ Հարությունի Փանոսյանի 80-ամյակը: Լինելով գիտնական իր ողջ էությամբ խոր գիտելիքներ ունեցող վառ անհատականություն, սկզբունքային և հայրենասեր մտավորական նա ավելի քան հինգ տասնամյակ անմնացորդ նվիրվել է իր սիրած գործին՝ գիտամանկավարժական գործունեությանը: Մեծ է պրոֆեսոր Գ. Փանոսյանի ներդրումը հայ կենսաբանական գիտական մտքի զարգացման, Հայաստանում կենսաբանության ժամանակակից բնագավառների մասնագետների պատրաստման գործում: Հարյուրավոր երիտասարդ կենսաբաններ են կրթվել, մասնագիտական իրենց մկրտությունը ստացել, ունկնդրելով նրա հետաքրքիր և բովանդակալից դասախոսությունները, մի քանի տասնյակը նրանցից իրենց գիտական ուղին սկսել են պրոֆեսոր Գ.Հ. Փանոսյանի անմիջական աջակցությամբ և ղեկավարությամբ:



Գերասիմ Հարությունի Փանոսյանը ծնվել է 1930թ. Մոսկվայում, հայտնի գիտնական, մանրէաբան, Հայաստանի ԳԱ թղթակից անդամ, պրոֆեսոր Հարություն Փանոսյանի ընտանիքում, ինչը, հավանաբար, հետագայում վճռորոշ դեր է խաղացել երիտասարդ Գ.Փանոսյանի մասնագիտական կողմնորոշման գործում: Այնուհետև Փանոսյանների ընտանիքը տեղափոխվել է Երևան, և նա 1953 թվականին փայլուն գնահատականներով ավարտել է Երևանի պետական համալսարանի կենսաբանության ֆակուլտետը: 1953-1956 թվականներին սովորել է Մոսկվայի Լոմոնոսովի անվան պետական համալսարանի ասպիրանտուրայում և հայրենական խոշոր ֆիզիոլոգ, առաջադեմ և նորարար գիտնական Խ.Ս. Կոշտոյանցի ղեկավարությամբ 1957 թվականին պաշտպանել թեկնածուական ատենախոսություն, նվիրված այդ ժամանակի հրատապ հիմնահարցերից մեկին՝ կմախքային մկանների միոներալ սինապսում ագետիլիտին — խոլինէսթերազ համակարգի դերին: Ատենախոսական թեման ֆիզիոլոգիական էր, սակայն այն, լինելով կենսաքիմիական ֆիզիոլոգիայի բնագավառի ուսումնասիրություն, առնչվում էր այդ ժամանակ դեռևս նոր ձևավորվող մոլեկուլային կենսաբանական պատկերացումների հետ: Երիտասարդ Գ.Փանոսյանի ամենօրյա անմիջական շփումները ակադեմիկոս Խ.Ս.Կոշտոյանցի հետ, Մոսկվայի պետական համալսարանում այդ տարիներին տիրող մոլեկուլային կենսաբանության մթնոլորտը՝ շնորհիվ երևելի գիտնականներ Վ.Ա. Էնգելզարդտի և Ա.Ն. Բելզդերսկու օրիգինալ հետազոտությունների, որոնք յուրօրինակ հիմք հանդիսացան և լուրջ նախադրյալներ ստեղծեցին երկրում մոլեկուլային կենսաբանության և կենսաֆիզիկայի զարգացման համար, մեծ նշանակություն ունեցան երիտասարդ գիտնականի հետագա մասնագիտական կողմնորոշման գործում: Գերասիմ Փանոսյանի հետագա գիտական հետաքրքրությունների ձևավորմանը, անկասկած, նպաստեց նաև 1961-1964 թվականներին նրա աշխատանքային գործունեությունը ԽՍՀՄ ԲԳԱ Պոլիմիելիտի և վիրուսային էնցեֆալիտի ինստիտուտում հայտնի վիրուսաբան, պրոֆեսոր Վ.Բ. Ազոլի լաբորատորիայում: Հարկ է նշել, որ դրանք այն տարիներն էին, երբ խորհրդային կենսաբանությունը համընդհանուր ճգնաժամ էր ապրում՝ գտնվելով լիսենկոյական կեղծ գիտական դրույթների ազդեցության տակ, և ցանկացած նոր պատկերացում կենսաբանական գիտության բնագավառում տրվում էր մեծ ճիգերի շնորհիվ: Ահա այս տարիներին էր ձևավորվում երիտասարդ մասնագետ Գերասիմ Փանոսյանը որպես ապագա գիտնական-հետազոտող:

1963 թ. Գ.Հ. Փանոսյանը հրավիրվում է Հայաստան, հիմնադրում Երևանի պետական համալսարանի կենսաֆիզիկայի ամբիոնը, որն ընդմիջումներով ղեկավարում է շուրջ 28 տարի: Այդ տարիներին նա իրեն դրևորեց նաև որպես գիտամանկավարժական գործունեության հմուտ կազմակերպիչ: Պատահական չէ, որ 1977 թվականին նա նշանակվում է Երևանի պետական համալսարանի գիտական աշխատանքների գծով պրոռեկտոր, իսկ մեկ տարի անց՝ Երևանի պետական անասնաբուժական-անասնաբուժական ինստիտուտի ռեկտոր: Շուրջ հինգ տարի աշխատելով այդ պատասխանատու պաշտոնում՝ պրոֆեսոր Գ.Փանոսյանը էապես բարելավեց բարոյա-հոգեբանական մթնոլորտն ինստիտուտում, անհաշտ պայքար մղեց տեղ գտած բացասական երևույթների դեմ: 1983-1986 թվականներին նա ստանձնում է Հայաստանի ԳԱ Փորձարարական կենսաբանության ինստիտուտի ղեկավարումը: Հարգարժան պրոֆեսորի մեղմ և հավասարակշիռ, բայց միաժամանակ խիստ սկզբունքային բնավորությունը, կազմակերպչական կարողություններն օգնեցին նրան զբաղեցնելու այդ պատասխանատու պաշտոնները: 1986թ. պրոֆ. Գերասիմ Փանոսյանը վերադարձավ հարազատ համալսարան, իր հիմնադրած ամբիոնը, որի պատվավոր վարիչն է 1997 թվականից:

Պրոֆեսոր Փանոսյանի կատարած ուսումնասիրություններն արժանացել են ոչ միայն հայրենական, այլև արտասահմանյան գիտնականների ուշադրությանը: 1966թ. գիտնականը հրավիրվում է Լոնդոն՝ Ուռուցքաբանության կենտրոն, որտեղ 1966-1967թթ. աշխատում և հետազոտություններ է կատարում պրոֆ. Բատլերի գլխավորած լաբորատորիայում (Դ. Ֆիլիպսի և Է. Ջոնսի հետ համատեղ): 1972թ. հայ գիտնականը աշխատում է Կալիֆոռնիայի տեխնոլոգիական ինստիտուտում՝ պրոֆեսոր Ջ. Բոնների լաբորատորիայում, իսկ 1976թ.՝ Պորտսմութի (Մեծ Բրիտանիա) պոլիտեխնիկական ինստիտուտում՝ պրոֆեսոր Բրեդբերիի լաբորատորիայում:

Լայն է պրոֆեսոր Փանոսյանի գիտական հետաքրքրությունների շրջանակը՝ քրոմատիկի և նրա բաղադրամասերի կառուցվածքա-ֆունկցիոնալ հետազոտություններ, գենային ակտիվության հորմոնալ կարգավորում և գենոմի վրա կենսաբանորեն ակտիվ այլ միացությունների ազդեցության մեխանիզմների բացահայտում, վերմոլեկուլային կառուցվածքների կազմավորման պրոցեսում մակրոմոլեկուլների փոխազդեցության ուսումնասիրում և այլն: Նման հիմնարար և արդիական հիմնահարցերի ուսումնասիրման ընթացքում որպես հետազոտման օբյեկտներ են ծառայել տարբեր կենսահամակարգեր, այդ թվում վիրուսներ և ֆագեր, բակտերիաներ, բույսեր, կենդանիներ, նորմալ և ուռուցքային բջիջներ, որոնք ուսումնասիրվել են ժամանակակից ֆիզիոլոգիական, կենսաքիմիական, կենսաֆիզիկական, իմունոլոգիական, մանրէաբանական, մոլեկուլային կենսաբանական մեթոդների կիրառմամբ:

Նշված հետազոտությունների մի մասը (որոշ կրճատումներով) ընդհանրացվել է Գ.Հ. Փանոսյանի «Հիստոնների որոշ հատկությունների և ֆունկցիաների հետազոտությունները թեմայով դոկտորական ատենախոսության մեջ, որը պաշտպանվեց 1973թ., ինչպես նաև «Հիստոնների կառուցվածքը և ֆունկցիաներն ուշագրավ մենագրության մեջ (1978թ.), որի կարևոր նշանակությունը թե՛ մասնագետների և թե՛ ուսանողության համար դժվար է գերազնահատել: Նա շուրջ 300 գիտական աշխատությունների հեղինակ է, այդ թվում 2 մենագրության, բազմաթիվ գիտական հոդվածների, որոնք հրատարակվել են թե՛ հայրենական և թե՛ արտասահմանյան հեղինակավոր գիտական ամսագրերում: Պրոֆեսոր Գերասիմ Փանոսյանի անմիջական աջակցությամբ ԵՊՀ կենսաֆիզիկայի ամբիոնում կատարվել և պաշտպանվել են 3 դոկտորական ատենախոսություններ, նա ղեկավարել է շուրջ մեկ ու կես տասնյակ թեկնածուական ատենախոսություններ, որոնք նվիրված են կենսաֆիզիկայի և մոլեկուլային կենսաբանության բազմաբնույթ հիմնահարցերին:

Շնորհաշատ գիտնականը, սիրված, վաստակաշատ մանկավարժը իր բազմամյա աշխատանքի և հայ գիտական մտքին մատուցած ծառայությունների համար բազմիցս պարգևատրվել է մեդալներով և պատվոգրերով, իսկ 1981թ. արժանացել է Հայաստանի գիտության վաստակավոր գործչի պատվավոր կոչման: Նա այսօր էլ մեզ հետ շարունակում է նույն եռանդով աշխատել նվիրվածության, ազնվության, կարգապահության օրինակ հանդիսանալով թե՛ դասախոսների և թե՛ ուսանողների համար:

*Երևանի պետական համալսարան,
կենսաբանության ֆակուլտետ,
կենսաֆիզիկայի ամբիոն:*