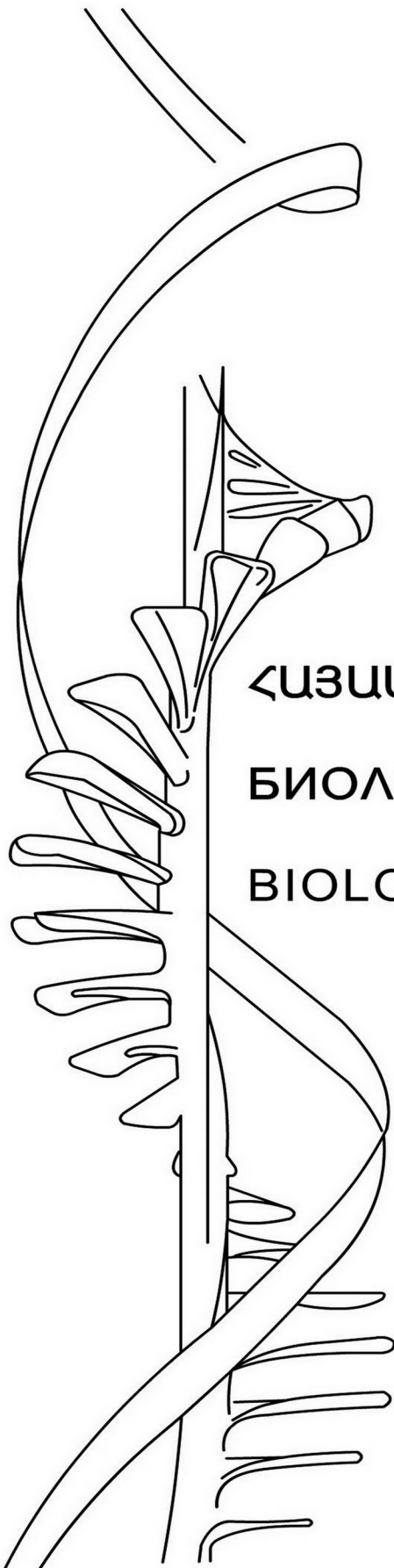


ISSN 0366-5119

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

2012

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

ԽՍՐԱԳՐԱԿԱՆ 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. Թռչունյան,
Լ.Ռ. Մանվելյան, Ս.Խ. Մայրապետյան, Ժ.Հ. Վարդանյան.

ԽՍՐԱԳՐԱԿԱՆ ԽՈՐՀՈՒՐԴ

Յու.Թ. Ալեքսանյան, Է.Գ. Աֆրիկյան, Է.Տ. Գաբրիելյան,
Ա.Ա. Գալոյան, Մ.Ա. Դավթյան, Ժ.Ի. Հակոբյան, Վ.Պ. Հակոբյան, Կ.Գ. Դարագյոզյան,
Ս.Հ. Սովսիսյան, 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.Դ. Եсаян (*ответственный секретарь*), Զ.Ա. Варданян, Դ.Ա. Գеворкян,
Տ.Խ. Маїрапетян, Ն.Ք. Манвелян, Ա.Ա. Трчунян

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Յ.Պ. Աкопяն, Զ.Ի. Աкопяն, Յ.Տ. Ալեքսանյան, Յ.Գ. Աֆրիկյան,
Յ.Ա. Գաբրիելյան, Ա.Ա. Գալոյան, Մ.Ա. Դավթյան, Կ.Գ. Կարագեզյան, Տ.Օ. Մովսեսյան,
Լ.Լ. Օսիպյան, Դ.Ա. Փանոսյան, Կ.Տ. Սոգոսյան.

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,
L.R. Manvelyan, S.Kh. Mayrapetyan, A.H. Trchounian,
Zh.H. Vardanyan.

THE EDITORIAL COUNCIL

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

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

• Փորձարարական և տեսական հոդվածներ •

Ասատրյան Վ.Լ., Հակոբյան Ս. Հ., Դավաթյան Մ.Ռ., Բոշյան Տ.Վ. Ձկնագետ և Գավառագետ գետերի էկոլոգիական վիճակի գնահատումը ըստ մակրոզոոբենթոսի ցուցանիշներ...	6
Ձաքարյան Հ.Ս. Նեյրոբլաստոմային SK-N-MC բջջային զծի պլոդիության ցուցանիշի ուսումնասիրությունը մարդու հերպեսվիրուս-1 վարակի ժամանակ.....	10
Վարդևանյան Պ. Հ., Ներկարարյան Ա.Վ., Շահինյան Մ.Ա., Փանոսյան Գ. Հ. Առնետների էրիթրոցիտների էլեկտրակինետիկ պոտենցիալի վրա ցածր ինտենսիվությամբ, կոհերենտ, ոչ ջերմային ԾԲՀ ԷՄՃ ազդեցությունը.....	16
Սահակյան Ն.Ա. Իմոբիլիզացիոն ստրեսը որպես հոգեհուզական ստրեսի մոդել և դրա գնահատումը առնետների մոտ ժամանակակից տեխնոլոգիաների օգնությամբ.....	21
Ավագյան Ա.Մ., Սարգսյան Մ.Ա. Բակտերիական միջատասպանների փորձարկումը կաղամբի տերևակեր վնասատուների դեմ արտադրության պայմաններում.....	25
Ազարյան Կ. Գ., Մարտիրոսյան Լ. Յու. Ազերատումի աճի և զարգացման առանձնահատկությունները աճման խթանիչներով մշակման պայմաններում.....	30
Ձաքարյան Հ. Վ. Փորձարարական այտուցի ժամանակ N-ացետիլ նեյրամինաթթուների քանակի ուսումնասիրությունը.....	35
Սավիլով Պ. Ն. <i>Escherichia coli</i> -ի մոնոցիտների կլանումը լյարդի ռեզեկցումից ինչպես նաև հիպերբարիկ օքսիգենացումից հետո.....	39
Գրիգորյան Ա. Գ. Հիմնային ֆոսֆատազի ակտիվության փոփոխությունները կենդանիների մոտ հիպոկինեզիայի պայմաններում.....	46
Գալստյան Մ. Հ., Գրիգորյան Ս. Հ., Սարկոսյան Մ. Ս. Հանքային եվ օրգանական պարարտանյութերի ազդեցությունը գարնանացան գարու բույսերում սննդատարրերի կուտակման դինամիկայի եվ բերքի հետ դրանց օտարման (ելի) վրա.....	50
Սարգսյան Ե. Գ., Անդրեասյան Ն. Ա., Հարությունյան Հ. Ա., Հայրապետյան Հ. Լ. Որոշ էթնոպաթոգենետիկ գործոնների ազդեցությունը ԱՂԱԶ Էքսպրեսիայի վրա.....	55
Նահապետյան Խ. Հ., Հարությունյան Ռ. Ա., Բաբախանյան Ա. Մ., Նիկողոսյան Գ. Թ. <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni ազդեցությունն առնետների սիրտ-անոթային և շնչառական համակարգերի ֆունկցիոնալ վիճակի վրա նորմայում և ստրեսի պայմաններում.....	63
Հովհաննիսյան Հ. Գ. Բարսեղյան Ա. Հ., Հակոբյան Վ. Պ., Հովհաննիսյան Ս. Ս., Մարության Ա. Վ. Բնական և արհեստական ծագում ունեցող պրեբիոտիկների <i>in vitro</i> յուրացումը <i>Lactobacillus acidophilus</i> Եր 307/412 «Նարինե» շտամի կողմից.....	67
Թորգոմյան Տ. Ռ., Լազյան Մ. Պ., Դավթյան Հ. Հ., Բատիկյան Թ. Բ., Ղազարյան Ռ. Ա., Ալեքսանյան Բ. Ա., Գալստյան Հ. Մ., Թադևոսյան Յու. Վ. Արյան մոնոնուկլեարային բջիջներում լիպիդների ճարպաթթվային մոդիֆիկացումը կրծքագեղձի և ձվարանների քաղցկեղների ժամանակ.....	73
Հովսեփյան Լ. Մ., Ղազարյան Գ. Ս., Հակոբջանյան Ա. Ա. Սպիտակուցների և լիպիդների օքսիդային մոդիֆիկացիաների ուսումնասիրությունը փորձարարական ճանապարհով հարուցված Պարկինսոնի սինդրոմի ժամանակ.....	80
Ազիզյան Ռ. Ա., Գևորգյան Ա. Է., Առաքելյան Վ. Բ., Գևորգյան Է. Ս. Պինգ-պոնգ մեխանիզմով ընթացող երկսուրստրատ ֆերմենտային ռեակցիաների կինետիկայի համակարգչային մոդելավորում.....	85
Սկրտչյան Ա. Լ., Ոսկանյան Վ. Ե., Բադալյան Վ. Լ. «Որդան կարմիր» արգելավայրի արդի վիճակ..	94
Սարգսյան Ռ. Ռ. Հիբրիդային ճնշվածության գեները հայկական ցորենների էնդեմիկ և սելեկցիոն սորտերում.....	99
Եփրեմյան Հ. Վ., Հովհաննիսյան Ռ. Հ. Հրազդան գետի ջրաֆիզիկական և ջրաքիմիական որոշ ցուցանիշների դինամիկան.....	104
Վարդապետյան Հ. Ռ., Տիրացույան Ս. Գ., Հովհաննիսյան Ա. Ա., Մարտիրոսյան Ա. Ս. <i>Hypericum perforatum</i> -ի էքստրակտների հակառադիկալային (DPPH) և ֆոտոդինամիկ ակտիվությունների ուսումնասիրությունը.....	111
Ջավադ Լ., Էլ-Մեմրի Ջ., Էլ-Մեմրի Հ. Օմանի ծոցի ջրերից ընտրված <i>Lutjanus bengalensis</i> (<i>Lutjanidae</i>) ձկան օթոլիտի չափումների Ֆլուկտուացող ասիմետրիան.....	117
Հովհաննիսյան Ռ. Լ., Ռուսկյան Մ. Յա. Հրազդան գետի ձկների մակաբույծների ֆաունան.....	122

СОДЕРЖАНИЕ

•Экспериментальные и теоретические статьи•

<i>Асатрян В.Л., Акопян С.А., Даллакян М.Р., Бошян Т.В.</i> Оценка экологического состояния рек Гаварагет и Дзкнагет по показателям макрозообентоса.....	6
<i>Закарян О.С.</i> Изучение показателя плоидности нейробластомных клеток SK-N-MC при заражении человека герпесвирусом типа-1.....	10
<i>Вардеванян П.О., Неркарарян А.В., Шагинян М.А., Паносян Г.А.</i> Влияние когерентного нетеплового ЭМИ КВЧ низкой интенсивности на электрокинетический потенциал эритроцитов крыс..	16
<i>Саакян Н.А.</i> Иммунизационный стресс как модель психоэмоционального стресса у крыс.....	21
<i>Авакян А.М., Саркисян М.А.</i> Испытание бактериальных инсектицидов против листогрызущих вредителей капусты в производственных условиях.....	25
<i>Азарян К.Г., Мартиросян Л.Ю.</i> Особенности роста и развития агератума при обработке регуляторами роста.....	30
<i>Захарян Г.В.</i> Исследование содержания N-ацетилнейраминовых кислот при экспериментальном отеке головного мозга.....	35
<i>Савилов П.Н.</i> Фагоцитоз моноцитами <i>Escherichia coli</i> после резекции печени и гипербарической оксигенации.....	39
<i>Григорян А.Г.</i> Изменение активности щелочной фосфатазы у животных при гипокинезии.....	46
<i>Галстян М.А., Григорян С.А., Маркосян М.С.</i> Влияние органических и минеральных удобрений на динамику накопления питательных веществ в яровом ячмене и их вынос с урожаем.....	50
<i>Саркисова Е.Г., Андреасян Н.А., Арутюнян А.А., Айрапетян Р.Л.</i> Влияние некоторых этнопатогенетических факторов влияющие на экспрессию ADA2.....	55
<i>Нагапетян Х.О., Арутюнян Р.А., Бабаханян А.М., Никогосян Т.Г.</i> Влияние стевии <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni на функциональное состояние сердечно-сосудистой и дыхательной систем крыс в норме и при стрессе.....	63
<i>Оганесян Г.Г., Барсегян А.А., Акопян В.П., Оганесян С.С., Марутян А.В.</i> Усвоение пребиотиков природного и синтетического происхождения штаммом <i>Lactobacillus acidophilus</i> Ep 307/412 'НАРИНЕ' <i>in vitro</i>	67
<i>Торгомян Т.Р., Лазян М.П., Давтян А.Г., Батикян Т.Б., Казарян Р.А., Алексанян*К.А., Галстян*Г.М., Тадевосян Ю.В.</i> Жирнокислотная модификация липидов в мононуклеарных клетках крови при раке молочной железы и яичников.....	73
<i>Овсепян Л.М., Казарян Г.С., Львов М.В., Аколджанян А.А.</i> Исследование окислительной модификации белков и липидов при экспериментально вызванном синдроме болезни Паркинсона.....	80
<i>Азизян Р.А., Геворгян А.Э., Аракелян В.Б., Геворгян Э.С.</i> Компьютерное моделирование кинетики двухсубстратных ферментативных реакций с механизмом пинг-понг.....	85
<i>Мкртчян А.Л., Восканян В.Е., Бадалян В.Л.</i> Современное состояние заказника "Арагатская кошениль".....	94
<i>Садоян Р.Р.</i> Гены гибридной депрессивности у эндемичных и селекционных сортов пшениц Армении.....	99
<i>Епремян Э.В., [Оганесян Р.О.]</i> Динамика некоторых гидрофизических и гидрохимических показателей реки Раздан.....	104
<i>Вардапетян Г.Р., Тируцян С.Г., Оганесян А.А., Мартиросян А.А.</i> Исследование антирадикальной (DPPH) и фотодинамической активностей экстракта <i>Hypericum perforatum</i>	111
<i>Джавад Л.А.</i> Флуктуирующая асимметрия отолита измерений <i>Lutjanus bengalensis</i> (Lutjanidae), отобранных из вод Оманского залива	117
<i>Оганесян Р.Л., Рухкян М.Я.</i> К изучению паразитофауны рыб реки Раздан	122

CONTENTS

•Experimental and theoretical articles•

<i>Asatryan V.L., Hakobyan S.H., Dallakyan M.R., Boshyan T.V.</i> The assessment of ecological state of the rivers Gavaraget and Dzknaget by the indicators of macrozoobenthos.....	6
<i>Zakaryan H.S.</i> The study of ploidy index of neuroblastoma cell line, SK-N-MC, during infection with human herpesvirus-1.....	10
<i>Vardevanyan P.O., Nerkararyan A.V., Shahinyan M.A., Panosyan G.H.</i> The influence of non-thermal coherent emi ehf with low intensity on electrokinetic potential of rat erythrocytes.....	16
<i>Sahakyan N.A.</i> Immobilization stress as the model of emotional stress in rats.....	21
<i>Avagyan A.M., Sargsyan M.A.</i> Testing of bacterial insecticides against cabbage leaf-eating pests in full-scale conditions.....	25
<i>Azaryan K.G., Martirosyan L.Y.</i> Growth and development of ageratum after application of growth stumulators.....	30
<i>Zakaryan G.V.</i> The study of N-acetylneraminic acid content during experimental brain edema.....	35
<i>Savilov P.N.</i> Phagocytosis of <i>E.coli</i> by monocytes after liver resection and hyperbaric oxygenation.....	39
<i>Grigoryan A.G.</i> Changes in activity of alkaline phosphatase in animals in conditions of hypokinesia.....	46
<i>Galstyan M.H., Grigoryan S.H., Markosyan M.S.</i> The influence of mineral and organic fertilizers on dynamics of spring barley nutrients' accumulation and their outflow with yield	50
<i>Sargisova Ye.G., Andreasyan N.A., Harutyunyan H.A., Hayrapetyan H.L.</i> Effect of some ethiopathogenetic factors on ADA2 expression.....	55
<i>Nahapetyan Kh.H., Harutjunyan R.A., Babakhahanyan A.M., Nikohosyan T.G.</i> Influence of <i>Stevia rebaudiana Bertoni</i> on functional state of the cardio-vascular and respiratory system in rats in standard conditions and under the stress.....	63
<i>Hovhannisyan H.G., Barseghyan A.H., Hakobyan V.P., Hovhannisyan S.S., Marutyan A.V.</i> In vitro utilization of natural and synthetic prebiotics by <i>Lactobacillus acidophilus</i> Er 307/412	67
<i>Torgomyan T.R., Lazyan M.P., Davtyan H.H., Batikyan T.B., Kazaryan R.A., Alexanyan K.A., Galstyan H.M., Tadevosyan Yu.V.</i> Fatty acid content modification of lipids in blood mononuclear cells in breast and ovarian cancers.....	73
<i>Hovsepian L.M., Kazaryan G.S., Lvov M.L., Hakobjanyan A.A.</i> Oxidative modification proteins and lipids in the experimental induced Parkinsonian syndrome.....	80
<i>Azizyan R.A., Gevorgyan A.E., Arakelyan V.B., Gevorgyan E.S.</i> Computational modeling of kinetics of the bisubstrate enzymatic reaction with ping-pong mechanism.....	85
<i>Mkrtchyan A.L., Voskanyan V.E., Badalyan V.L.</i> The current condition of “Vordan karmir” State sanctuary	94
<i>Sadoyan R.R.</i> Genes of hybrid depression in armenian endemic and selection wheat varieties.....	99
<i>Yepremyan H.V., <u>Hovhannisyan R.H.</u></i> The dynamics of some hydrophysical and hydrochemical conditions of the River Hrazdan.....	104
<i>Vardapetyan H.R., Tiratsuyan S.G., Hovhannisyan A.A., Martirosyan A.S.</i> Elucidation of DPPH antiradical and photodynamic activities of Hypericum perforatum extracts.....	111
<i>L. Jawad, J. Al-Mamry, D. Al-Mamary</i> Fluctuating asymmetry in the otolith dimensions of <i>Lutjanus bengalensis</i> (Lutjanidae) collected from muscat coast on the sea of Oman.....	117
<i>Hovhannisyan R.L., Rukhkyan M.Ja.</i> The research of the fish parasite fauna of Hrazdan River.....	122



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 2(64), 2012

ՁԿՆԱԳԵՏ ԵՎ ԳԱՎԱՌԱԳԵՏ ԳԵՏԵՐԻ ԷԿՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ՎԻՃԱԿԻ ԳՆԱՀԱՏՈՒՄՆ ԸՍՏ ՄԱԿՐՈԶՈՈՐԵՆԹՈՍԻ ՑՈՒՑԱՆԻՇՆԵՐԻ

Վ.Լ. ԱՍԱՏՐՅԱՆ, Ս.Յ. ՀԱԿՈԲՅԱՆ, Մ.Ռ. ԴԱԼԼԱՔՅԱՆ, Տ.Վ. ԲՈՇՅԱՆ

ՀՀ ԳԱՄ ԿՅԵԳԿ ԶիդրոնԷկոլոգիայի և ձկնաբանության ինստիտուտ
vardanasatryan@yahoo.com

Ձկնագետ և Գավառագետ գետերի Էկոլոգիական վիճակի գնահատման նպատակով 2011 թ.-ին իրականացվել են ջրակենսաբանական հետազոտություններ: Գետերում նկատվում է օրգանական աղտոտվածության օրինաչափ ավելացում ակունքից գետա-բերան ուղղությամբ: Սակայն Գավառագետի ակունքի ջրի որակը գնահատվել է որպես «գերազանց», իսկ Ձկնագետինը՝ որպես «շատ լավ», ինչը բացատրվում է Գավառագետի ակունքի ավելի բարձրադիր լինելով և ստորգետնյա սնմամբ, որը բացակայում է Ձկնագետ գետում:

Գետեր – ջրի որակ – զոոբենթոս

Для оценки экологического состояния рек Дзкнагет и Гаварагет в 2011 году были проведены гидробиологические исследования. В реках наблюдается закономерное повышение органического загрязнения от истоков до устьев. Тем не менее, качество воды в истоке реки Гаварагет было оценено как “отличное”, а в истоке Дзкнагета – “очень хорошее”, что объясняется более высоким расположением истока Гаварагета и наличием подземного питания.

Реки – качество воды – зообентос

For the assessment of ecological state of Dzknaget and Gavaraget rivers the hydrobiological investigations has been done in 2011. The organic pollution increases regularly from the river mouths to the estuaries. The water quality in Gavaraget river mouth is assessed as “perfect”, but the water quality in Dzknaget river mouth is assessed as “very good” due to the higher location of the mouth of river Gavaraget, which also has groundwater feeding.

Rivers – water quality – zoobenthos

Սևանի լիմնոհամակարգը Նորատուս-Արտանիշ գծով բաժանվում է 2 գոգավորության՝ Փոքր Սևան և Մեծ Սևան: Ձկնագետ և Գավառագետ գետերը հանդիսանում են Փոքր Սևանի Էկոհամակարգի կարևորագույն մաս: Այսպիսով, նշված գետերի ջրերի որակը մեծապես ազդում է ամբողջ Էկոհամակարգի ջրի որակի վրա:

Հատակային անողնաշարավոր կենդանիները խիստ զգայուն են միջավայրի փոփոխությունների նկատմամբ և այս կենսաձևին պատկանող բազմաթիվ խմբեր հանդես են գալիս որպես ջրի որակի կենսաբացահայտիչներ: Ձրավազանների ջրերի որակի բազմաթիվ ուսումնասիրություններ հիմնված են քիմիական անալիզի վրա, որը բացահայտում է Էկոլոգիական վիճակը կարճ ժամանակահատվածի համար, իսկ կենսաբացահայտիչների օգնությամբ կարելի է գնահատել ջրավազանի քիմիական և ֆիզիկական պայմանները ավելի երկար ժամանակահատվածի համար [7]:

Ձկնագետ գետը սկիզբ է առնում Փամբակի լեռնաշղթայի հյուսիս-արևելյան լանջերից՝ 2310 մ բարձրությունից: Երկարությունը՝ 21 կմ է, ջրհավաք ավազանը՝ 88 կմ²:

Գետահովիտը վերին հոսանքում V-աձև է, ստորինում՝ տաշտակաձև: Քանի որ գետի ջրի որակի ձևավորման վրա ազդող գործոններից մեկը սնման տեսակն է, պետք է նշել, որ Ձկնագետը պատկանում է Սևանի ավազանի սնման երկու տեսակ ունեցող համակարգերից առաջինին՝ միայն մակերևութային սնուցում: Այն հիմնականում ձնաանձրևային է՝ 82%: Պայմանավորված ջրհավաք ավազանի լանդշաֆտներով և խոնավացման գործակցով՝ այն սելավատար է, վարարումը տևում է 2-3 ամիս (ապրիլ-հունիս մաքսիմումով), որի ընթացքում ձևավորվում է տարեկան հոսքի 75%-ը: Տարեկան միջին ծախսը $1\text{մ}^3/\text{վ}$ է, առավելագույնը՝ $46.4\text{մ}^3/\text{վ}$, հոսքը՝ 35 մլն մ³: Ջրերն օգտագործվում են ոռոգման նպատակով [1]:

Գավառագետ գետը սկիզբ է առնում Գեղամա լեռնավահանի արևելյան լանջերի կատարային հատվածից՝ 3050 մ բարձրությունից և թափվում Սևանա լիճ: Երկարությունը 24 կմ է, ջրհավաք ավազանը՝ 480 կմ²: Այն կազմվում է բազմաթիվ գետակներից, որոնց սնուցումը ստորերկրյա և ձնհալքային է, այդ պատճառով, ի տարբերություն Ձկնագետի, միջին և առավելագույն ծախսը չունեն այդքան մեծ տատանում և կազմում են $3.5\text{մ}^3/\text{վ}$ -ից մինչև $15\text{մ}^3/\text{վ}$: Պետք է նշել, որ Սևանի ավազանի գետերի մեջ Գավառագետն ունի համեմատաբար ավելի կայուն ռեժիմ: Սնուցումը հիմնականում ստորերկրյա է (83%), վարարումը՝ 3-4 ամիս (ապրիլ-հունիս մաքսիմումով): Ի տարբերություն Ձկնագետի, Գավառագետը հոսում է համեմատաբար ինտենսիվ տարաբնակեցման համակարգի միջով, ինչի պատճառով նկատվում է մեծ անթրոպոգեն ծանրաբեռնվածություն: Ջրերն օգտագործվում են ոռոգման նպատակներով [1]:

Աշխատանքի նպատակն է գնահատել Ձկնագետ և Գավառագետ գետերի էկոլոգիական վիճակը:

Նյութ և մեթոդ: Ձկնագետ և Գավառագետ գետերի էկոլոգիական վիճակի գնահատման նպատակով նշված գետերի վերին, միջին և ստորին հոսանքներից 2011 թ. ամռան ամիսների վերջվել են հատակային կենդանիների փորձանմուշներ:

Հատակային կենդանիների փորձանմուշները հավաքվել և մշակվել են ջրակենսաբանության մեջ հայտնի մեթոդներով [2-5, 8]:

Ձկնագետ և Գավառագետ գետերի ջրի որակը գնահատվել է ըստ ընտանիքի կենսաբանական ինդեքսի (ԸԿԻ), (FBI-Family Biotic Index-Hilsenhoff, 1987) [8]:

ԸԿԻ-ն ընդգրկում է ջրային անողնաշարավորների մեծ թվով կարգաբանական խմբեր և ներկայացված է հետևյալ բանաձևով՝ $FBI = \sum(X_i \cdot t_i) / n$, որտեղ, X_i -ին կարգաբանական խմբում առանձնյակների թիվն է, t_i -ին կարգաբանական խմբի տոլերանտության ցուցանիշը (միավորը), n -ը փորձանմուշում առկա բոլոր առանձնյակների թիվը (աղ.1) [6]:

Աղյուսակ 1. Ջրի որակի գնահատումը ըստ ԸԿԻ

ԸԿԻ արժեքը	Ջրի որակը
0.00-3.5	գերազանց
3.51-4.5	շատ լավ
4.51-5.5	լավ
5.51-6.5	միջին
6.51-7.5	միջինից ցածր
7.51-8.5	վատ
8.51-10	շատ վատ

Արդյունքներ և քննարկում: Ձկնագետ գետի ակունքում հատակի բնահողը 70%-ով գլաքար է և մանրախիճ: Ջրերի մամռակալման աստիճանն աննշան է, ջրասույզ մակրոֆիտները բացակայում են: Գետաբերանում բնահողը 100 %-ով կազմված է գլաքարից, խճաքարից և մանրախճից:

Ձկնագետ գետի ակունքում հատակային կենդանիների 2011թ. ամռան ամիսների միջին թվաքանակը կազմել է 1.2 հազ. առանձ./մ², իսկ կենսազանգվածը՝ $3.1\text{գ}/\text{մ}^2$ (աղ.2): Ընդ որում, կենսազանգվածի 39 % կազմում են Baetidae, Ephemerellidae, Ceanidae և Heptageniidae ընտանիքի միոբիկների թրթուրները (Ephemeroptera): Հաջորդ խումբն ըստ կենսազանգվածի Elmidae ընտանիքի բզեզներն են, որոնք կազմում են ընդհանուր կենսազանգվածի 26 %: Միոբիկների թրթուրները կազմել են հատակային կենդանիների ընդհանուր թվաքանակի 37 %:

Ձկնագետի ակունքում ջրի որակը ըստ ԸԿԻ-ի (4.2 միավոր) գնահատվել է որպես «շատ լավ»:

Ձկնագետ գետի միջին հոսանքի հատակային ֆաունայում ըստ թվաքանակի և կենսազանգվածի միօրիկների թրթուրների (Ephemeroptera) գերակայությունը մեծանում է: Կենդանիների միջին կենսազանգվածը $6,2 \text{ գ/մ}^2$ է, որի 64 % կազմել են միօրիկների թրթուրները: Վերջինս կազմում է հատակային կենդանիների ընդհանուր թվաքանակի 59 %:

Ձկնագետի միջին հոսանքում ջրի որակը ըստ ընտանիքի կարգաբանական ինդեքսի (3.9 միավոր) գնահատվել է որպես «շատ լավ»:

Ձկնագետի գետաբերանում հատակային կենդանիների միջին թվաքանակը կազմել է 2.0 հազ. առանձ./մ², իսկ կենսազանգվածը՝ $3,8 \text{ գ/մ}^2$ (աղ.2): Ըստ թվաքանակի գերակայել են բզզան մոծակի թրթուրները (Chironomidae)՝ 1.7 հազ. առանձ./մ², որը կազմել է հատակային կենդանիների ընդհանուր թվաքանակի 85 %, ըստ կենսազանգվածի գերակայել են երկարոտ մոծակները (Tipulidae)՝ $2,5 \text{ գ/մ}^2$, որը կազմել է ընդհանուր կենսազանգվածի 65%: Ակունքի և գետաբերանի հատակային կենդանիների որակական և քանակական կազմի նման փոփոխության պատճառը հավանաբար գետահովտի երկայնքով ձգվող բնակավայրերից կոյուղաջրերի և գյուղատնտեսական հոսքաջրերի մուտքն է ջրավազան: Զարերի վրա զարգացած պերիֆիտոնն ունի ինչպես կանաչ, այնպես էլ գորշ երանգ, որը նույնպես վկայում է որոշակի օրգանական աղտոտվածության առկայության մասին:

Ձկնագետի գետաբերանի ջրի որակը ըստ ԸԿԻ-ի (5.6 միավոր) գնահատվել է որպես «միջին»:

Աղյուսակ 2. Ձկնագետ գետի հատակային ֆաունայի որակական և քանակական կազմը 2011 թ.-ի ամռան ամիսներին

Ձկնագետ						
	Ակունք		Միջին հոսանք		Գետաբերան	
	N	B	N	B	N	B
Կողայողեր (Gammaridae)	31	110	18	13	4	46
Միօրիկներ (Ephemeroptera)	430	1230	825	3956	73	430
Գարունիկներ (Plecoptera)	42	814	37	555	0	0
Թավաթներ (Trichoptera)	125	367	242	1287	61	155
Մծեղներ (Simuliidae)	15	2	0	0	0	0
Սակավախոզան որդեր (Oligochaetae)	2	8	2	2	7	2
Բզզան մոծակներ (Chironomidae)	171	48	29	6	1728	661
Երկարոտ մոծակներ (Tipulidae)	28	143	79	242	138	2483
Ջրային տզեր (Hydrocarina)	0	0	0	0	18	4
Փողոտանի փափկամարմիններ (Gastropoda)	0	0	0	0	2	11
Բզեզներ թ. (Coleoptera)	228	305	145	79	2	1
Բզեզներ հ. (Coleoptera)	90	68	26	18	2	18
Տափակ որդեր (Turbellaria)	9	29	0	0	0	0
Կիսակարծրաթևներ (Heteroptera)	2	11	0	0	0	0
Ընդհանուր	1172	3136	1403	6158	2035	3811

N-առանձնյակ/մ²
B-զանգված մգ/մ²

Գավառագետի ջրիավաք ավազանը կազմվում է բազմաթիվ գետակներից: Վերին հոսանքներում վտակներից մի քանիսը հոսում են տրոգային հովիտների միջով: Դուրս գալով հարթավայր՝ գետերը դառնում են դանդաղահոս, առաջացնում են գալարներ և կուտակում այլուվիալ նստվածքներ: Սևանի մակարդակի իջեցումից հետո գետը գետաբերանի շրջանում մի քանի մետր խորությամբ խրվել է սեփական նստվածքների մեջ: Վերջինս խոչընդոտում է բնահողից հատակային կենդանիների փորձանմուշների ձեռքբերմանը: Ուստի հատակային կենդանիների փորձանմուշները վերցվել են ջրասույզ մակրոֆիտների վրայից:

Գավառագետի ակունքում հատակային կենդանիների միջին կենսազանգվածը կազմել է $0,7 \text{ գ/մ}^2$, որի 50 % կազմել են միօրիկների թրթուրները (Ephemeroptera) և 26 % կազմել են բզզան մոծակի թրթուրները (Chironomidae): Վերջիններս կազմել են հատակային կենդանիների ընդհանուր թվաքանակի 52%, իսկ միօրիկները ընդամենը 5 %: Գավառագետի ակունքում ջրի որակը ըստ ԸԿԻ-ի (3.48 միավոր) գնահատվել է որպես «գերազանց»:

Միջին հոսանքում հատակային կենդանիների միջին կենսազանգվածը կազմել է $0,8 \text{ գ/մ}^2$, որի 78% կազմել են կողայողերը (Gammaridae), իսկ 18%՝ միօրիկների թրթուրները (Ephemeroptera): Վերջիններս կազմել են հատակային կենդանիների ընդհանուր թվաքանակի 21%, իսկ կողայողերը՝ 71%:

Գավառագետի միջին հոսանքում ջրի որակը ըստ ԸԿԻ-ի (4.03 միավոր) գնահատվել է որպես «շատ լավ»:

Գետաբերանի հատակային ֆաունայում ըստ կենսազանգվածի և թվաքանակի գերակայել են կողալողերը (Gammaridae) համապատասխանաբար կազմելով 89% և 68% (աղ. 3): Ի տարբերություն ակունքի, օրգանական աղտոտվածության հետևանքով գետաբերանում չեն հանդիպել օքսիֆիլ կենդանիներ՝ գարունիկներ և թավաթևներ:

Գետաբերանի ջրի որակը ըստ ԸԿԻ-ի (7 միավոր) գնահատվել է որպես «միջինից ցածր»:

Աղյուսակ 3. Գավառագետ գետի հատակային ֆաունայի որակական և քանակական կազմը 2011թ.-ի ամռան ամիսներին

Գավառագետ						
	Ակունք		Միջին հոսանք		Գետաբերան	
	N	B	N	B	N	B
Կողալողեր (Gammaridae)	0	0	3065	6386	11225	87943
Միօրիկներ (Ephemeroptera)	59	108	920	1506	296	1067
Թավաթևներ (Trichoptera)	24	44	0	0	0	0
Մծեղներ (Simuliidae)	13	24	75	57	4645	8924
Սակավախոզան որդեր (Oligochaetae)	0	0	17	7	7	5
Բզզան մոծակներ (Chironomidae)	606	1113	129	101	143	145
Երկարաոտ մոծակներ (Tipulidae)	2	3	24	116	11	182
Ջրային տզեր (Hydrocarina)	452	830	81	20	169	195
Փոքրոտանի փափկամարմիններ (Gastropoda)	0	0	28	37	0	0
Բզեզներ թ. (Coleoptera)	0	0	0	0	0	0
Բզեզներ հ. (Coleoptera)	18	34	0	0	0	0
Տափակ որդեր (Turbellaria)	0	0	0	0	0	0
Ջրոջիկներ (Heteroptera)	0	0	2	1	0	0
Տզրուկներ (Hirudinea)	0	0	0	0	4	195
Ընդամենը	1174	2155	4340	8230	16500	98655

N-առանձնյակ/ժ
B-զանգվածը մգ/ժ

Այսպիսով, երկու գետերում էլ նկատվում է օրգանական աղտոտվածության օրինաչափ ավելացում ակունքից գետաբերան ուղղությամբ: Սակայն Գավառագետի ակունքի ջրի որակը գնահատվել է որպես «գերազանց», իսկ Ջկնագետինը՝ որպես «շատ լավ», ինչը, հավանաբար, երկու գետերի միջև առկա հիդրոլոգիական տարբերությունների արդյունք է, մասնավորապես Գավառագետը սնվում է աղբյուրային որակի ստորգետնյա ջրերով, իսկ Ջկնագետի սնուցումը հիմնականում մակերևութային է: Գավառագետ և Ջկնագետ գետերի գետաբերաններում ջրի որակը ըստ ԸԿԻ-ի համապատասխանում է α-մեզոսապրոբ ջրերին, ինչը կենցաղային և գյուղատնտեսական հոսքերով ջրի աղտոտման արդյունք է:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. ԳԱՄ, Հայկական ՍՄՀ ֆիզիկական աշխարհագրություն, Երևան, 1971, էջ 360-378:
2. Жадин В.И. Методика изучения донной фауны водоемов и экологии донных беспозвоночных. Жизнь пресных вод СССР, IV, 1. Изд-во АН СССР, М.-Л., с. 279-382, 1956.
3. Жадин В.И. Методы гидробиологического исследования. Методы сбора бентоса. Изд-во "Высшая школа", М., с.135-138, 1960.
4. Методика сбора и обработки зообентоса водоемов и оценка их экологического состояния по биологическим показателям, выпуск 1, Пермь, 49, 2001.
5. Методические рекомендации по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоемах. Зообентос и его продукция. Л., с.3-9, 1983.
6. Семеченко В.П. Принципы и системы биоиндикации текучих вод. Изд-во "Орех", Минск, с.125, 2004.
7. Danniseo J.G. Aspect of water Quality Assessment. A Compendium. DHI-Water and Environment, 6. Edition, 2005.
8. Hilsenhoff W.L. An improved biotic index of organic stream pollution. Great Lakes Entomologist, 20, p. 31-39, 1987.
9. Kamler E.A., W. Riedel A method for quantitative study of the bottom fauna of Tatra streams. Polsk. Arch. Hydrob., 21, 8, p. 95-105, 1960.

Ստացվել է 09.01.2012



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 2(64), 2012

ՆԵՅՐՈՔԼԱՍՏՈՄԱՅԻՆ SK-N-MC ԲԶԶԱՅԻՆ ԳԾԻ ՊԼՈՒՌԴՈՒԹՅԱՆ ՑՈՒՑԱՆԻՇԻ ՈՒՄՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ ՄԱՐԴՈՒ ԶԵՐՊԵՍՎԻՐՈՒՍ-1 ՎԱՐԱԿԻ ԺԱՄԱՆԱԿ

Հ.Ս. ՉԱԶԱՐՅԱՆ

ՀՀ ԳԱԱ Մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտ, բջիջ կենսաբանության լաբորատորիա
hovakim@yba.am

Ուսումնասիրվել են նեյրոբլաստոմային SK-N-MC բջիջների պլուրդության ցուցանիշի (c) փոփոխությունները մարդու հերպեսվիրուս 1 վարակի ժամանակ: Ցույց է տրվել, որ վարակից 24 ժ անց, ի հայտ են գալիս բջիջներ, որոնցում ԴՆԹ-ի քանակը գերազանցում է 64c: Նմանատիպ բջիջներում քրոմատինի կառուցվածքը խախտված է, իսկ կորիզակային մարմնիկները բացակայում են: Վարակի ավելի ուշ փուլերում նման բջիջներ չեն հայտնաբերվել:

Բջիջ – հերպեսվիրուս – կորիզ – պլուրդություն – սինցիտիում

Изучался показатель плоидности (c) нейробластомных клеток SK-N-MC при заражении человека герпесвирусом типа 1. В этой работе показано, что через 24 ч после заражения появляются клетки, в которых количество ДНК больше 64c. В таких клетках нарушена структура хроматина, а также отсутствуют ядрышки. На поздних стадиях инфекции таких клеток не было обнаружено.

Клетка – герпесвирус – ядро – плоидность – синцитий

We studied the ploidy index (c) of neuroblastoma cell line, SK-N-MC, during infection with human herpesvirus 1. Herein we show the emergence of cells in which DNA content exceeded 64c after post-infection 24 hours. These cells were characterized by the absence of nucleoli and disrupted chromatin structure. Cells with elevated DNA content were not detected in the later stages of infection.

Cell – herpesvirus – nucleus – ploidy – syncytium

Մարդու հերպեսվիրուս 1-ը (ՄՅՎ-1) պատկանում է Herpesviridae ընտանիքին, որի մեջ ներառված են լիպիդային թաղանթ ունեցող երկշղթա ԴՆԹ գենոմով մարդու և կենդանիների տարբեր վիրուսներ: Herpesviridae ընտանիքի մեջ մտնում են մարդու ութ տարբեր հերպեսվիրուսներ, այն է ՄՅՎ-1 և -2, Էպշտեյն-Բարի վիրուսը, Վարիցելլազոստեր վիրուսը, մարդու ցիտոմեգալովիրուսը, Կապոշիի սարկոմայի ասոցացված հերպեսվիրուսը, ՄՅՎ-6 և -7: Մարդու հերպեսվիրուսները մարդկային պոպուլյացիայում հանդիպող ամենատարածված վիրուսներն են, որոնք կարող են սուր վարակի հետ մեկտեղ հարուցել նաև լատենտ վարակ և պահպանվել պոպուլյացիայում երկար ժամանակ:

ՄՅՎ-1 (ինչպես նաև ՄՅՎ-2) հարուցում են լորձաթաղանթի տեղային վնասվածքներ: Սուր վարակ առաջացնում են լորձաթաղանթի էպիթելիային բջիջներում իսկ նյարդային ծագման բջիջներում (սենսորային նեյրոններում)՝ հիմնականում լատենտ վարակ: Լատենտ վարակի ժամանակ ՄՅՎ-1 գենոմը հանդես է գալիս որպես օղակաձև էպիսոմ, որի գեների մեծ մասը լուծված վիճակում են և վիրուսը չի ռեպլիկացվում: Տարբեր սթրեսային գործոնների ազդեցությամբ՝ հյուսվածքների վնասվածք, հիպերթերմիա, հորմոնալ խանգարում և այլն, ՄՅՎ-1 ակտիվանում է և սկսում ռեպլիկացվել սենսորային նեյրոններում [16]:

Կորիզում, ինչպես նաև ցիտոպլազմայում, ռեպլիկացվող վիրուսների մեծ մասը հարուցում են կորիզային կառուցվածքների և գործառնությունների ձևափոխում [17]: Ցույց է տրվել, որ ՄՅՎ-1 ձևափոխում է կորիզի այնպիսի կառուցվածքներ, ինչպես օրինակ պրոմիլեոցիտիկ լեյկեմիայի մարմնիկները, կորիզաթաղանթը և կորիզակները [7, 10, 12]: ՄՅՎ-1 կարող է առաջացնել նաև գենետիկական անկայունություն: ՄՅՎ-1 վարակի ժամանակ գենետիկական անկայունությունը առաջացման մի քանի եղանակներ են հայտնի՝ սինցիտիումների ձևավորում, քրոմոսոմային կտրվածքներ և բջի բաժանման խանգարում [6, 13, 15]:

Պոլիպլոիդությունը գենետիկական անկայունության մեկ այլ տարածված ձև է, որի ժամանակ տեղի է ունենում քրոմոսոմային հավաքակազմի փոփոխություն: Ցույց է տրվել, որ մի շարք վիրուսներ, այդ թվում և ՄՅՎ-1, կարող են խափանել բջի բաժանման շրջանը և առաջացնել պոլիպլոիդիա [6, 9]: ՄՅՎ-1 վարակի ժամանակ պոլիպլոիդ բջիջների առաջացման եղանակները վատ են ուսումնասիրված, իսկ պոլիպլոիդիան Նյարդային ծագման բջիջներում մնում է չհետազոտված:

Այս աշխատանքի նպատակն է ուսումնասիրել Նեյրոբլաստոմային SK-N-MC բջջային գծի պոլիպլոիդության ցուցանիշը ՄՅՎ-1 վարակի տարբեր ժամանակահատվածներում: Այդ նպատակով հաշվարկվել է վարակված բջիջների ԴՆԹ-ի քանակը և բջիջները դասակարգվել են ըստ պոլիպլոիդության դասերի: Աշխատանքում ներկայացվում են նաև բջիջների պոպուլյացիոն ցուցանիշները վարակի ժամանակ:

Նյութ և մեթոդ: *Բջիջներ.* SK-N-MC բջջային գծի Նեյրոբլաստոմային ծագում ունի: Այն աճեցվել է Eagle DMEM միջավայրում՝ ցուլի սաղմնային 10%-ոց շիճուկի ավելացմամբ: Բջիջների ցանքի չափաբաժինն է՝ 2×10^5 բջիջ/մլ:

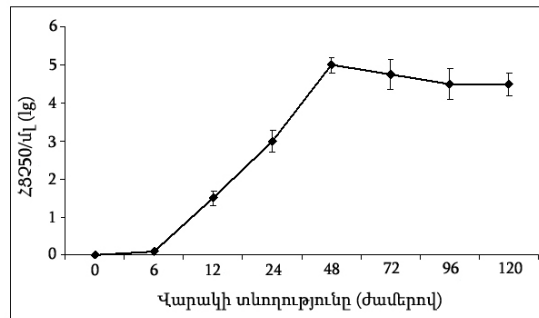
Վիրուս. Աշխատանքում օգտագործվել է ՄՅՎ-1: Վարակի առաջացման համար բջիջներին 24 ժամյա մոնոշերտին (ծածկապակի) ավելացվել է 0.0001 ՅՑՉ50 (հյուսվածքային ցիտոպաթիկ չափաբաժին)/բջիջ քանակի վիրուս: Վիրուսի կենսաբանական տիտրը վարակի տարբեր ժամանակահատվածներում որոշվել է Կերբերի մեթոդով [4]:

Բջջաֆոտոմետրիա. Բջջաբանական և բջջագենետիկ հետազոտությունների նպատակով վերցված ծածկապակիների ստուգիչ և վիրուսով վարակված խմբերը դիտարկվել են մինչև վարակի 120-րդ ժամը: Բջջաֆոտոմետրիայի նպատակով բջիջները 30 րոպե պահվել են 96° Էթիլ սպիրտի մեջ, որից հետո ներկվել են հիմնային ֆուլգինով՝ ըստ Ֆյուգենի: ԴՆԹ-ի հիդրոլիզը կատարվել է 5N HCl մեջ (1 ժ, 22°C) ապա ներկվել Շիֆի ռեակտիվով՝ ըստ Սթեյնի մոդիֆիկացիայի [1]: ԴՆԹ-ի քանակի հաշվարկման համար յուրաքանչյուր բջիջ կորիզը ընդգծվել է Bioscan ծրագրով ապա հաշվարկվել SMP 05 (Opton) բջջաֆոտոմետրով՝ 575 նմ ալիքի համար: Աշխատանքում ԴՆԹ-ի քանակը արտահայտված է c միավորով, և 1c համարժեք է բջիջի հապլոիդ քրոմոսոմային հավաքակազմի ԴՆԹ-ի քանակին [5]: Որպես դիպլոիդ չափանիշ վերցվել է մարդու լիմֆոցիտների ԴՆԹ-ի քանակը [1]:

Վիճակագրական հաշվարկ. Փորձը կրկնվել է երեք անգամ: Յուրաքանչյուր փորձի համար հաշվարկվել է 100 բջջակորիզներում եղած ԴՆԹ: Միջին մեծությունների տարբերության հավաստիությունը գնահատվել է Սթյուդենտի t-թեստի մեոցով, $p < 0.05$ մակարդակն ընդունվել է որպես հավաստի:

Արդյունքներ և քննարկում: Վիրուսի ռեպլիկացիան SK-N-MC բջիջներում ընթացել է դանդաղ համեմատած ավելի զգայուն բջջային գծերի հետ, ինչպես օրինակ Vero: Վիրուսի տիտրի առավելագույն արժեքը՝ $4.5-5.0 \times 10^5$ /մլ, գրանցվել է վարակից 48 ժ անց, որից հետո նկատվել է տիտրի նվազում, պայմանավորված բջիջների միաշերտի քայքայմամբ (Նկ. 1): Բջիջների պոպուլյացիոն ցուցանիշների ուսումնասիրությունը ցույց է տալիս, որ վարակի սկզբնական շրջանում բջիջների քանակը արժանահավատ փոփոխության չի ենթարկվում և միայն վարակի 72-րդ ժամից սկսած նկատվում է բջիջների քանակի նվազում միավոր մակերեսում (աղ. 1): Վարակի բոլոր ժամանակահատվածներում նկատվում է մահացած բջիջների քանակի արժանահավատ աճ: Մահացած բջիջների առավելագույն քանակը գրանցվել է վարակի 72-96 ժ ժամանակահատվածում: Բջիջների միտոտիկ ակտիվության փոփոխություն չի նկատվում:

Բջջաֆոտոմետրիկ տվյալների համաձայն SK-N-MC բջիջները ստուգիչ խումբը շուրջապոլիպլոիդ են և պոլիպլոիդ բջիջների (8c և ավել) քանակը կազմում է $6.7 \pm 0.6\%$ (Նկ. 2): Բջիջների աճեցման ժամանակ պոլիպլոիդ բջիջների տոկոսի փոփոխություն գրեթե չի նկատվել, և միայն 120-րդ ժամից սկսած նկատվում է քանակի նվազում ստուգիչում ապա նաև վարակված բջիջների խմբում (144-րդ ժամին): Այսպիսով, պոլիպլոիդ բջիջները պահպանվում են ամբողջ փորձի ընթացքում:



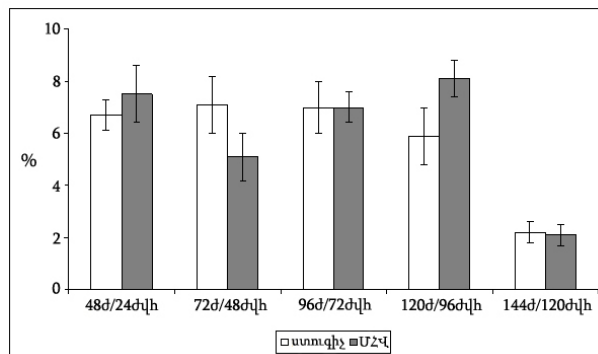
Նկար 1. SK-N-MC բջիջներում ՄՅՎ-1 տիտրի փոփոխությունը վարակի տարբեր ժամերին

Աղյուսակ 1. SK-N-MC բջիջների պոպուլյացիոն ցուցանիշները

Խումբ և ժամ	Բջիջների քանակը, 0.01 մմ ²	Միտոզների քանակը, %	Մահացած բջիջների քանակը, %
Ստուգիչ 24+24 ժ	17.8±0.9	2.3±0.3	6.9±2.3
ՄՅՎ-1 24+24 ժ	17.4±0.9	3.1±0.2*	14.1±1.6*
Ստուգիչ 24+48 ժ	18.2±0.7	2.2±0.4	8.2±1.1
ՄՅՎ-1 24+48 ժ	20.3±0.9	2.5±0.4	17.7±1.5*
Ստուգիչ 24+72 ժ	20.1±0.9	2.3±0.3	15.0±1.4
ՄՅՎ-1 24+72 ժ	15.8±0.7*	2.0±0.5	22.2±2.6*
Ստուգիչ 24+96 ժ	19.3±0.8	2.1±0.3	11.4±1.6
ՄՅՎ-1 24+96 ժ	13.5±0.8*	2.2±0.4	27.4±2.2*

* $p < 0,05$

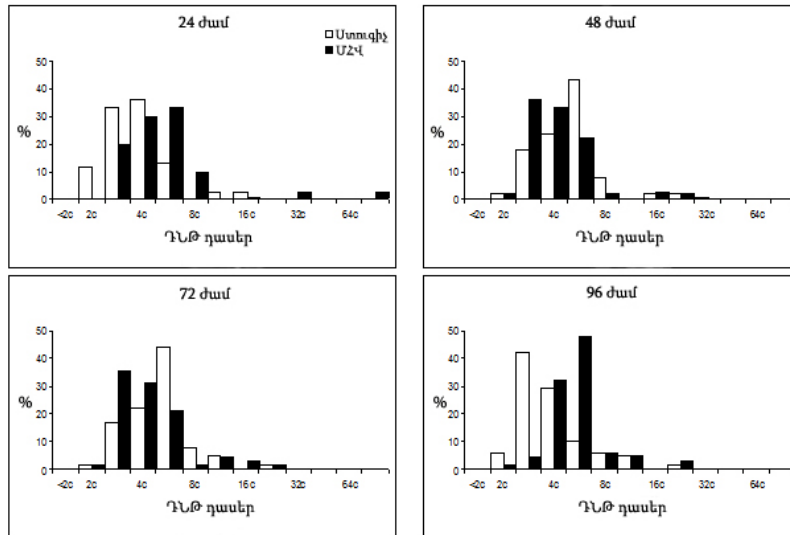
Ստուգիչ խմբի պոլիպլոիդ բջիջներում ՂՆԹ-ի քանակը հիմնականում համապատասխանում է 8c-16c արժեքներին և 32c պոլիպլոիդ բջիջներ չեն հանդիպում (նկ. 3): Հիստոգրամայից երևում է, որ բջիջների աճեցման սկզբնական շրջանում ավելանում են գերտետրապլոիդ բջիջները, իսկ ավելի ուշ փուլերում մահացած բջիջների թվաքանակի ավելացմանը զուգահեռ, հիստոգրաման տեղաշարժվում է ձախ, և գերակշռում են հիպերդիպլոիդ բջիջները (նկ. 3):



Նկար 2. Պոլիպլոիդ բջիջների տոկոսային քանակը Աբգիսների առանցքն իրենից ներկայացնում է տարբեր ժամանակահատվածներ, որի վրա ժ-ն նշանակում է ժամ (բջիջների աճեցման տևողությունը) իսկ ժվի-ն՝ ժամ վարակից հետո (վիրուսային վարակի տևողությունը)

Վիրուսային վարակից 24 ժ անց ի հայտ են գալիս մեծ պոլիպլոիդ բջիջներ, որոնցում ՂՆԹ-ի քանակը գերազանցում է 32c: Նման բջիջներում ՂՆԹ-ի քանակը հասնում է մինչև 64c և ավել (նկ. 3): Մեծ պոլիպլոիդ բջիջների կյանքի տևողությունը կարճ է և վարակից 48 ժ անց բջիջները անհետանում են: Վարակի ավելի ուշ փուլերում (96-120 ժ և ավել) կրկին ի հայտ են գալիս մեծ պոլիպլոիդ բջիջներ (ցույց տրված չէ):

ԴՆԹ-ի քանակը պոլիպլոիդ բջիջներում վարակի ժամանակ ավելի մեծ է քան ստուգիչում: Եթե ստուգիչ խմբում ԴՆԹ-ի միջին քանակը 8c և ավել բջիջներում հավասար էր 12.6 ± 1.5 , ապա վարակից 24 ժ անց այն դառնում է 44.3 ± 4.1 ($p < 0.001$): Վարակի ավելի ուշ ժամերին արժանահավատ տարբերությունը վերանում է (ցույց տրված չէ):



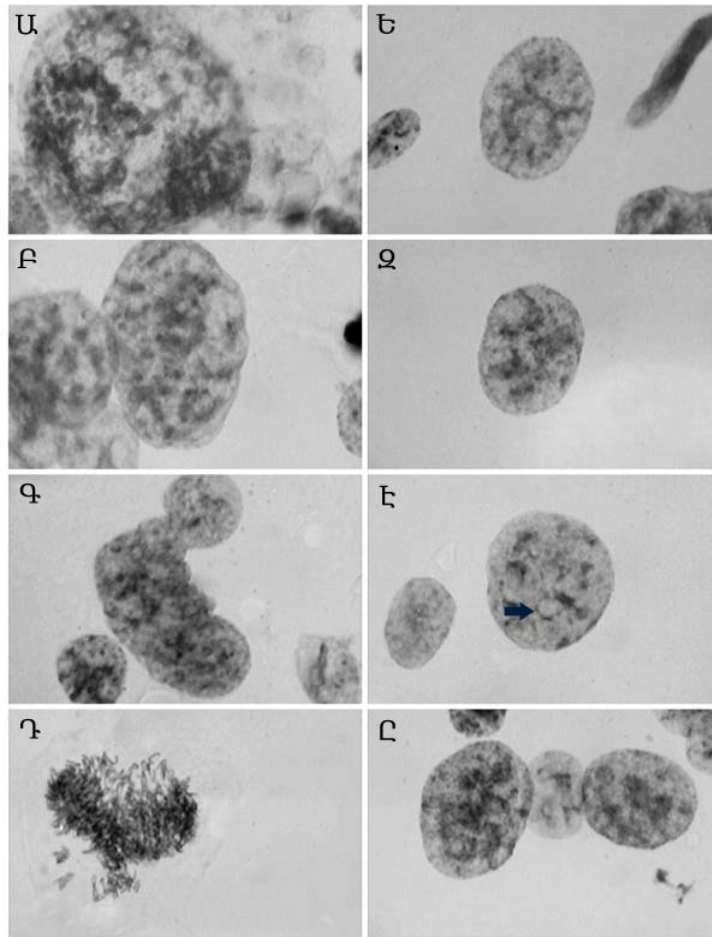
Նկար 3. SK-N-MC բջիջների տոկոսային բաշխումը ըստ պոլիպլոյան դասերի

Դիտարկվող պոլիպլոիդ բջիջները կարելի է բաժանալ երկու խմբի՝ ըստ քրոմատինի և կորիզակների առկայության: Առաջին խմբի մեջ մտնում են այն բջիջները, որոնց կորիզում պահպանվել է քրոմատինի կառուցվածքը և երևում են կորիզակներ (նկ. 4 Բ, Ե, Զ, Ը): Նման բջիջներում ԴՆԹ-ի քանակը չի գերազանցում 32c: Երկրորդ խմբի մեջ մտնում են այն բջիջները, որոնցում քրոմատինի կառուցվածքը խանգարված է, իսկ կորիզակները բացակայում են (նկ. 4 Գ): Նմանատիպ բջիջների ԴՆԹ-ի քանակը հիմնականում գերազանցում է 32c, և նման բջիջներ կարող են առաջանալ մի քանի կորիզների միաձուլումից:

ՄՀՎ-1 վարակի ժամանակ պոլիպլոիդ բջիջների առաջացման մեխանիզմները վատ են ուսումնասիրված: Հայտնի է, որ պոլիպլոիդ բջիջների առաջացման հիմնական պատճառը միտոզի խափանումն է տարբեր փուլերում [11]: Ցույց է տրվել, որ ՄՀՎ-1 վարակի ժամանակ պոլիպլոիդ բջիջների առաջացման պատճառ կարող են հանդիսանալ վիրուսային չորս սպիտակուցներ՝ ICP4, ICP8, ԴՆԹ-պոլիմերազը և Նուկլեազը [2]: Միտոզի արգելափակում հատկապես կարող է առաջացնել ԴՆԹ-պոլիմերազը և վիրուսները, որոնք ջերմազգայուն մուտանտներ են ԴՆԹ-պոլիմերազի նկատմամբ, չորս անգամ ավելի քիչ պոլիպլոիդ բջիջներ են առաջացնում, քան վայրի տեսակի ՄՀՎ-1: Վերջին շրջանում նկարագրվել է վիրուսային մեկ այլ սպիտակուց՝ ICP0-ի դերը միտոզի խանգարման մեջ: Ցույց է տրվել, որ E3 ուբիքվիտինիզացային ակտիվություն ունեցող ICP0 սպիտակուցը կարող է առաջացնել միտոզի արգելափակում G2/M փուլում՝ p53-ից անկախ ճանապարհով [8]:

Հայտնի է նաև, որ ICP0 խթանում է ցենտրոսոմային կառուցվածքի քայքայումը և առաջացնում է անկայուն միկրոխողովակներ [3, 9]:

Այս աշխատանքում ցույց տրվեց, որ վարակից 24 ժ անց, առաջանում են հսկա կորիզով պոլիպլոիդ բջիջներ, որոնցում ԴՆԹ-ի քանակը գերազանցում 64c: Նմանատիպ հսկա կորիզներ շատ կարճ ժամանակահատվածում կարող են առաջանալ մի քանի կորիզների միաձուլման արդյունքում, այլ ոչ թե միտոզի խանգարման: Միտոզի խանգարմամբ առաջացող պոլիպլոիդ բջիջների ԴՆԹ-ն սովորաբար չի գերազանցում 32c և կորիզում պահպանվում է քրոմատինի կառուցվածքն ու կորիզակները:



Նկար 4. Պոլիպլոիդ բջիջների կորիզները վիրուսային վարակի (Ա-Դ) ժամանակ և ստուգիչ (Ե-Ը) խմբում

Ա - ոչ կենսունակ բջիջ մեծ կորիզ (վարակից 24 ժ անց), Բ – պոլիպլոիդ բջիջ կորիզ (վարակից 48 ժ անց), Գ – մի քանի կորիզների միաձուլում (վարակից 24 ժ անց), Դ – պոլիպլոիդ բջիջ միտոզ (վարակից 48 ժ անց), Ե,Զ – պոլիպլոիդ բջիջների կորիզներ, Է,Ը – շուրջօղակիդ և պոլիպլոիդ բջիջների կորիզներ: Բջիջ կորիզները ներկվել են Ֆլուգենի մեթոդով: Մանրադիտակի խոշորացումը՝ 1000 x:

Հայտնի է, որ շատ վիրուսներ, այդ թվում և ՄՅՎ-1, օրգանիզմում տեղաշարժվում են, օգտագործելով բջիջների միջև եղած կապերը: Արագ տեղաշարժման համար ՄՅՎ-1 առաջացնում է սինցիտիումներ, որոնք իրենցից ներկայացնում են բազմաթիվ բջիջների միաձուլում, պահպանված առանձին կորիզներով [14]: Սակայն մինչ այժմ նկարագրված չէ կորիզների միաձուլումը սինցիտիումների ներսում:

Ստացված տվյալների հիման վրա կարելի է ենթադրել, որ խոշոր կորիզով ու ԴՆԹ-ի 64c և ավել քանակով պոլիպլոիդ բջիջների առաջացումը սինցիտիումի ներսում կորիզների միաձուլման հետևանք է: Չնայած, որ այս երևույթը հերպեսվիրուսների դեպքում շատ վատ է ուսումնասիրված, ստացված արդյունքները լավ հիմք են հանդիսանում հետագա հետազոտությունների համար, որոնք կարող են լույս սփռել ՄՅՎ-1 բջջախտաբանության անհայտ կողմերի վրա:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Магакян Ю.А., Каралова Е.М.* Цитофотометрия ДНК. Ереван, Издательство АН Армении, 1989.
2. *Chenet-Monte C., Mohammad F., Celluzzi C.M., Schaffer P.A., Farber F.E.* Herpes simplex virus gene products involved in the induction of chromosomal aberrations. *Virus Res* 6, 3, 245-60, 1986.
3. *Everett R.D., Earnshaw W.C., Findlay J., Lomonte P.* Specific destruction of kinetochore protein CENP-C and disruption of cell division by herpes simplex virus immediate-early protein Vmw110. *EMBO J.*, 18, 1526-1538, 1999.
4. *Finney J.* Statistical Method in Biological Assay. Hafner Publishing Co., N.Y., 1952.
5. *Haroske G., Kunze K.D. and Theissig F.* Prognostic significance of image cytometry DNA parameters in tissue sections from breast and gastric cancers. *Anal Cell Pathol.*, 3, 11-24. 1991.
6. *Hobbs W.E., DeLuca N.A.* Perturbation of cell cycle progression and cellular gene expression as a function of herpes simplex virus ICP0. *J Virol.*, 73, 8245-8255, 1999.
7. *Lee C.P. Chen M.R.* Escape of herpesviruses from the nucleus. *Rev Med Virol.*, 20, 214-230, 2010.
8. *Li H., Baskaran R., Krisky D.M., Bein K., Grandi P., Cohen J.B., Glorioso J.C.* Chk2 is required for HSV-1 ICP0-mediated G2/M arrest and enhancement of virus growth. *Virology* 375, 13-23, 2008.
9. *Liu M., Schmidt E.E., Halford W.P.* ICP0 Dismantles Microtubule Networks in Herpes Simplex Virus-Infected Cells. *PLoS One* 5 (6): e10975, 2010.
10. *Lymberopoulos M.H., Bourget A., Abdeljelil N.B., Pearson A.* Involvement of the UL24 protein in herpes simplex virus 1-induced dispersal of B23 and in nuclear egress. *Virology* 412, 341-348, 2011.
11. *Normand G. King R.W.* Understanding cytokinesis failure. *Adv Exp Med Biol.*, 676, 27-55, 2010.
12. *Parkinson J., Everett R.D.* Alphaherpesvirus proteins related to herpes simplex virus type 1 ICP0 affect cellular structures and proteins. *J. Virol.*, 74, 10006-10017, 2000.
13. *Roizman B.* Polykaryocytosis induced by viruses. *PNAS* ,48, 228-234, 1962.
14. *Sattentau Q.* Avoiding the void: cell-to-cell spread of human viruses. *Nat. Rev. Microbiol.*, 6, 11, 815-26, 2008.
15. *Stanley P.* Chromosome Damage Induced by Herpes Simplex Virus Type 1 in Early Infection. *J. Gen. Virol.* 67, 2273-2277, 1986.
16. *Whitley R.J. Roizman B.* Herpes simplex virus infections. *Lancet*, 357, 9267, 1513-8, 2001.
17. *Zakaryan H., Stamminger T.* Nuclear remodelling during viral infections. *Cell Microbiol* 13, 6, 806-813, 2011.

Ստացվել է 10.10.2011



Biolog. Journal of Armenia, 2 (64), 2012

THE INFLUENCE OF NON-THERMAL COHERENT EMI EHF WITH LOW INTENSITY ON ELECTROKINETIC POTENTIAL OF RAT ERYTHROCYTES

P.O. VARDEVANYAN, A.V. NERKARARYAN, M.A. SHAHINYAN,
G.H. PANOSYAN

*Yerevan State University, Department of Biophysics
biophys_dep@mail.ru*

The influence of electromagnetic irradiation with extremely high frequencies (EMI EHF) on electrokinetic potential of rat blood erythrocytes was investigated. It has been shown that EMI EHF effect on biological system has different direction as well as depends on both frequency of irradiation and effect exposure. It has also been shown that the effect of external physical field on electrokinetic potential of erythrocytes is more expressed in case of suspension irradiation, compared to the rat irradiation, which indicates the stabilizing influence of both blood plasma and the whole organism. The processes stimulated in the organism are directed to the decreasing of external physical field effect.

EMI EHF – irradiation – erythrocytes of rats – electrokinetic potential

Ուսումնասիրվել է ծայրահեղ բարձր հաճախականությամբ էլեկտրամագնիսական ճառագայթման (ԾԲՀ ԷՄԾ) ազդեցությունը առնետների արյան էրիթրոցիտների էլեկտրակինետիկ պոտենցիալի վրա: Ցույց է տրվել, որ կենսաբանական համակարգի վրա ԾԲՀ ԷՄԾ ազդեցությունն ունի տարբեր ուղղվածություն, կախված է ճառագայթման հաճախականությունից և ներգործության տևողությունից: Ցույց է տրվել նաև, որ էրիթրոցիտների էլեկտրակինետիկ պոտենցիալի վրա արտաքին ֆիզիկական դաշտի ազդեցությունն ավելի ուժեղ է արտահայտված էրիթրոցիտների կախույթի ճառագայթահարման դեպքում առնետների ճառագայթահարման համեմատ, ինչը վկայում է արյան պլազմայի և ընդհանուր օրգանիզմի կայունացնող ազդեցության մասին: Օրգանիզմում խթանվում են այնպիսի պրոցեսներ, որոնք ուղղված են արտաքին ֆիզիկական դաշտի ազդեցության նվազմանը:

*ԾԲՀ ԷՄԾ – ճառագայթահարում – առնետների էրիթրոցիտներ –
էլեկտրակինետիկ պոտենցիալ*

Исследовано влияние электромагнитного излучения крайне высокой частоты (ЭМИ КВЧ) на электрокинетический потенциал эритроцитов крови крыс. Показано, что влияние на биологическую систему ЭМИ КВЧ имеет различное направление, зависит от частоты излучения и длительности воздействия. Показано также, что влияние внешнего физического поля на электрокинетический потенциал эритроцитов сильнее выражено при облучении суспензии эритроцитов, чем при облучении крыс, что указывает на стабилизирующее влияние плазмы крови и организма в целом. В организме запускаются процессы, направленные на уменьшение влияния внешнего физического поля.

ЭМИ КВЧ – облучение – эритроциты крыс – электрокинетический потенциал

The life has been arising and developing on our Planet constantly being under the influence of external electromagnetic irradiation (EMI) the natural sources of which are mainly cosmic objects, and particularly the Sun. Moreover, at present the intensity of EMI having anthropogenic origin has been significantly increasing in biosphere. It has been shown that EMI with different wave lengths interacts with biological systems that have different levels of organization [1, 3, 7]. That is why the problem of estimation of complex effect of environment factors on biological systems becomes one of special interest in contemporary ecology. The mechanisms of EMI interaction with biological systems are discussed [1, 5].

Living organisms including human are intensively exposed to effect of EMI with both extremely high frequencies (EHF) and super high frequencies (SHF), so the investigation of these waves is very important. Moreover still now the mechanisms of non-thermal effect of EMI on cell and the whole organism are not thoroughly revealed. Results of investigation directed to the elucidation of mechanisms of effect of EMI EHF with low intensity are discrepant. For instance, irradiation of suspension of erythrocytes of human blood by coherent EMI EHF with low intensity and 20 min exposure results in changing of membrane physical-chemical properties, which in its turn leads to decrease in stability of erythrocytes at irradiation by frequencies that are near to water resonant frequencies [9]. It has been shown that in experiments *in vitro* the effect of millimeter waves on blood during 20 min increases the osmotic stability of erythrocytes as well as the activity of α -amylase, decreases the intensity of lipid peroxide oxidation, and does not effect the alanine aminotransferase activity of blood serum [8]. Authors point that one of the reasons of increasing of α -amylase activity used in water catalyze act, may be activation of water molecules by millimeter waves. In [6] decreasing of membrane osmotic stability of erythrocytes under the influence of EMI EHF was shown. The decreasing of membrane permeability to potassium ions on 30-40% was revealed compared with non irradiated samples. This effect is not conditioned by thermal impacts [2, 3]. Despite the permeability to EMI EHF is less, the effect on living organisms is significant and depends on irradiation frequency [10,13], besides millimeter waves possess high biological activity, even at low values of energy flux density, and EMI frequencies that are near by magnitude to water resonant frequencies may induce differently directed responses of biological system.

Different hypotheses of primary target of EMI EHF effect on biosystems were suggested [2, 4, 12, 14]. According to one of these hypotheses the primary target is water.

Investigations carried out on microorganisms and experimental animals have shown that EMI EHF of millimeter diapason effect on growth, development and metabolism of living organisms.

In present work the influence of coherent EMI EHF with low intensity on electrokinetic potential (ξ -potential) of rat blood erythrocytes has been investigated.

Materials and methods. The blood of rats of "Vestar" breed was used in experiments. For obtaining of suspension of erythrocytes several drops of rat blood were added in physiologic solution. As a source of monochromatic EMI EHF Γ 4-141 generator with work region of frequencies 37.5-53.57 GHz was used. Rats were irradiated by EMI EHF with low intensity with frequencies 49 GHz, 50.3 GHz and 51.8 GHz and power flux density 0.6 m Wt/sm². Moreover the irradiation was carried out one-fold with 20 min exposure, and repeatedly with 20 min exposure. Rats were irradiated during 4 days. The irradiation was carried out in distant zone of generator irradiation. The value of ξ -potential was calculated by following formula [11]:

$$\xi = 140\bar{\omega}$$

where $\bar{\omega}$ is electrophoretical mobility of particle that is the ratio of particle linear rate to electric field potential gradient.

Results and Discussion. In present work the influence of repeating irradiations by EMI EHF on ξ -potential of rat blood erythrocytes has been investigated. In complicated colloid systems such as cytoplasm of erythrocytes the motion of dispersion phase versus

dispersion surrounding under the influence of electric field may be realized in result of which potential difference between dispersion phase and dispersion surrounding is formed.

Potential difference on the border of two phases shifting versus each other is called ξ -potential. The surface of erythrocytes contacting with plasma or physiologic solution acquires charge, but in liquid phase near to surface a layer of solution is formed enriched by opposite charge ions – double electric layer is formed. The mutual shifting of phases is observed under the influence of electric field the rate of which depends on ξ -potential magnitude. It is known that increasing of concentration of electrolytes in liquid phase results in decreasing of electrophoretical transfer rate of colloid particles that is decreasing of ξ -potential absolute magnitude [11]. Furthermore effect degree is as more expressed as opposite charge is higher. External physical field superposition changes ξ -potential magnitude of erythrocytes. Investigation of influence of both *in vivo* and *in vitro* irradiations on properties of erythrocytes as well as of repeating influence of mentioned factor shows that the effect of EMI EHF has different direction and depends on irradiation frequency. The cumulative effect of influence is observed. The values of ξ -potential after one-fold *in vitro* irradiation of erythrocytes in suspension and erythrocytes of rat blood irradiated *in vivo* are represented on fig. 1. The dependence of ξ -potential on irradiation multiplicity is represented on fig. 2. ξ -potential changes in different days of irradiation indicate the induction of processes in organism directed to stress removal conditioned by external physical factor. It is maintained by small changes of ξ -potential of rat erythrocytes at one-fold and twofold irradiations by EMI with 49 GHz frequency. Particularly one-fold irradiation by EMI with 49 GHz frequency and 20 min exposure of suspension of erythrocytes results in increasing of ξ -potential magnitude on 18%. Moreover at one-fold and twofold irradiations of rats by EMI with 49 GHz the potential magnitude of erythrocytes of irradiated animals practically does not differ from that of control animals.

After threefold irradiation ξ -potential of erythrocytes is a little less than control value, but after fourfold irradiation is less compared with control on 31%. Most probably organism does not succeed in neutralization of external physical field effect.

Irradiation by EMI with 50.3 GHz and 51.8 GHz frequencies and 20 min exposure of suspension of erythrocytes increases ξ -potential value compared with control one on 39% and 51% respectively. One-fold irradiation of rats by EMI with 50.3 GHz and 51.8 GHz frequencies also induces the increasing of ξ -potential values of erythrocytes. Thus after irradiation of rats by EMI with 50.3GHz frequency and 20min exposure ξ -potential of erythrocytes increases on 29%, and with 51.8GHz - on 20%.

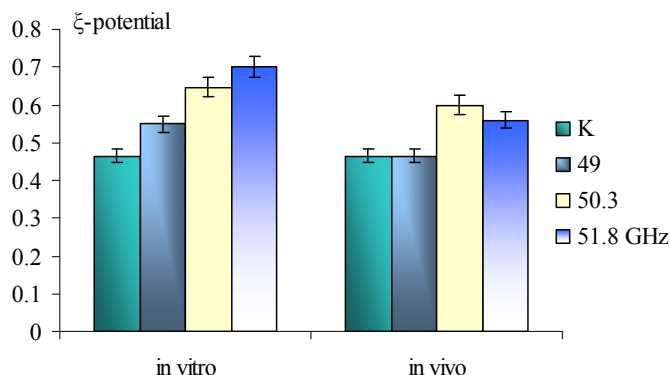


Fig. 1. The influence of EMI EHF on ξ -potential of erythrocytes of both rat blood suspension irradiated one-fold *in vitro* and blood of one-fold irradiated rats *in vivo*.

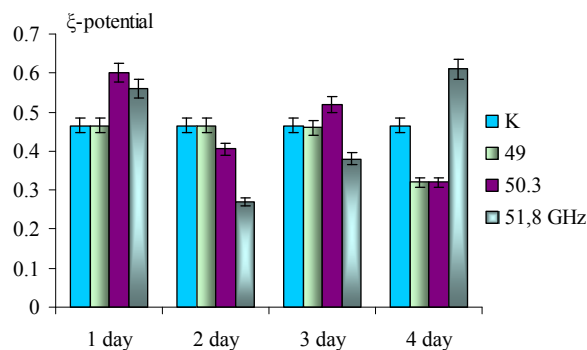


Fig. 2. The influence of EMI EHF on ξ -potential of erythrocytes of blood of irradiated rats.

After two-fold irradiation the direction of organism reaction is changed: the magnitude of ξ -potential of erythrocytes of irradiated rats is less than the control values by 13%. After threefold irradiation ξ -potential increases in 1.2 times compared to control. But fourfold irradiation results in significant decreasing of studying parameter: after four days of irradiation of rats ξ -potential of erythrocytes is less compared with control values by 43%. Another character of changes is observed at irradiation of rats by EMI with 51.8 GHz frequency. After two-fold irradiation ξ -potential of erythrocytes of irradiated rats strongly decreases: it becomes less from control values by 42%, but the magnitude of change compared with potential after one-fold irradiation composes about 62%. Further irradiation results in increasing of ξ -potential: after three days of irradiation it becomes less from control values on 18%, but after fourfold irradiation exceeds the control value by 31%.

The change in the ξ -potential magnitude may be conditioned by alteration of physical characteristics of both plasma and membrane of erythrocytes. As ξ -potential magnitude is changed not only at suspension irradiation of erythrocytes, but also at irradiation of animals, it may be assumed that irradiation results in changing of membrane properties. On the other hand the degree of change and the dependence character of magnitude of observed changes on one-fold and repeating irradiations indicate that plasma exhibits a stabilizing effect and in some way limits the change of both surface charge magnitude and charge of opposite ions in double electric field.

Therefore, based on the obtained results, it can be assumed that the effect of external physical field reflects stronger on studied parameter of erythrocytes in case of suspension irradiation of erythrocytes which in its turn indicates the stabilizing effect of blood plasma and the whole organism. The processes running in organism are directed to the decrease in external physical field effect. Besides, the magnitude of response and the direction of changes depend on EMI frequency.

REFERENCES

1. *Бецкий О.В., Кислов В.В., Лебедева Н.Н.* Миллиметровые волны и живые системы. М: «САЙНС-ПРЕСС», 107с., 2004.
2. *Бецкий О.В.* Механизмы биологических эффектов взаимодействия ММ волн с живыми организмами. Сб.: Вопросы использования электромагнитных излучений малой мощности КВЧ в медицине (КВЧ-терапия), Ижевск: АО НИЦ "ИКАР", с.2-6, 1992.
3. *Ганиев А.Б., Чемерис Н.К.* Действие непрерывного и модулированного ЭМИ КВЧ на клетки животных. Обзор части 1.: Особенности и основные гипотезы о механизмах биологического действия ЭМИ КВЧ. Вестник новых медицинских технологий. 6, 1, с.15-22, 1999.

4. *Девятков Н.Д., Голант М.В., Бецкий О.В.* Миллиметровые волны и их роль в процессах жизнедеятельности. М., "Радио и связь", 168с., 1991.
5. *Девятков Н.Д., Бецкий О.В., Гельвич Э.А., Голант М.Б., Махов А.М., Реброва Т.Б., Севастьянова Л.А., Смолянская А.З.* Воздействие электромагнитных колебаний миллиметрового диапазона длин волн на биологические системы. Радиобиология, 21, вып. 2, с. 163-171, 1981.
6. *Ильина С.А.* Влияние миллиметрового излучения низкой интенсивности на свойства мембран изолированных эритроцитов и гемоглобина крови человека. В сб. Статей (см. "Медико-биологические .."). М., ИРЭ АН СССР, с.149-169, 1987.
7. *Корягин А.С., Ястребова А.А., Крылов В.Н., Корнаухов А.В.* Влияние миллиметровых волн на устойчивость мембран эритроцитов, перекисное окисление липидов и активность ферментов сыворотки крови. Миллиметровые волны в биологии и медицине. 18, 2, с. 8-11, 2000.
8. *Неркарян А.В., Варdevанян О.П., Микаелян М.С., Карапетян А.А.* Влияние электромагнитных волн низкой интенсивности и крайне высоких частот на устойчивость эритроцитов крови человека. Кровь, 1, 10, Ереван-Санкт-Петербург, с.82-86, 2010.
9. *Неркарян А.В., Парсаданян М.А., Минасбекян Л.А., Дарбинян М.Р., Калантарян Б.Г., Варdevанян П.О.* Влияние низкоинтенсивного нетеплового когерентного ЭМИ мм-диапазона на рост проростков. VI Междунар. симпоз. Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования, Пущино, 3, с.185-188, 2005.
10. *Паносян Г.А., Гонян С.А., Тирицян С.Г., Варdevанян П.О.* Электрокинетический потенциал ядра при изменении функциональной активности гепатоцитов крыс. Биофизика, 34, 6, с.989-992, 1989.
11. *Петросян В.И., Синицын Н.И., Елкин В.А. и др.* Роль резонансных молекулярно-волновых процессов в природе и их использование для контроля и коррекции состояния экологических систем. Биомедицинская радиоэлектроника, 5-6, с.62-129, 2001.
12. *Смолянская А.З., Гельвич Э.А., Голант М.Б., Махов А.М.* Резонансные явления при действии электромагнитных волн миллиметрового диапазона на биологические объекты. Успехи совр. биологии, 87, 3, с.381-392, 1979.
13. *Тамбиев А.Х., Кирикова Н.Н.* Некоторые новые представления о причинах формирования стимулирующих эффектов КВЧ-излучения. Биомедицинская радиоэлектроника, 1, с.23-33, 2000.
14. *Kalantaryan V.P., Vardevanyan P.O., Antonyan A.P. et al.* Influence of Low Intensity Coherent Electromagnetic Millimeter Radiation (EMR) on Aqua Solution of DNA. Progress in Electromagnetics Research Letters, 13, p.1-9, 2010.

Received 16.02.2012



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 2(64), 2012

ԻՄՄՈԲԻԼԻԶԱՑԻՈՆ ՍԹՐԵՍԸ ՈՐՊԵՍ ՀՈԳԵՅՈՒԶԱԿԱՆ ՍԹՐԵՍԻ ՄՈՂԵԼ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ՄՈՏ

Ն.Ա. ՍԱՐԱԿՅԱՆ

Հայկական պետական մանկավարժական համալսարան
narinesaak@mail.ru

Ուսումնասիրվել է իմմոբիլիզացիայի ենթարկված առնետների ֆունկցիոնալ իրավիճակը հետստրեսային տարբեր փուլերում: ՄՈՓ ՄՎ մեթոդով ստացված տվյալների համեմատական վերլուծությունը սթրեսի ենթարկված առնետների մոտ բացահայտեց ֆունկցիոնալ վիճակի նշանակալից փոփոխություններ: 7 և նույնիսկ 14 օրվա ընթացքում չի դիտվել հետազոտվող հիստոգրաֆիկ ցուցանիշների նորմալացման միտում (IVE, ITRS), կենդանիները այս շրջանում ևս զտնվել են սթրեսային իրավիճակում: Երկարատև հոգեհուզական լարվածությունը կարող է նպաստել սթրեսային տարբեր հիվանդությունների զարգացմանը:

Սթրես – իմմոբիլիզացում – դեպրեսիա

Изучались особенности функционального состояния крыс в динамике постиммобилизационного стресса. Сравнительный анализ результатов, полученных методами МА ВСУ у стрессированных крыс, выявил значительные изменения ФС животных. В течение 7-и и даже 14 дней не наблюдалось тенденции возврата изученных показателей к норме, животные продолжали находиться в состоянии стресс-реакции и в этот период. Длительное психоэмоциональное напряжение может способствовать развитию стрессовой болезни.

Стресс – иммобилизация – депрессия

The purpose of this research was to study the peculiarities of functional state of rats in the dynamics of post-immobilization stress. The comparative analysis of the results obtained in stressed rats by methods of MA (mathematical analysis) VHR detected significant changes in functional state (FS) of animals. During 7 days there was no tendency to return for the studied indices to normal state: even in this period animals were in the state of stress reaction. Sustained psycho-emotional tension can promote the development of stressful diseases.

Stress – immobilization – depression

Չնայած արդի ժամանակաշրջանի գիտատեխնիկական վերելքին, առօրյա կյանքը ընթանում է ծանր և լարված պայմաններում: Ժամանակակից մարդը միջավայրի հետ փոխհարաբերություններում ենթարկվում է բազմաբնույթ սթրեսորների ազդեցությանը (սոցիալական, հոգեբանական), որոնց երկարատև ազդեցության դեպքում ձևավորվում է ինչպես կառավարող, այնպես էլ բջջային հարմարվողական մեխանիզմների հյուծում, զարգանում է դեգադապտացիա: Բազմաթիվ հետազոտություններ պարզել են, որ ՀՀՄՀ-ի (հիպոթալամո-հիպոֆիզ-մակերիկամային համակարգ) ակտիվացումը համարվում է սթրես ռեակցիայի առաջացման հիմնական պայման: Ցույց է տրված, որ այն ուղեկցվում է մի շարք գործոններով, որոնց շարքում կարևոր տեղ են գրավում սթրեսորների ազդող ուժը, տևողությունը և ձևը

(ֆիզիկական, հոգեբանական, սուր կամ քրոնիկ): Սուր և քրոնիկ սթրեսները օրգանիզմի վրա կարող են ունենալ տարբեր ազդեցություններ [9], ընդ որում սուր սթրեսը օրգանիզմը հաղթահարում է ավելի արագ, քան քրոնիկը: Հարկ է նշել, որ վերջինս ընթանում է դասական ախտանիշներով՝ մարմնի և թիմուսի զանգվածի նվազում, մակերիկամների գերաճ, որն ուղեկցվում է նրա կեղևային զանգվածի ավելացմամբ: Սթրեսորները ըստ բնույթի լինում են ֆիզիկական և հոգեբանական: Ժամանակակից ֆիզիոլոգիայում այսպիսի տարբերակումից օգտվում են բազմաթիվ հեղինակներ՝ [7] ֆիզիկական համարելով էլեկտրական հոսանքը, ջերմային տատանումները, իսկ հոգեբանականը՝ վախ, տագնապ, հուսահատություն, թշնամու արտաքին տեսք և այլն, ընդ որում շատ հաճախ հոգեբանական կոմպոնենտը անբաժան է ֆիզիկականից [4,6]: Այս տեսակետից տարբերում են սթրես՝ հարուցված ուժեղ ֆիզիկական և թույլ հոգեբանական կոմպոնենտներով (օրինակ՝ կենդանու վազքը փորձարարական օդակում) և սթրես հարուցված թույլ ֆիզիկական և ուժեղ հոգեբանական կոմպոնենտներով (իմոբիլիզացիա):

Փորձարարական ֆիզիոլոգիայում սթրեսային հետազոտությունների համար կիրառվում են տարբեր մոդելներ, օրինակ «ռեսթրեյնթ»-ի մոդելը [8], որի դեպքում կենդանին տեղադրվում է պլեքսիզասե նեղ շշի մեջ, ուր անհնար է դառնում նրա իրանի որևէ շարժում: Այն համարվում է հիպոկիսետիկ սթրեսի մոդել: Չնայած սթրեսների և նրա առաջացման տարբեր մոդելների բազմազանությանը (ցավային, աղմկային, հիպոկիսետիկ և այլն) փորձարարական աշխատանքներում առավել կիրառելի է դարձել իմոբիլիզացիան, որը ըստ մի շարք հեղինակների համարվում է հոգեհուզական և բնորոշվում որպես թույլ ֆիզիկական և ուժեղ հոգեբանական կոմպոնենտներով հարուցված սթրես, հաշվի առնելով այն հանգամանքը, որ այս մոդելը կենդանիների մոտ առանց ֆիզիկական ազդեցության տեխնիկապես անհնար է առաջացնել: Մի շարք հետազոտություններում ուսումնասիրված է քրոնիկ իմոբիլիզացիայի ժամանակ ներքին օրգաններում առաջացած փոփոխությունները, ինչպես նաև ճարպերի գերօքսիդացման ֆոնի վրա արտահայտված բորբոքային պրոցեսների սրացումները: Ցուցե է տրված սթրեսի այս մոդելի կիրառման ժամանակ կենդանիների մոտ շարժումների ակտիվության նվազեցման սահմանափակումից առաջացող դեպրեսիան: Ավելին, մի շարք աշխատություններում պարզված է, որ միայն իմոբիլիզացիոն սթրեսի ժամանակ է գրանցվել ՀՀՄՀ-ի ակտիվության հավաստի տարբերություններ՝ կորտիկոստերոնի մակարդակի արտահայտված բարձրացում առնետների արյան մեջ սթրեսից 30 ր անց [5]:

Սթրեսի այս մոդելի առավել կիրառումը հավանաբար պայմանավորված է նրանով, որ ժամանակակից մարդը առօրյա կյանքում առավել ենթարկվում է հոգեհուզական սթրեսի ազդեցությանը (վախ, տագնապ, անհանգստություն և այլն): Հետևաբար, դրա ժամանակ օրգանիզմում առաջացած տարբեր օրգան-համակարգերի բնականոն գործառնությունների ախտաբանական փոփոխությունների ուսումնասիրությունները խիստ անհրաժեշտ են հիվանդագիտական պրոցեսների բացահայտման համար: Ներկայացվող աշխատանքում վերջին ժամանակներս լայն տարածում գտած տեխնոլոգիաների օգնությամբ՝ ՍՌՓ ՄՎ (սրտային ռիթմի փոփոխականության մաթեմատիկական վերլուծության մեթոդ) փորձել ենք գնահատել իմոբիլիզացիայի ենթարկված առնետների սրտային ռիթմի փոփոխականության որոշ ցուցանիշների փոփոխությունները հետսթրեսային տարբեր փուլերում: ՍՌՓ ՄՎ ՎՆ համակարգչային ժամանակակից տեխնոլոգիա է, որն ուղղված է օրգանիզմի, մասնավորապես ՎՆՀ (վեգետատիվ նյարդային համակարգ) ֆունկցիոնալ վիճակի գնահատմանը [1]: Ներկայումս ՀՀ ԱՆ ճառագայթային բժշկության և այրվածքների գիտական կենտրոնում ՍՌՓ-ի մեթոդների հիման վրա մշակված է ուղեղի ֆունկցիոնալ վիճակների ախտորոշման համակարգ՝ ELEPHIS [2,3]: Հարկ է նշել, որ համակարգը նախատեսված է ինչպես նորմալ, այնպես էլ ախտաբանական իրավիճակների համար և միևնույն ժամանակ կիրառելի մարդու և կենդանիների համար:

Նյութ և մեթոդ: Հետազոտության օբյեկտ հանդիսացել են սպիտակ լաբորատոր արու առնետները, 200-220 գ զանգվածով ($n=18$): Կենդանիների իմոբիլիզացիան կատարվել է դասական եղանակով՝ առնետներին մեջքի վրա առջևի և հետին վերջույթների ֆիքսման միջոցով: Իմոբիլիզացիայի տևողությունը կազմել է 5 Ժ: Էլեկտրասրտագրի (ԷԿԳ) գրանցումը հետսթրեսի պայմաններում (իմոբիլիզացիայից 5 Ժ հետո և դրանից 7, ապա 14 օր անց) կատարվել է Հֆիքսված կենդանիների մոտ ԷԿԳ-ի արտածման ստանդարտ երկրորդ եղանակով, արծաթյա էլեկտրոդների միջոցով, որոնք ամրացվել են առնետների ծայրանդամներին (աջ ձեռք, ձախ ոտը):

Վենդանիների սրտային ռիթմի գրանցումը և հետագա վերլուծությունը կատարվել է վերը նշված ELEPHIS համակարգի միջոցով: Սրտային ռիթմի հետ միասին հիստոգրաֆիկ չորս ցուցանիշներից գնահատվել են հետևյալ երկուսը՝ IVE – Index of Vegetative Equilibrium – վեգետատիվ հավասարակշռության ինդեքս, ITRS – Index of Tension of Regulatory Systems – կարգավորիչ համակարգերի լարվածության ինդեքս, որոնք հիմնված են կարդիոինտերվալների բաշխման հիստոգրամների վերլուծության վրա:

Հետազոտությունների ստացված արդյունքները վիճակագրական մշակման են ենթարկվել Microsoft Excell և StatSoft Statistica ծրագրերի օգնությամբ:

Արդյունքներ և քննարկում: ՍՌՓ ՄՎ հիստոգրաֆիկ ցուցանիշները թույլ են տալիս գնահատել ուղեղի բարձրագույն կառույցների ունեցած դերը սրտային ռիթմի կարգավորման մեջ:

Աղյուսակ 1. Անետոների ՍՌՓ ՄՎ-ի ցուցանիշները 5 ժամյա իմմոբիլիզացիոն սթրեսից անմիջապես հետո, 7 օր և 14 օր անց, $M \pm SD$

Ցուցանիշներ	Սթրեսից առաջ	Հետսթրեսային ժամանակահատված		
		Անմիջապես սթրեսից հետո	Սթրեսից 7 օր անց	Սթրեսից 14 օր անց
CR	284.8 ± 61.2	404.5 ± 53.5***	381 ± 78.6***	290 ± 71
IVE	622.5 ± 334.9	2043 ± 690.6***	1675 ± 581.7***	1122.5 ± 454.3***
ITRS	333.2 ± 199.8	1635.9 ± 699.7***	1284.6 ± 641***	1080 ± 44.1**

Աստղանիշներով նշված են տարբեր ցուցանիշների հավաստելիության մակարդակները հետսթրեսային ժամանակահատվածում ստուգիչի համեմատ.

* – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$

Ինչպես ներկայացված է աղյուսակում սրտի կծկումների հաճախականությունը (CR) 5 ժամյա իմմոբիլիզացիոն սթրեսից կտրուկ աճել է ստուգիչի հետ համեմատ ($p < 0.001$) նույն մակարդակում պահպանվելով 7 օր անց վերադարձել է էլակետային մակարդակին 14 օր հետո: Հիստոգրաֆիկ ցուցանիշները (IVE, ITRS) սթրեսից առաջ, դրանից 7, ապա 14 օր անց դրսևորվել են հետևյալ օրինաչափություններով: ՎՆՅ-ի (վեգետատիվ նյարդային համակարգ) սիմպաթիկ և պարասիմպաթիկ բաժինների ակտիվության հարաբերությունը բնութագրող ցուցանիշ է IVE, ընդ որում որքան բարձր է այս ցուցանիշը, այնքան գերակշռում են սիմպաթիկ ազդեցությունները: Մեր փորձերում անմիջապես սթրեսից հետո IVE-ի արժեքները գերազանցում են ստուգիչը մոտ 3 անգամ, բարձր մակարդակում պահպանում 7 և անգամ 14 օր անց: Հատկանշալի է այն հանգամանքը, որ սիմպաթիկ ազդեցությունները ներկայացնող ցուցանիշները բարձր արժեք դրսևորել են ոչ միայն 7 օր հետո, այլ նաև 14 օր անց, ինչը թույլ է տալիս ենթադրելու, որ 5 ժ իմմոբիլիզացիոն սթրեսը ՎՆՅ-ում առաջացնում է խորը փոփոխություններ, որոնց հաղթահարման համար անհրաժեշտ է դեղորայքային միջամտություն, այլապես սիրտ-անոթային համակարգում կարող են զարգանալ ոչ միայն ֆունկցիոնալ, այլ նաև օրգանական փոփոխություններ:

ՍՌՓ ՄՎ-ի հետազոտություններում առավել բնութագրական ցուցանիշ է ITRS, որն արտացոլում է սիմպաթիկ մեխանիզմների ընդգրկմամբ ընթացող սրտային ռիթմի ուղեղային կառավարման կենտրոնացման չափը: Մեր փորձերում այս ցուցանիշի արժեքները գերազանցում են ստուգիչը մոտ 5 անգամ և բարձր արժեքներ դրսևորելով 7 օր անց և դեռ գերազանցում ստուգիչը 3 անգամ նաև 14 օր անց: Ստացված տվյալները վկայում են ՎՆՅ-ի կարգավորիչ մեխանիզմների գործունեության լարված բնույթի մասին:

Այսպիսով, ՍՌՓ ՄՎ-ի արդյունքում ստացված տվյալները վկայում են, որ իմմոբիլիզացիոն սթրեսի ենթարկված անետոների մոտ սթրեսային ազդեցությունից 14 օր անց վերականգնվել է միայն սրտային կծկումների հաճախականությունը: Ինչ վերաբերում է մյուս ցուցանիշներին, ապա դրանց բարձր արժեքները թույլ են տալիս ենթադրելու, որ ՎՆՅ-ի գործունեության լարված բնույթը սիմպաթիկ ազդեցությունների գերակշռմամբ պահպանվել է նաև 14 օր հետո: Հետևաբար, հիստոգրաֆիկ ցուցանիշների փոփոխությունները վկայում են, որ չնայած հետսթրեսային փուլում սրտային ռիթմի կարգավորմանը, սիմպաթիկ ազդեցությունները գերակշռում են և կրում են լարված բնույթ: Հայտնի է, որ բնական պայմաններում (առանց որևէ ազդեցության) սրտային ռիթմը կարգավորվում է ինքնավարությամբ, իսկ արտակարգ պայմաններում (սթրես, աղապտացիա, պաթոլոգիա) կարգավորման գործընթացին մասնակցում են ուղեղի բարձրագույն վեգետատիվ կառույցները:

Հարկ է նշել, որ ՍՌՓ ՄՎ-ի հիստոգրաֆիկ ցուցանիշները գնահատում են նշված կառույցների դերը սրտային ռիթմի կարգավորման մեջ: Հետևաբար, ստացված թույլ է տալիս ենթադրելու, որ չնայած նրան, որ օրգանիզմը արտաքուստ հաղթահարում է սթրեսային փուլը (սրտային ռիթմի կարգավորում), այնուամենայնիվ հետսթրեսային փուլում սիրտ-անոթային համակարգում դեռևս շարունակվում է պահպանվել սիմպաթիկ լարվածությունը: Վերջինս կարող է պատճառ հանդիսանալ այս համակարգի այնպիսի ախտահարումների, ինչպիսիք են սրտամկանի ինֆարկտը, ինսուլտը և այլն:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Баевский Р.М. и соавт. Математический анализ сердечного ритма при стрессе.* М., Наука, 1984.
2. *Геворгян Э.Г. Создание методов компьютерной диагностики общего функционального состояния организма, подвергнутого стрессорным перегрузкам. В сб. "Современные аспекты радиационной медицины".* Ереван, 1995, с.8-11.
3. *Геворгян Э.Г. Система компьютерной оценки функционального состояния регуляторных механизмов мозга человека в норме и патологии. В сборнике "Современные аспекты радиационной медицины и ожогов",* Ереван, с. 109-115, 2003 (6).
4. *Судаков К.В. Системные механизмы эмоционального стресса.* М., Медицина, 230 с., 1981.
5. *Шаляпина В.Г., Ракицкая В.В. Реактивность гипоталамико-адреналокортикальной системы на стресс у крыс с активной и пассивной стратегиями поведения. Рос. физиол. журнал им. И. М. Сеченова, 89, 5, с. 585-590, 2003.*
6. *Baldwin D.R., Wilcox Z.C. Zheng G. The effects of voluntary exercise and immobilization on humoral immunity and endocrine responses in rats. Physiol. Behav., 61, 3, p. 447-453, 1997.*
7. *Freidin, E., Mustaca A.E. Frustration and sexual behavior in male rats. Learn Behav., 32, 3, p. 311-320, 2004.*
8. *Gamaro G.D., Michalowski M.B., Catelli D.H., Xavier M.H., Dalmaz C. Effect of repeated restraint stress on memory in different tasks. Braz. J. Med. Biol. Res., 32, 3, p. 341-347, 1999.*
9. *Palermo-Neto, J. C. de Oliveira Massoco, W. Robespierre de Souza Effects of physical and stressors on behavior, macrophage activity, and Ehrlich tumor growth. Brain Behav. Immun., 17, 1, p. 43-54. 2003.*

Ստացվել է 18.10.2011



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 2(64), 2012

ԲԱԿՏԵՐԻԱԿԱՆ ՄԻՋԱՏԱՍՊԱՆՆԵՐԻ ՓՈՐՁԱՐԿՈՒՄԸ ԿԱՂԱՄԻ ՏԵՐԵՎԱԿԵՐ ՎՆԱՍԱՏՈՒՆԵՐԻ ԴԵՄ ԱՐՏԱԴՐՈՒԹՅԱՆ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Ա.Մ. ԱՎԱԳՅԱՆ, Մ.Ա. ՍԱՐԳՍՅԱՆ

*Սննդամթերքի անվտանգության ոլորտի ռիսկերի գնահատման և
վերլուծության գիտական կենտրոն ՊՈԱԿ
masissargsyan@mail.ru*

2007-2008 թթ. արտադրության պայմաններում (Լոռու մարզ) կաղամբի
ցեցի I-II, կաղամբի ճերմակաթիթեռի II-III հասակի թրթուրների դեմ առանձին
փորձարկվել են BT_{AM}-1 և BT_{AM}-2 բակտերիական միջատասպանները, իսկ կա-
ղամբի բվիկի I-II հասակի թրթուրների դեմ՝ բակտերիական և ՄԽՍԱ (միջատնե-
րի խիտինի սինթեզի արգելակիչ) միջատասպանների զուգակցությունները
(BT_{AM}-1 + դիմիլին, BT_{AM}-2 + դիմիլին, Լեպիդոցիդ + դիմիլին): Նշված միջատների
դեմ հաստատվել է կենսաբանական բարձր արդյունավետություն:

*Բակտերիական միջատասպաններ – կաղամբի տերևակեր վնասատուներ –
արտադրական փորձեր – կենսաբանական արդյունավետություն*

В 2007-2008 гг. в производственных условиях (Лорийский марз) против
гусениц капустной моли I-II возрастов и гусениц капустной белянки II-III воз-
растов были раздельно испытаны бактериальные инсектициды BT_{AM}-1 и
BT_{AM}-2, а против гусениц капустной совки I-II возрастов - сочетания бакте-
риальных инсектицидов с ингибитором синтеза хитина насекомых (BT_{AM}-1 +
димилин, BT_{AM}-2 + димилин, лепидоцид + димилин). Против указанных фито-
фагов была установлена высокая биологическая эффективность.

*Бактериальные инсектициды – листогрызущие вредители капусты –
производственные опыты – биологическая эффективность*

Bacterial insecticides BT_{AM}-1 and BT_{AM}-2 were tested separately in 2007-
2008 in full-scale conditions (Lori Marz) against diamond-back moth caterpillars of
I-II age and cabbage white butterfly caterpillars of II-III age, while against cabbage
noctuid moth caterpillars of I-II age the combinations of bacterial insecticides and
chitin synthesis inhibitor of insects (BT_{AM}-1 + dimilin, BT_{AM}-2 + dimilin, lepidocid
+ dimilin) were used. High biological effectiveness against above-mentioned phyto-
phages was established.

*Bacterial insecticides – leaf-eating pests of cabbage – full-scale experiments –
biological effectiveness*

Սպիտակագլուխ կաղամբն (*Brassica capitata*) իր արժեքավոր քիմիական
կազմի շնորհիվ դասվում է կարևոր սննդամթերքների շարքին:

Լոռու մարզի կաղամբի տնկարկները, կազմելով Հայաստանում կաղամբի
մշակության ընդհանուր տարածքի 14,6%-ը [1], յուրաքանչյուր տարի զգալիորեն
տուժում են տերևակեր վնասատուներից, հատկապես կաղամբի ցեցից (*Plutella
maculipennis* Curt.), կաղամբի ճերմակաթիթեռից (*Pieris brassicae* L.) և կաղամբի
բվիկից (*Mamestra brassicae* L.), որոնց պատճառած վնասի հետևանքով զգալիորեն
նվազում է բերքատվությունը, իջնում որակը:

Վնասակար միջատների դեմ պայքարի ինտեգրացված համակարգում, ի տարբերություն քիմիականի, գերադասելի է բյուրեղ առաջացնող բակտերիաների հիման վրա թողարկված պատրաստուկների կիրառությունը, որոնք վնասակար միջատների դեմ կենսաբանական բարձր արդյունավետություն դրսևորելուն զուգընթաց, անվտանգ են մարդու, տաքարյուն կենդանիների, էնտոմոֆագների և ձկների համար [2, 5, 8, 10, 12], բացասաբար չեն ազդում բույսերի աճի ու զարգացման վրա և կիրառելի են մշակաբույսերի վեգետացիայի ցանկացած փուլում [8]:

Այնուհանդերձ պետք է նշել, որ արտերկրից բակտերիական պատրաստուկներ ներկրելիս 2-3 անգամ ավելանում է ներկրվող պատրաստուկի ինքնաթեքը, ինչը տնտեսապես չափեկան չէ և խոչնդոտում է նշված պատրաստուկների ներկրմանը:

Վերոնշյալ նկատառումներից ելնելով, խնդիր է դրվել արտադրության պայմաններում բացահայտել կենսացենոզի առանձին օբյեկտներից մեր կողմից անջատված *Bacillus thuringiensis* (BT) տեսակի տեղական բակտերիական միջատասպանների կենսաբանական արդյունավետությունը կաղամբի՝ ցեցի, ճերմակաթիթեռի և բվիկի թրթուրների դեմ:

Ազդման սպեկտրի վերջնական որոշումից հետո տեղական բակտերիական միջատասպանները կարող են երկրում բակտերիական պատրաստուկների թողարկման հիմք հանդիսանալ:

Նյութ և մեթոդ: Առանձին և զուգորդված միջատասպանների մեծածավալ սրսկումները (արտադրական փորձեր) կաղամբի ցեցի I-II, կաղամբի ճերմակաթիթեռի II-III և կաղամբի բվիկի I-II հասակի թրթուրների դեմ իրականացվել են 2007-2008թթ. Լոռու մարզի Ֆիզիոտոլոգիական կաղամբի տնկարկներում:

Հետազոտության նյութ են հանդիսացել ինչպես վերոնշյալ միջատներն, այնպես էլ առևտրային միջատասպան պատրաստուկներ լեպիդոցիդը (ԿԱ 3000 ԱՄ/մգ, թողարկումը՝ Ռուսաստանի Դաշնության Նովոսիբիրսկի մարզի Բերոսկի քիմ. գործարանի կողմից), դիմիլինը (25% ԹՓ, թողարկված է Յունիռոյալ Քեմիկալ Ֆիրմայի կողմից) և մեր կողմից պտղացեցի (*Hyponomeuta padellus* L.) և ձմեռային երկրաչափի (*Operophtera brumata* L.) մահացած (բնական մահացություն) թրթուրներից համապատասխանաբար անջատված բակտերիական BT_{AM-1} և BT_{AM-2} հարուցիչները (շտամների անվանումը տրված է հեղինակի կողմից):

Առանձին և զուգորդությունների տեսքով բակտերիական միջատասպանների կենսաբանական արդյունավետությունը որոշվել է ըստ մեթոդական ձեռնարկի [6] և հանձնարարականի [8]՝ ներքոբերյալ բանաձևով.

$$\mathcal{O} = (1 - \frac{K_{\mathcal{A}}}{K_{\mathcal{B}}} \cdot \frac{O_{\mathcal{B}}}{O_{\mathcal{A}}}) \cdot 100\%,$$

որտեղ՝ $\mathcal{O}$ -ն կենսաբանական արդյունավետությունն է, $K_{\mathcal{A}}$ -ն և $K_{\mathcal{B}}$ -ն վնասատուի քանակությունն է ստուգիչ տարբերակում, համապատասխանաբար նախքան ցողումը և ցողումից հետո, $O_{\mathcal{A}}$ -ն և $O_{\mathcal{B}}$ -ն վնասատուի քանակությունն է բակտերիական միջատասպանով ցողված տարբերակում, համապատասխանաբար նախքան ցողումը և ցողումից հետո:

Ստուգիչ են հանդիսացել տերևակեր վնասատուներով բնակեցված, բայց չցողված, չափանմուշ՝ լեպիդոցիդի ջրային կախույթով ցողված կաղամբի բույսերը:

Տնկարկային մակերեսը յուրաքանչյուր տարբերակում կազմել է 0,2 հա:

Տարբերակներից յուրաքանչյուրն ունեցել է 3-ական կրկնողություն:

Ցողումները կատարվել են RTR MAX մակնիշի մոտոռային սրսկիչով:

Աշխատանքային հեղուկի ծախսը կազմել է 500 լ/հա:

Ցողման և հաշվառման հետագա օրերին փորձատեղամասերում տեղումներ չեն գրանցվել:

Վնասակար միջատների կողմից կաղամբի բույսերին հասցված վնասը որոշվել է 5-բալլանոց սանդղակով [9]:

Հետազոտության արդյունքները ենթարկվել են մաթեմատիկական վերլուծության՝ ըստ Աշմարինի և Վորոբյովի [3]:

Մահացած թրթուրների մարմնում միջատասպան սպիտակուցային բնույթի բյուրեղ առաջացնող բակտերիաների առկայությունը բացահայտվել է Պետրիի թասերում, մսապատրոնային ագարի (ՄՊԱ) վրա՝ նոսրացման եղանակով [7] (պեպտոնը թողարկված է Micro master ֆիրմայի կողմից): Նախքան հետազոտությունները, մահացած թրթուրների մարմինները (որոշ քանակություն) ճենապակե սանդուղի մանրացվել և նոսրացվել են մանրեագերծ ջրով:

Միջատասպան բակտերիաների վեգետատիվ բջիջների, սպորների և բյուրեղների ներկումը կատարվել է առարկայակիր ապակու վրա՝ համաձայն Իվանովի և Ղուկասյանի մշակված մեթոդի [4]:

Արդյունքներ և քննարկում: Բաժնյակային երկամյա հետազոտության արդյունքներով նախապես հաստատված է, որ Լոռու մարզի Լեռմոստովո համայնքի կաղամբի տնկարկներում BT_{AM}-1 և BT_{AM}-2 շտամները կաղամբի ցեցի և կաղամբի ճերմակաթիթեռի դեմ, BT_{AM}-1 + դիմիլին, BT_{AM}-2 + դիմիլին, լեպիդոցիդ + դիմիլին զուգակցությունները կաղամբի բվիկի դեմ ցուցաբերել են բարձր՝ ընդհանուր առմամբ 81,8-94,5% կենսաբանական արդյունավետություն: Փորձի սխալը և տատանման գործակիցը գիտափորձերի տարբերակներում տատանվել են համապատասխանաբար 2,8-5,3 և 6,32-11,86%-ի սահմաններում, որոնք էլ հաստատել են ստացված արդյունքների հավաստի լինելու փաստը:

Հաստատված է նաև, որ Նույն մարզի Ֆիոլետովո համայնքի արտադրական փորձատեղամասերի կաղամբի տնկարկների 20-44%-ը բնակեցված է եղել կաղամբի ցեցի 2 և ավելի քանակությամբ թրթուրներով, 10-12%-ը՝ կաղամբի ճերմակաթիթեռի թրթուրների խմբերով (խմբերում առանձնյակների քանակը՝ 3-44 հատ), 16-18%-ը՝ կաղամբի բվիկի 1 և ավելի թրթուրներով, ինչը համապատասխանել է նշված ֆիտոֆագերի տնտեսական վնասակարության շեմերին [11]:

Ստացված արդյունքները հնարավորություն են ընձեռել կաղամբի տերևակեր վնասատուների դեմ բակտերիական միջատասպաններն առանձին և դիմիլինի հետ զուգորդված փորձարկել արտադրության պայմաններում:

Երկամյա հետազոտության արդյունքներով հաստատված է (աղ. 1 և 2), որ արտադրության պայմաններում փորձարկված բակտերիական միջատասպանները կաղամբի ցեցի I-II և ճերմակաթիթեռի II-III հասակի թրթուրների դեմ ցողումից 7 օր անց ցուցաբերել են առավել բարձր՝ ընդհանուր առմամբ 91,1-93,2% կենսաբանական արդյունավետություն և չեն զիջել նշված ժամկետում դրսևորված չափանիշային լեպիդոցիդի նույնանուն ցուցանիշին (90,9-92,3%):

Աղյուսակ 1. Բակտերիական միջատասպանների կենսաբանական արդյունավետությունը կաղամբի ցեցի I-II հասակի թրթուրների դեմ (արտադրական փորձեր, 2007-2008թթ.)

Միջատասպան	Կուլտուրալ հեղուկի (մլն սպոր/մլ) և պատրաստուկի խտությունը (%)	Կենսաբանական արդյունավետությունն ըստ տարիների և հաշվառման օրերի			
		3	5	7	10
2007					
BT _{AM} -1	300	74,2	86,0	91,4	91,4
BT _{AM} -2	300	64,3	85,7	92,8	92,8
Լեպիդոցիդ (չափանմուշ)	0,2	75,4	86,1	92,3	92,3
2008					
BT _{AM} -1	300	77,7	89,3	91,3	91,3
BT _{AM} -2	300	75,0	90,9	93,2	93,2
Լեպիդոցիդ (չափանմուշ)	0,2	71,7	84,8	90,9	90,9

Ընդ որում, կենսաբանական արդյունավետության ցուցանիշները փորձնական տարբերակներում մինչև թրթուրների հարսնյակավորումը էական փոփոխություններ չեն կրել:

Կաղամբի բվիկի դեմ դիմիլինի հետ զուգորդված և առանձին բակտերիական միջատասպանների ցուցաբերած կենսաբանական արդյունավետության ցուցանիշները ներկայացված են աղյուսակ 3-ում: Աղյուսակ 3-ի տվյալներից հետևում է, որ երկամյա հետազոտություններում BT_{AM}-1 և BT_{AM}-2 կուլտուրալ հեղուկները կաղամբի բվիկի I-II հասակի թրթուրների դեմ ցողումից 15 օր անց ցուցաբերում են համեմատաբար ցածր (37,5-58,3%) կենսաբանական արդյունավետություն: Վերջինիս ցուցանիշը չափանմուշային տարբերակում 2007 և 2008թթ. կազմել է համապատասխանաբար 50,0 և 53,3%:

Գիտափորձերի արդյունքներով հաստատված է (աղ. 3), որ դիմիլինի ենթաշեմային խտության (մահացու խտությունից 10 անգամ նոսր) հետ զուգակցությունը նշանակալի (19,5-43,7%-ով) բարձրացնում է բակտերիական միջատասպանների (BT_{AM}-1, BT_{AM}-2, լեպիդոցիդ) կենսաբանական արդյունավետությունը: Դիմիլինը, լինելով միջատների խիտինի սինթեզն արգելակող (ՄԽՍԱ) պատրաստուկ, ըստ երևույթին նվազեցնում է բակտերիական միջատասպանների դեմ կաղամբի բվիկի պաշտպանական ֆունկցիան և դրանով իսկ խթանում միջատասպան մանրէների ակտիվ գործունեությունը:

Աղյուսակ 2. Բակտերիական միջատասպանների կենսաբանական արդյունավետությունը կաղամբի ճերմակաթիթեռի II-III հասակի թրթուրների դեմ (արտադրական փորձեր 2007-2008 թթ.)

Միջատասպան	Կուլտուրալ հեղուկի (մլն սպոր/մլ) և պատրաստուկի խտությունը (%)	Կենսաբանական արդյունավետությունն ըստ տարիների և հաշվառման օրերի			
		3	5	7	10
2007					
BT _{AM} -1	300	50,9	77,1	91,1	91,1
BT _{AM} -2	300	47,9	86,3	92,5	92,5
Լեպիդոցիդ (չափանմուշ)	0,2	59,8	86,3	92,3	92,3
2008					
BT _{AM} -1	300	51,7	85,0	92,5	92,4
BT _{AM} -2	300	54,0	83,2	93,2	93,1
Լեպիդոցիդ (չափանմուշ)	0,2	61,4	89,5	92,1	92,0

Կաղամբի ցեցի և կաղամբի ճերմակաթիթեռի կողմից կաղամբ մշակաբույսին հասցված վնասը փորձնական (BT_{AM}-1, BT_{AM}-2) և չափանմուշային (լեպիդոցիդ) տարբերակներում կազմել է 1 բալլ (թույլ վնասվածություն), կաղամբի բվիկի դեպքում՝ 3 բալլ (միջին վնասվածություն), իսկ զուգորդված միջատասպանների (բակտերիական + դիմիլին) և ստուգիչ (չցողված) տարբերակներում այն կազմել է համապատասխանաբար 1 (թույլ վնասվածություն) և 4 բալլ (ուժեղ վնասվածություն): Մանրէաբանական հետազոտություններով հաստատված է, որ կաղամբի վնասակար միջատների (ցեց, ճերմակաթիթեռ, բվիկ) մահացած թրթուրների մարմինների խոռոչն ու քայքայված հյուսվածքները պարունակում են բազմաթիվ միջատասպան բյուրեղ առաջացնող բակտերիաներ, ինչն էլ հաստատել է, որ ֆիտոֆագերի մահացության պատճառը բակտերիական միջատասպաններն են:

Աղյուսակ 3. Բակտերիական միջատասպանների կենսաբանական արդյունավետությունը կաղամբի բվիկի I-II հասակի թրթուրների դեմ (արտադրական փորձեր, 2007-2008թթ.):

Միջատասպան	Կուլտուրալ հեղուկ (մլն սպոր/մլ) + պատրաստուկի խտություն (%)	Կենսաբանական արդյունավետությունն ըստ տարիների և հաշվառման օրերի				
		3	5	7	10	15
2007						
BT _{AM} -1 + դիմիլին	600+0,03	31,2	62,5	75,0	81,2	81,2
BT _{AM} -1	600	0	25,0	37,5	37,5	37,5
BT _{AM} -2 + դիմիլին	600+0,03	36,4	54,5	72,7	81,8	81,8
BT _{AM} -2	600	0	16,7	33,3	50,0	50,0
Լեպիդոցիդ + դիմիլին	0,4+0,03*	40,2	64,7	76,5	82,3	82,3
Լեպիդոցիդ (չափանմուշ)	0,4	0	14,3	35,7	50,0	50,0
2008						
BT _{AM} -1 + դիմիլին	600+0,03	33,3	61,1	72,2	77,8	77,8
BT _{AM} -1	600	0	16,7	41,7	58,3	58,3
BT _{AM} -2 + դիմիլին	600+0,03	38,5	53,8	69,2	76,9	76,9
BT _{AM} -2	600	0	21,4	35,7	50,0	50,0
Լեպիդոցիդ + դիմիլին	0,4+0,03	52,9	64,7	76,5	88,2	88,2
Լեպիդոցիդ (չափանմուշ)	0,4	0	20,0	46,7	53,3	53,3

Ծանոթագրություն. * խտություններն արտահայտված են տոկոսներով:

BT_{AM}-1, BT_{AM}-2 բակտերիական միջատասպանները կաղամբի ցեցի և կաղամբի ճերմակաթիթեռի թրթուրների դեմ արտադրական փորձերում ցուցաբերել են բարձր (91,1-93,2%), իսկ կաղամբի բվիկի դեմ՝ ցածր (37,5-58,3%) կենսաբանական արդյունավետություն:

Չուգորդումը դիմիլինի ենթաշեմային խտության՝ 0,03%-ոց ջրային կախույթի հետ բարձրացնում է BT_{AM}-1-ի, BT_{AM}-2-ի և Լեպիդոցիդի կենսաբանական արդյունավետությունն ընդհանուր առմամբ 19,5-43,7%-ով:

Մանրեաբանական հետազոտություններով հաստատված է, որ կաղամբի ցե-
ցի, կաղամբի ճերմակաթիթեռի և կաղամբի բվիկի թրթուրների մահացության
պատճառը միջատասպան բյուրեղ առաջացնող բակտերիաներն են:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Գյուղատնտեսական մշակաբույսերի ցանքային տարածությունները և համախառն
բերքը 2009 թվականին: Երևան, էջ 20, 2010:
2. *Африкян Э.К.* Энтомопатогенные бактерии и их значение. Ереван, АН Арм. ССР, 420 с.,
1973.
3. *Ашмарин И.П., Воробьев А.А.* Статистические методы в микробиологических исследо-
ваниях. Л, Медгиз, 180 с., 1962.
4. *Иванов Г.М., Гукасян А.Б.* Окраска кристаллов и вегетативных клеток энтомопатоген-
ных бактерий. Микробиология, 35, вып.1. с. 179-180, 1966.
5. *Крушев Л.Т., Машина Т.И.* Применение бактериальных средств для защиты леса от
вредных насекомых. М., с. 52, 1977.
6. Методические указания по испытанию биопрепаратов для защиты растений от вреди-
телей, болезней и сорняков. М., Колос, 41 с., 1973.
7. Практикум по микробиологии. М., Моск. университет, 307 с. 1976.
8. Применение бактериальных препаратов против вредителей сельскохозяйственных
культур (рекомендации). М., ВО Агропромиздат, с. 3-6, 1989.
9. Прогноз появления и учет вредителей и болезней сельскохозяйственных культур. М.,
МСХ СССР, с. 54-55, 1958.
10. *Саранцева Н.А., Бобрешова И.Ю.* Биопрепараты против колорадского жука. Защита и
карантин растений. М., 7. с. 27-28, 2006.
11. Экономические пороги вредоносности главнейших вредных видов насекомых и кле-
шей. М., Агропромиздат. с. 15, 1986.
12. *Siegel J.P.* The mammalian safety of *Bacillus thuringiensis*-based insecticides. Journal of
Invertebrate Pathology, 77, Issue 1. p. 13-21, 2001.

Ստացվել է 19.10.2011



Биол. журн. Армении, 2 (64), 2012

ОСОБЕННОСТИ РОСТА И РАЗВИТИЯ АГЕРАТУМА ПРИ ОБРАБОТКЕ РЕГУЛЯТОРАМИ РОСТА

К.Г. АЗАРЯН*, Л.Ю. МАРТИРОСЯН**

*Ереванский госуниверситет, кафедра микробиологии,
биотехнологии растений и микроорганизмов,
ketiazaryan@mail.ru

**Институт ботаники НАН РА
botanyinst@sci.am

В целях получения доброкачественного посадочного материала для озеленения населенных пунктов Армении начато испытание ряда регуляторов роста (корневин, радифарм, свит) на некоторых однолетних цветочных растениях. Предварительные результаты показали, что применение этих препаратов позволяет продлить период цветения и повысить декоративные качества растений *Ageratum houstonianum*.

Агератум – регулятор роста – декоративность

Հայաստանի բնակավայրերի կանաչապատման համար որակյալ տնկանյութի ստացման նպատակով սկսվել են մի շարք ածման խթանիչների (կորնևին, ռադիֆարմ, սվիտ) փորձարկումներ: Նախնական արդյունքները ցույց տվեցին, որ այս պատրաստուկների օգտագործումը երկարացնում է *Ageratum houstonianum*-ի ծաղկման տևողությունը և բարձրացնում է բույսերի գեղազարդ հատկանիշները:

Ագերատում – ածման խթանիչ – գեղազարդություն

The tests of a series of growth stimulators for some annual ornamental plants (kornevin, radifarm, sweet) have been started in order to obtain ornamental plants material for planting trees and shrubs settlements in Armenia. According to the preliminary results, application of these substances prolong blooming period and improves ornamental features of *Ageratum houstonianum*.

Ageratum – growth regulators – ornamental

Получение доброкачественного посадочного материала для озеленения населенных пунктов стало сложной задачей в связи с сильным техногенным прессом на биосферу и последствиями изменения климата. Для решения этой проблемы сотрудниками кафедры микробиологии, биотехнологии растений и микроорганизмов Ереванского государственного университета и Института ботаники НАН РА начато испытание ряда регуляторов роста на некоторых однолетних цветочных культурах. В данной статье изложены результаты обработки рассады традиционной в цветоводстве культуры агератума препаратами итальянской фирмы “Валагро” (радифарм и свит) и российского препарата (корневин).

Ageratum houstonianum Mill. является однолетником в городских цветочных оформлениях. Это многолетнее травянистое или полукустарниковое растение относится к семейству Asteracea, выращивается в наших условиях как однолетник [5]. Исследуемые растения имеют прекрасный внешний вид, и за то что цветы сохраняют декоративность более 60 дней они названы долгоцветами. Агератумы весьма декоративны как в одиночных посадках, так и в клумбах в качестве бордюра, а также на балконах городских квартир. Агератум нетребователен к почве, благодаря хорошо развитой корневой системе выдерживает нехватку воды и перегрев почвы. Стебли многочисленные, сильно ветвистые, прямостоячие или приподнимающиеся, опушенные. Высота растений 10-60 см. Листья треугольные, ромбические или овальные, с зубчатыми краями, шершавые; нижние и средние - супротивные, черешковые, верхние - очередные, почти сидячие. Цветки обоеполые, мелкие, узкотрубчатые, душистые собраны в небольшие соцветия - корзинки 1-1,5 см в диаметре, которые образуют сложные щитковидные соцветия диаметром до 10 см. Основную декоративность им придают двуллопастные рыльца цветов, которые почти вдвое превышают длину околоцветника и сильно выдаются над ним. Околоцветник и рыльца окрашены одинаково в голубые, сиренево-голубые, синие, карминово-розовые или белые тона. Цветет очень обильно с июня до первых заморозков. Плодоносит в начале сентября. Семянки пятигранные, с пленчатым хохолком, сохраняют всхожесть 2-3 года. В 1 г содержится до 6000 семян [2].

В разных отраслях растениеводства все шире используются различные стимуляторы, способствующие ускорению не только прорастания семян, но и усилению ризогенеза, ибо значительное число видов успешнее размножается вегетативно.

Стимуляторы корнеобразования нашли широкое применение при вегетативном размножении растений. Корнеобразование существенно облегчается при применении регуляторов роста группы ауксинов, которые при черенковании способствуют формированию корней из клеток стебля и усиливают развитие корневой системы у вегетирующих растений. Долгое время для стимуляции корнеобразования использовали управляющий этим процессом в растении фитогормон - гетероауксин (индолил-3-уксусная кислота). Действующее вещество препарата корневин 4 (индолил-3) масляная кислота (ИМК) в растении постепенно превращается в фитогормон гетероауксин, обеспечивая наилучший эффект (в т.ч. более мягкое и продолжительное действие) в самых низких по сравнению с другими ауксинами дозах. Кроме того, подобная препаративная форма корневина (опудривающий состав) позволяет за счет высокой адгезии (прилипаемости) к поверхности черенков активизировать проникновение действующего вещества в клетки растения, значительно повысить эффективность и упростить технологию применения препарата, который можно употреблять и в виде раствора для полива растений. Корневин соответствует лучшим мировым аналогам и обеспечивает высокую приживаемость (до 95%) при зеленом черенковании и пересадках, в т.ч. трудноукореняемых культур. При пикировке сеянцев, высадке рассады овощных и цветочных культур, пересадке саженцев и взрослых деревьев препарат обеспечивает высокую (до 100%) приживаемость растений на новом месте и снимает возникающий стресс. Луковицы и клубнелуковицы гладиолусов, тюльпанов, крокусов, гиацинтов корневин легко выводит из состояния покоя, что дает возможность проводить их выгонку в зимнее время.

В последние годы широкое распространение получили многие регуляторы роста широкого спектра действия, разработанные и выпускаемые итальянской фирмой "Валагро". Некоторые из них - радифарм и свит испытаны в наших опытах. В состав радифарма, нового комплексного биологического стимулятора образования вторичных корней растений, входят вещества, которые не только стимулируют, но и поддерживают формирование и развитие корневой системы. Производится радифарм

путем энзимного гидролиза растительного материала (морских водорослей) с добавлением натуральных компонентов, которые оказывают активное комплексное воздействие на рост корней. Препарат содержит полисахариды, глюкозиды, аминокислоты и бетаины, витамины В₁, В₆, D, H, PP и микроэлементы железа и цинк в хелатной форме. Этими компонентами обусловлен не только усиленный и ускоренный ризогенез черенков, но и уменьшение стресса при пересадке, что в конечном результате приводит к значительному уменьшению количества выпавших растений, быстрому и равномерному началу роста после пересадки, ускоренному жизненному циклу, усиленному вегетативному росту; при черенковании стимулируется более ускоренный старт развития корневой системы, уменьшается дисбаланс между ростом корней и надземной массы; при высадке рассады и посадке саженцев формируется развитая корневая система. При обработке любой культуры происходит стремительное развитие корневой системы, которая позволяет эффективно потреблять воду и питательные вещества. Положительной особенностью препарата является легкий способ использования. Радифарм вносится так, чтобы обеспечивался контакт с молодыми корнями.

Свит – концентрированный раствор растительных моно-ди-три-полисахаридов, уоновых кислот, с добавлением мезо- и микроэлементов, без синтетических гормонов. При применении на последних стадиях роста растения улучшает окраску плодов; повышает концентрацию сахаров; укрепляет ткань плодов; улучшает расцветку цветков; повышает лежкость плодов; позволяет получать более ранний урожай. Свит разработан для повышения качества, товарного вида и урожайности плодовых, ягодных, овощных и цветочных культур, сохранения вкуса и товарного вида плодов при транспортировке и длительном хранении [1].

Целью работы было определение воздействия биостимуляторов на рост и развитие однолетних культур.

Материал и методика. В качестве исследуемого объекта был выбран *Ageratum houstonianum*, довольно распространённый в садово-парковой культуре Еревана. Посев производили по общепринятой методике в садовую почвосмесь, пикировку семян – при появлении второго и третьего настоящего листа, высадку семян с высотой стебля 9-12 см в грунт – через 25-30 дней.

Корни исследуемых растений были выдержаны в растворах препаратов (корневин, радифарм, свит) в течение суток. Итальянские препараты свит и радифарм были предоставлены сотрудниками местного представительства компании “Валагро”, с предложением испытать их на традиционных декоративных однолетниках для внекорневого питания, а корневин взят для сравнения. Вторая обработка проведена методом полива почвы через две недели после высадки. В течение всего вегетационного периода проводили фенологические наблюдения и биометрические измерения частей растений по общепринятой методике [4]. Так же определяли площадь листовой пластинки. Содержание фитосинтетических пигментов определяли на спектрофотометре марки Thermo scientific (USA) по методу Лихтеналера на листьях обработанных радифармом растений, наиболее отличавшихся по интенсивности окраски [3].

Результаты и обсуждение. Использованные препараты вызвали значительные изменения в росте и развитии обработанных растений. Сравнение высоты стебля контрольных и опытных растений показало, что наиболее заметная стимуляция роста наблюдалась в результате замачивания корневой системы растений в течение 24 ч в растворах корневина (на 16%) и радифарма (на 36.9% выше контроля). При этом активация апикальной меристемы под влиянием этих препаратов стимулировала рост стебля в результате образования вдвое большего числа узлов, а не за счет удлинения междоузлий (рис.1). Все 3 препарата одновременно активировали также и камбий, что проявилось в утолщении и ветвлении стеблей опытных

растений, особенно под влиянием радифарма, где диаметр основания стебля вдвое превосходил контроль. Корневин и свит также активировали меристематическую активность, но несколько слабее, чем радифарм (табл.1).

Таблица 1. Влияние препаратов на некоторые показатели стебля агератума

Вариант опыта	Диаметр стебля, см	Число узлов, шт.	Диаметр соцветия, см
Контроль	0.5	4	2.0-2.5
Свит	0.9	8	4.0-4.5
Корневин	1.0	6	5.6-6.0
Радифарм	1.1	8	8.5-9.0

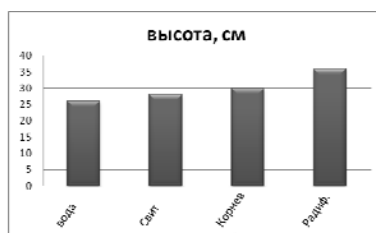


Рис.1. Влияние препаратов на высоту стебля агератума

Обработанные растения отличались также крупными мясистыми листьями. Измерение площадей листьев контрольных и опытных растений выявило значительное разрастание пластинки, особенно в варианте радифарма, где наблюдалось более чем трехкратное разрастание листьев. Корневин вызвал двукратное разрастание листа, хотя на рост стебля в высоту влиял слабо. Такая стимуляция роста листа обусловлена активацией маргинальной меристемы, ответственной за рост листовой пластинки (рис.2).



Рис.2. Влияние препаратов на площадь листовой пластинки

Стимуляция роста проявлялась не только на стеблях и листьях, но и на корневой системе. Так, у всех опытных растений длина главного корня и степень его разветвленности превосходили контроль, особенно в варианте радифарма и в несколько меньшей степени корневина соответственно на 6.5 и 4.0 см. Максимальное разрастание корневой системы отмечено под влиянием радифарма, где вследствие большего числа удлинённых и утолщённых боковых корней общий объём корневой системы почти втрое превосходил контроль.

По интенсивности окраски листовой пластинки наиболее заметная разница наблюдалась под влиянием радифарма, поэтому было определено содержание фотосинтетических пигментов – хлорофиллов (а и в) и каротиноидов в листьях (табл.2).

Таблица 2. Содержание пигментов в листьях агератума, мг/л

Вариант	Хл <i>a</i>	Хл <i>b</i>	Хл <i>a + b</i>	Каротин	Ксантофилл
Контроль	0.90	0.96	2.03	0.001	0.001
Радифарм	3.91	3.32	7.54	0.006	0.09

Установлено, что интенсивно зеленая окраска листьев агератума в варианте радифарма была обусловлена повышением содержания хлорофилла *a* в 4.3, а хлорофилла *b* в 3.4 раза по сравнению с контролем. Сумма же хлорофиллов *a* и *b* превосходила таковую в контроле в 3.7 раз. Еще выше разница в содержании вспомогательных пигментов фотосинтеза – каротина и ксантофилла соответственно в 6 и 90 раз. Подобное накопление фотосинтетических пигментов повышает интенсивность фотосинтеза, продукты которого обеспечивают стимуляцию всех процессов онтогенеза. Растения этого варианта не только раньше остальных завязали бутоны и начали цвести, но и сформировавшиеся соцветия ветвились, и в итоге цветки держались около трех месяцев, и через два месяца после раскрытия первых цветков боковые бутоны зацветали и диаметры соцветий опытных растений более чем втрое превосходили контроль. При этом следует отметить, что на растениях этого варианта завязались не только самые крупные и интенсивно окрашенные соцветия, но и завязать они начали на месяц позже остальных. Свит и корневин также стимулировали рост и цветение опытных растений, благодаря чему все опытные растения превосходили контроль по всем изученным показателям.

Испытание указанных препаратов показало, что все они стимулировали рост и развитие растений агератума, ускоряли и продлевали период цветения, что в итоге повышало декоративные показатели растений. Полученные результаты показывают, что эти препараты активируют меристематические ткани, благодаря чему ускоряется рост растений не только в высоту, но и в толщину, тем самым значительно повышаются декоративные качества растений, ускоряется и продлевается период цветения, при этом повышается также число цветков и на боковых побегах. Все препараты стимулировали указанные процессы, но в меньшей мере, чем радифарм. Радифарм вызвал наиболее заметную стимуляцию не только роста и развития растений, но и активировал фотосинтез, вследствие повышения содержания фотосинтетических пигментов как хлорофиллов, так и каротиноидов, что, очевидно, обусловило не только повышение декоративности растений, но и более раннее начало длительного цветения и улучшение габитуса куста с крупными темно-зелеными листьями и интенсивно окрашенными соцветиями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Безуглова О.С. Удобрения, биодобавки и стимуляторы роста для вашего урожая. Ростов на Дону. Феникс. с. 237-245, 2007.
2. Ботановский И.Е., Бурова Э.А., Грищик Л.Ф. Справочник цветовода (цветочно-декоративные растения открытого грунта). Минск, с. 4, 1985.
3. Гавриленко В.Ф., Жигалова Т.В. Большой практикум по фотосинтезу. М., с. 46-56, 2003.
4. Карпионова Р.А. Методика фенологических наблюдений в ботанических садах СССР. Бюл. ГБС, вып. 113, М., с. 3-8, 1979.
5. Киселёв Г.Е. Цветоводство. М., с. 482-483, 1952.

Поступила 04.11.2011



Биол. журн. Армении, 2 (64), 2012

ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ N-АЦЕТИЛНЕЙРАМИНОВЫХ КИСЛОТ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОТЕКЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Г.В. ЗАХАРЯН

Кафедра медицинской химии ЕГМУ им. М.Гераци
gayanezak@gmail.com

Проведено исследование по определению общей и липидсвязанной нейраминовой кислоты в головном мозге животных с экспериментальным отеком мозга. Обнаружено уменьшение как общей, так и связанной с липидами N- ацетилнейраминовой кислоты в головном мозге животных с экспериментальным отеком мозга. В сыворотке крови наблюдается противоположная картина: увеличивается как общая, так и липидсвязанная нейраминовая кислота.

N-ацетилнейраминовая кислота – отек мозга – сыворотка крови

Ուսումնասիրվել է ընդհանուր և լիպիդկապված նեյրամինաթթուների քանակը գլխուղեղում փորձարարական այտուցի ժամանակ: Ցույց է տրվել, որ գլխուղեղում նվազում է ընդհանուր և լիպիդկապված նեյրամինաթթուների քանակը, իսկ արյան շրջուկում, ընդհակառակ, ավելանում է:

Նեյրամինաթթու – գլխուղեղի այտուց – արյան շրջուկ

Amount of the total (protein and lipid-bound) neuraminic acid in brain and blood sera of animals with experimental cerebral edema was studied. The concentration of total neuraminic acids and lipid-bound neuraminic acids has decreased in both general and related lipids neuraminic acid in the brains of animals with experimental cerebral edema. In serum, on the contrary, the amount of neuraminic acids has increased.

Neuraminic acids – brain edema – blood serum

В современной медицинской биохимии проблема гипоксии и коррекция гипоксических нарушений является одной из ведущих. Особый интерес представляют так называемые экстремальные и критические состояния, при которых гипоксия как неспецифическое проявление выдвигается на первый план. Гипоксическая патология мозга может проявляться как самостоятельное заболевание (вследствие окклюзии сосудов, кровоснабжающих головной мозг) или как осложнение при травме головного мозга и возникающих при этом гематомах и других формах его сдавливания (компрессиях), приводящих к развитию отека мозга. В результате сдавливания ограниченных участков поверхности головного мозга возникает фокальная ишемия, сопровождающаяся деструкцией коры и формированием отека мозга [2]. Проблема ишемического повреждения головного мозга, а также фармакологической коррекции данной патологии является в настоящее время одной из основных проблем экспериментальной и клинической неврологии и нейрохирургии [6,8].

N-ацетилнейраминовые (сиаловые) кислоты являются полифункциональными соединениями с сильными кислотными свойствами. Как правило, в свободном виде в норме они не встречаются, а входят в состав различных углеводсодержащих веществ. Занимая в молекулах этих веществ концевое положение, нейраминовые кислоты оказывают значительное влияние на их физико-химические свойства и биологическую активность. N-ацетилнейраминовая кислота входит в состав ганглиозидов, относящихся к классу гликофинголипидов, являющихся одним из основных компонентов нейрональных мембран, особенно синаптических (61%), и участвующих во всех основных функциях нейрона и межнейрональном взаимодействии (синаптогенез, регуляция ионного микроокружения, мембранный электрогенез и др.).

Гликопротеины также являются важнейшими участниками межклеточных контактов, обеспечивая взаимное узнавание и адгезию определенных нейронов, участвуют в синаптической передаче, рецепторных реакциях, формировании и хранении памяти. Они входят в состав сложных надмолекулярных образований синаптических мембран.

Исходя из вышеизложенного, нами проведено сравнительное исследование содержания общей и липидсвязанной нейраминовой кислоты в головном мозге крыс с отеком мозга.

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 тетраэтилола в дозе 10 мг на 1 кг массы животного. Критерием развития отека мозга служили выраженная гидратация мозговой ткани и показатели микроскопического исследования [4]. 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 отеком мозга.

Общую нейраминовую кислоту определяли резорциновым методом по модифицированной методике Свеннерхольма [9].

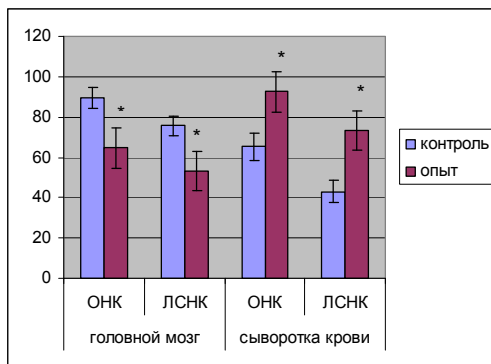
Для определения липидсвязанной сиаловой кислоты проводили экстракцию метанол-хлороформенной смесью (1:2). Супернатант с экстрагированными в нем липидами собирали, а осадок рекстрагировали трижды. К объединенному липидному экстракту добавляли холодную дистиллированную воду (в количестве 1/5 от общего экстракта), смесь тщательно перемешивали и центрифугировали (при 3000 об/мин 10 мин). Нижний хлороформенный слой, состоящий из фосфолипидов и нейтральных гликофинголипидов, отделяли от верхнего водно-метанолового слоя, содержащего ганглиозиды, который подвергали диализу против дистиллированной воды в течение 2 сут при 4°C, с частой заменой воды в диализаторе. Полученный после диализа раствор ганглиозидов выпаривали на ротационном испарителе и наносили на колонку с ДЕАЕ-сефадексом А-25. Содержание нейраминовой кислоты во всей пробе определяли периодат-резорциновым методом [3]. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента, сравнивая с калибровочной кривой, выражали в мг %.

Результаты и обсуждение. Как показали результаты исследования у животных с отеком головного мозга наблюдается уменьшение содержания как общей, так и липидсвязанной сиаловой кислот, что, по всей видимости, связано с увеличением активности фермента нейраминидазы, которая отщепляет N-ацетилнейраминоновую кислоту из гликопротеинов и гликолипидов (рис.1).

Отщепление N-ацетилнейраминовой кислоты из гликолипидов и гликопротеинов происходит ферментом нейраминидазой (сиалидазой). Устраняя нейраминоновую кислоту из компонентов клеточных мембран, этот фермент изменяет структуру и общий заряд мембраны. Исследования последних лет показывают, что именно нейраминидаза, ассоциированная с плазматической мембраной клетки, имеет важное

физиологическое значение для клеток нервной системы человека [7]. Нейраминидаза, изменяя качественный и количественный состав гликопротеинов и ганглиозидов в мембранах клеток, модулирует активность киназ, и, следовательно, реакцию клетки на определенные сигналы. Некоторые авторы предполагают, что нейраминидаза, локализованная в плазматической мембране, способна прямо активировать рецептор к тирозинкиназе А, отщепляя остаток сиаловой кислоты [10].

В головном мозге контрольных животных общее содержание N-ацетилнейраминовой кислоты составляло 85,3 мг%, а с отеком мозга 64,7 мг%; аналогичная картина наблюдалась и при изучении липидсвязанной нейраминовой кислоты, где показатели в контроле составили 75,8 мг %, а у животных с отеком мозга 63,2 мг %. Полученные данные показывают, что в головном мозге с отеком происходит десилирование гликопротеинов и гликолипидов. В сыворотке крови наблюдается противоположная картина: увеличивается как общая, так и липидсвязанная нейраминовая кислота (рис.1).



ОНК - общая нейраминовая кислота

ЛСНК – липидсвязанная нейраминовая кислота

Рис. 1. Содержание общей и липидсвязанной нейраминовой кислоты в головном мозге и в сыворотке крови крыс с экспериментальным отеком (мг %). (n=7), * - $p < 0,01$

В последнее время появились данные о том, что повышение уровня нейраминовых кислот в биологических жидкостях отражает процессы разрушения мембранных структур мозговой ткани [5]. В связи с этим содержание N-ацетилнейраминовой кислоты может быть использовано в качестве биохимического маркера апоптоза и некротического повреждения [1]. В некоторых работах показано повышение содержания N-ацетилнейраминовой кислоты в цереброспинальной жидкости больных с инсультами, высокое содержание N-ацетилнейраминовой кислоты в 1-е сутки коррелирует с тяжестью состояния больных и обширностью ишемизированной зоны мозга [10] и отражает интенсивность процессов разрушения нейрональных мембран, сопровождающих некротическое повреждение.

Таким образом, результаты проведенных нами исследований свидетельствуют о том, что в головном мозге животных с отеком наблюдается распад углеводсодержащих молекул (гликопротеидов и гликолипидов) и увеличение их в сыворотке крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга, М., Медицина, 2001.
2. Квитницкий Ю.Н. Современное учение об отеке и набухании головного мозга, Киев, Здоровье, 1988.
3. Методы биохимических исследований, Л., из-во Ленинградского университета, 1982.
4. 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.
5. Пинелис В.Г., Сорокина Е.Г., Реутов В.П. N-ацетилнейраминаовая кислота в механизмах ишемии мозга. Докл. РАН, 352, 2, 259-261, 1997.
6. Abhishek Patro, Sureswar Mohanty M. Ch., Pathophysiology and treatment of traumatic brain edema Indian Journal of Neurotrauma (IJNT), 6, 1, pp. 11-16, 2009.
7. Monti E., Bassi M.T., Papini N. et al. Identification and expression of NEU3, a novel human sialidase associated to the plasma membrane, Biochem., 349, p. 343-351, 2000.
8. Rosenberg G.A. Ischemic brain edema Prog Cardiovasc Dis, 42, 3, 209-216, 1999.
9. Svennerholm L., In: Methods in carbohydrate chemistry, New York, 6, p. 454-474, 1972.
10. Woronovicz A., Amith S.R., De Vusser K. et al. Dependence of neurotrophic factor activation of Trk tyrosine kinase receptors on cellular sialidase. Glycobiology. 17, 1, p. 10-24, 2007.

Поступила 06.09.2011



Биол. журн. Армении, 2 (64), 2012

ФАГОЦИТОЗ МОНОЦИТАМИ *ESCHERICHIA COLI* ПОСЛЕ РЕЗЕКЦИИ ПЕЧЕНИ И ГИПЕРБАРИЧЕСКОЙ ОКСИГЕНАЦИИ

П.Н. САВИЛОВ

Тамбовский государственный технический университет,
Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко
p_savilov@rambler.ru

В опытах на 82 беспородных белых крысах (самках) изучали влияние резекции печени (РП, 15-20% массы органа) и её сочетания с гипербарической оксигенацией (ГБО, 3 ата, 50 мин, 1 сеанс в сутки, трёхкратно) на способность нейтрофилов артериальной (аорта) и венозной (портальная вена и печёночные вены) крови поглощать *E. coli* (*Escherichia coli*). Установлено, что ГБО устраняет ингибирующее влияние РП на способность печени стимулировать поглощение моноцитами *E.coli*. К 11-м суткам постгипероксического периода данное стимулирующее влияние оперированной печени усиливается. ГБО устраняет вызываемое операцией увеличение интенсивности поглощения *E.coli* в крови моноцитами. Одновременно с этим предотвращает задержку в оперированной печени моноцитов, активно фагоцитирующих *E.coli*.

Гипероксия – печень – резекция – моноциты – кишечная палочка – фагоцитоз

Յետազոտվել է լյարդի ռեզեկցման (ԼՌ, օրգանի զանգվածի 15-20 %-ը) ազդեցությունը, ինչպես նաև դրա զուգակցումը հիպերբարիկ օքսիգենացման հետ (ՀԲՕ, 3 մթթ, 50 ր, օրական 1 սեսանս, երեք անգամ) զարկերակային (արտոա) և երակային (պորտալ երակ և լյարդային երակներ) արյան նեյտրոֆիլների՝ *E. coli* (*Escherichia coli*) կլանման ունակության վրա: Պարզվել է, որ ՀԲՕ-ն վերացնում է ԼՌ արգելակող ազդեցությունը լյարդի՝ մոնոցիտների կողմից *E.coli*-ի կլանման խթանման ունակության վրա: Վիրահատված լյարդի այդ խթանող ազդեցությունը ավելանում է հետիպերօքսիդացվող ժամանակահատվածի 11-րդ օրը: ՀԲՕ-ն վերացնում է վիրահատության արդյունքում արյան մեջ մոնոցիտների կողմից *E.coli*-ի կլանման ինտենսիվության ավելացումը: Միաժամանակ ՀԲՕ-ն կանխում է վիրահատված լյարդում *E.coli*-ն ակտիվ ֆագոցիտող մոնոցիտների հապաղումը:

Հիպերօքսիա – լյարդ – ռեզեկցում – մոնոցիտներ – աղիքային ցուպիկ – ֆագոցիտոզ

Experiments were conducted on 82 outbred female albino rats exposed to liver resection (LR, 15-25% of the organ mass) and hyperbaric oxygenation (HBO), at 3 ata, for 50 min, three times per days after surgery. The capacities of monocytes of arterial (aorta) and venous (v. porta and v. hepatica) blood to ingest and digest *E.coli* were investigated. It is established that HBO eliminates the inhibitory effect of RP on the liver ability to stimulate hepatic uptake by monocytes *E.coli*. By the 11th day of the posthypen oxygenation period stimulating effect of the operated liver has been increased. HBO eliminates, increasing of the intensity of absorption in the blood monocytes *E.coli* caused by the operation. At the same time HBO prevents the monocytes delay in the operated liver, actively phagocytes *E.coli*.

Hyperoxia – liver resection – monocytes – E.coli – phagocytosis

Предыдущими исследованиями было установлено, что удаление небольшого объёма (15-20% массы органа) печени нарушает стимулирующее влияние данного органа на способность нейтрофилов поглощать *E. coli* [10], являющуюся естественным симбионтом организма млекопитающих. Между тем аналогичная способность интактной печени обнаружена и в отношении моноцитов [8], которые, как известно [5], выйдя в ткани из сосудистого русла, трансформируются в макрофаги. Между тем антикоагуляционная активность моноцитов после резекции печени (РП) в настоящее время остаётся не изученной.

Известно, что одним из регуляторов нарушения антимикробной защиты оперированного организма является гипербарическая оксигенация [1,9]. При этом установлена её способность восстанавливать нарушаемую РП способность печени “обогащать” кровь нейтрофилами, активно фагоцитирующими *E. coli* [10]. Что касается влияния ГБО на способность оперированной печени изменять антикоагуляционную активность моноцитов, то данный вопрос остаётся открытым.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния РП и её сочетания с ГБО на способность моноцитов поглощать *E. coli* в притекающей и оттекающей от печени крови.

Материал и методика. Опыты проведены на 82 беспородных белых крысах (самках) массой 170-220 г. Резекцию печени проводили под эфирным наркозом, удаляя электроножом 15-20% массы органа. Операционное поле очищали от шерсти и обрабатывали раствором хлорамина. Хирургический инструментарий подвергали стерилизации по общепринятой методике. После резекции печени и контроля гемостаза ушивали брюшную стенку кетгутом. На кожу накладывали П-образные шёлковые швы. Антибиотики и антисептики парентерально не вводились. Частота нагноений составила 2,5 %. Животные с послеоперационными нагноениями из опыта исключались. ГБО проводили медицинским кислородом в первые трое суток после операции в режиме 3 ата, 50 мин, по 1 сеансу в сутки. Первый сеанс начинали через 4-8, второй и третий, соответственно, 24 и 48 ч после операции. Все животные были разделены на 10 серий опытов: 1 серия-интактные животные (норма); 2,3,4 серии животные, исследованные соответственно на 3-и, 7-е и 14-е сут после лапаротомии (“ложнооперированные”); 5, 6, 7 серии – животные, исследованные соответственно на 3-и, 7-е и 14-е сут после РП. Эти серии служили контролем для выявления “чистого” эффекта ГБО. 8,9 и 10 серии – животные, исследованные на 3-и, 7-е и 14-е сутки послеоперационного (1-е, 4-е и 11-е сут постгипероксического) периода соответственно. Животных выводили из опыта декапитацией на фоне этинального наркоза (40 мг/кг массы). Объектами исследования служили моноциты артериальной (АК) и венозной крови: кровь воротной вены (КВВ) и кровь печёчных вен (КПВ).

Артериальную кровь получали пункцией аорты, венозную – соответственно пункциями портальной вены и печёчных вен. Получение крови из печёчных вен осуществляли по разработанной ранее методике [6]. Кровь забирали в следующей последовательности: печёчные вены →портальная вена→аорта. Фагоцитарную активность и моноцитов определяли по их способности поглощать убитые нагреванием микробы [13]. Для этого 0,1 мл гепаринизированной крови инкубировали с 0,05мл моновзвеси *E. coli* (штамм К-12), убитой нагреванием, в концентрации 500 млн микробных тел/мл и 0,005 мл физиологического раствора в течение 30 мин при 37°C, встряхивая через каждые 5 мин. По завершению инкубации пробирки на 2 мин помещали в ледяную воду, далее центрифугировали в течение 5 мин при 1500 об/мин. Плазму удаляли микродозатором, а из верхнего слоя готовили мазки, которые окрашивали по Романовскому. Подсчёт фагоцитированных микроорганизмов осуществляли под микроскопом “БИОЛАМ” ув.100, ок. 12. Определяли следующие показатели: фагоцитарное число моноцитов (ФЧм) – процент клеток, поглотивших тест-микроб за единицу времени. ФЧ рассчитывали на 50 моноцитов. Одновременно рассчитывали фагоцитарный индекс моноцитов (ФИм) – среднее число тест- микробов, поглощённых одной клеткой. Это показатель характеризует интенсивность поглощения микроба клеткой. Результаты обработаны статистически с учётом непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни. Результаты считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Исследованиями установлено, что у крыс в норме ФИм к *E. coli* в КПВ достоверно превышал аналогичный показатель в АК и КВВ соответственно на 39% и 33% (табл. 1). Это указывает на способность интактной печени “обогащать” кровь моноцитами, активно фагоцитирующими кишечную палочку. В свою очередь ФИм к *E. coli* в КВВ составил $4,31 \pm 0,43$, достоверно превысив на 34% аналогичный показатель в АК ($3,19 \pm 0,15$). В КПВ величина ФИм составила $3,64 \pm 0,25$, достоверно не отличаясь от аналогичного показателя моноцитов, находящихся в артериальной крови и крови печёночных вен. Из этого следует, что при прохождении крови по сосудистому руслу органов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) увеличивается интенсивность поглощения моноцитами *E. coli*. В свою очередь часть моноцитов крови воротной вены, интенсивно поглощающих *E. coli*, задерживается в интактной печени. Примечательно, но в отношении нейтрофилов данного явления обнаружено не было [10].

Таблица 1. Динамика фагоцитарного числа моноцитов по отношению к *E. coli* в крови после резекции печени и гипербарической оксигенации ($M \pm m$)

Сроки послеоперационного (постгипероксического) периода		Кровеносные сосуды		
		aorta	v. porta	v. hepatica
Норма (n=10)		$28,7 \pm 2,24$	$30,3 \pm 2,39$	$40,0 \pm 2,63$
3(1) сутки	ЛО (n=9)	$21,9 \pm 1,21^*$	$30,9 \pm 1,41^{\blacktriangle}$	$37,8 \pm 3,96^{\blacktriangle}$
	РП (n=9)	$29,8 \pm 3,44^{\blacklozenge}$	$26,1 \pm 3,06$	$27,8 \pm 2,7^*$
	РП+ГБО (n=10)	$26,7 \pm 1,67^{\bullet}$	$31,4 \pm 2,95$	$40,0 \pm 3,8^{\blacktriangle\bullet}$
7(4) сутки	ЛО (n=10)	$30,1 \pm 2,51$	$34,6 \pm 2,16$	$50,8 \pm 2,1^{\blacktriangle\blacktriangledown}$
	РП (n=9)	$33,0 \pm 1,45$	$33,2 \pm 1,96$	$30,2 \pm 1,9^{\blacklozenge*}$
	РП+ГБО (n=8)	$34,4 \pm 1,97$	$31,6 \pm 2,22$	$48,3 \pm 4,9^{\blacktriangle\blacktriangledown\bullet}$
14(11) сутки	ЛО (n=10)	$24,9 \pm 1,81$	$28,3 \pm 1,22$	$37,5 \pm 2,8^{\blacktriangle\blacktriangledown}$
	РП (n=8)	$30,0 \pm 2,2$	$33,4 \pm 2,7$	$31,1 \pm 2,87^*$
	РП+ГБО (n=8)	$32,8 \pm 1,85^{\blacklozenge}$	$34,5 \pm 3,58$	$51,3 \pm 1,4^{\blacktriangle\blacktriangledown\bullet}$

Примечание. ЛО – “ложнооперированные” животные; РП- резекция печени, РП+ГБО – животные с резекцией печени и гипербарической оксигенацией, n – число животных по сериям опытов; * ($p < 0,05$) – достоверность различий по сравнению с нормой; $\blacktriangle$ $\blacktriangledown$ ($p < 0,05$) – с аналогичным показателем артериальной и портальной крови данной серии соответственно; $\blacklozenge$ и $\bullet$ ($p < 0,05$) – с аналогичным показателем послеоперационного периода “ложнооперированных” животных и животных с РП соответственно.

На 3-и сутки после лапаротомии отмечено снижение на 24 % ФЧм к *E. coli* в АК, в результате чего тона становилась ниже аналогичного показателя в КВВ и КПВ соответственно на 29% и 42% (табл.). Это сопровождалось увеличением относительно нормы ФИм к *E. coli* в КПВ на 46% (рис.1). На 7-е сутки полностью восстанавливалось характерное для нормы (табл. 1) преобладание ФЧм к *E. coli* в КПВ над аналогичным показателем в АК и КВВ, сохранявшееся к 14-м суткам после лапаротомии. Что касается ФИм, то у “ложнооперированных” крыс к 14-м суткам после лапаротомии отмечено его избирательное увеличение (на 42%) в АК по сравнению с нормой (рис.1 А), тогда как в других сосудах он оставался в её пределах (рис. 1 Б и 1 В). При этом ФИм в АК на 14-е сутки после лапаротомии достоверно превышал на 41% аналогичный показатель в КВВ.

Следовательно, вызывая кратковременное снижение содержания в АК моноцитов, активно поглощающих *E. coli*, лапаротомия одновременно стимулирует поступление из печени в кровоток моноцитов, интенсивно поглощающих этот микроб. Одновременно с этим создаются условия для отсроченной (на 14-е сутки) задержки в тканях ЖКТ моноцитов, интенсивно поглощающих *E. coli*.

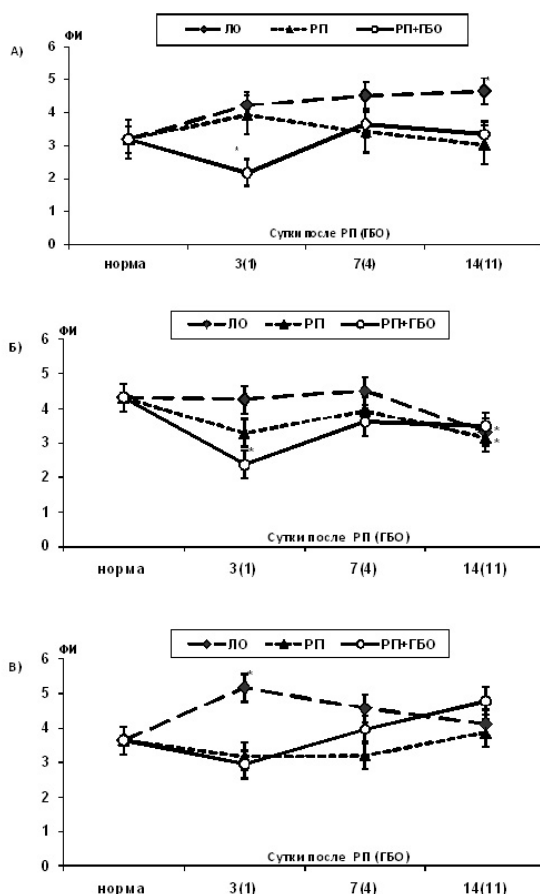


Рис.1. Динамика фагоцитарного индекса нейтрофилов в артериальной крови (А), крови воротной вены (Б) и крови печёночных вен (В) после резекции печени и гипербарической оксигенации.

По оси абсцисс- сутки послеоперационного (постгипероксического) периода. По оси ординат – абсолютная величина ФИ. ЛО- “ложнооперированные” животные, РП- резекция печени, ГБО- гипербарическая оксигенация, * ($p < 0,05$) по сравнению с нормой.

Дополнение лапаротомии РП не вызывало достоверных изменений по сравнению с нормой ФЧм к *E. coli* в артериальной крови и крови портальной вены на протяжении всего периода наблюдений (табл.1). По сравнению с “ложнооперированными” животными обнаружено его увеличение только в АК на 3-и и 14-е сут после операции соответственно на 36% и 20% (табл.1). При этом на 3-и сутки после РП исчезало характерное для аналогичного периода у “ложнооперированных” крыс преобладание ФЧм к *E. coli* в КВВ над аналогичным показателем в АК (табл.1). Вместе с тем РП вызывала снижение относительно нормы ФЧм к *E. coli* в КПВ на 3-и, 7-е и 14-е сут послеоперационного периода соответственно на 30%, 25% и 22% (табл.1). В результате оно достоверно не отличалось от аналогичного показателя моноцитов в АК и КВВ. Как видно из рис. 1 Б и 1 В, на 3-и сут после РП происходит снижение в КВВ и КВВ интенсивности поглощения моноцитами КПВ

E. coli, тогда как в АК данное явление носило отсроченный характер и наблюдалось на 14-е сут исследования (рис.1 А). Из этого следует, что РП у здоровых крыс вызывает нарушение способности печени “обогащать” кровь моноцитами, активно фагоцитирующими *E. coli*, которая не восстанавливается к 14-м сут послеоперационного периода. Одновременно с этим РП устраняет запускаемые лапаротомией механизмы, направленные на увеличение содержания в крови моноцитов, с высокой интенсивностью поглощения кишечной палочки.

В условиях гипероксии (3-и сут после РП) ФЧм к *E. coli* в КПВ на 43% превышал аналогичный показатель животных с РП без ГБО, достигая нормальной величины (табл.1). При этом относительно АК животных данной серии его превышение составило 50% (табл.1). Вместе с тем отмечена способность гипербарического кислорода предотвращать вызываемую лапаротомией стимуляцию поглощения *E. coli* моноцитами крови (рис.1). При этом, если в КВВ гипербарический кислород усиливал ингибирующее влияние РП на данный процесс (рис.1 Б), в КПВ он сохранял его (рис.1 В), тогда как в АК предотвращение увеличения ФИМ в условиях гипероксии было связано только с ингибирующим эффектом ГБО (рис.1 А). Из этого следует, что в условиях ГБО оставшаяся после резекции часть печени восстанавливает свою способность обогащать кровь моноцитами, активно фагоцитирующими *E. coli*. Это в свою очередь устраняет необходимость компенсаторного увеличения интенсивности поглощения *E. coli* моноцитами, находящимися в крови. Прекращение гипероксического воздействия на организм не приводило к реставрации нарушений фагоцитарной активности моноцитов, вызванных РП. Наоборот, на 11-е сутки постгипероксического периода отмечено усиление способности оперированной печени обогащать кровь моноцитами, активно фагоцитирующими *E. coli*. В результате ФЧм к *E. coli* в КПВ превышало норму в указанный период наблюдений на 28%, тогда как относительно АК и КВВ своей серии оно было повышено соответственно на 56% и 49% (табл.1). Что касается ингибирующего влияния ГБО на интенсивность поглощения *E. coli* моноцитами крови, то оно сохранялось на 11-е сутки постгипероксического периода только в АК (рис.1 А).

Известно, что процесс фагоцитоза начинается после взаимодействия опсонизированного или неопсонизированного микроба с одним из рецепторов, расположенных на мембране фагоцита [11,13]. Поэтому обнаруженное нами увеличение способности интактной печени увеличивать содержание в крови моноцитов, активно фагоцитирующих *E. coli*, можно связать с увеличением содержания рецепторов на их мембране во время прохождения по печёночным синусоидам. При этом наиболее вероятным механизмом этого явления следует рассматривать инкорпорацию на мембране “неактивных” моноцитов соответствующих белков-рецепторов путём её обогащения ими “*de novo*”. Тем более, что установлена способность макрофагов инкорпорировать после стимуляции на своей поверхности белок C_{1q} , который может выступать в качестве Fc-рецептора [14], играющего ведущую роль в аттракции микроба на мембране фагоцита [11]. Следует ожидать, что в качестве стимулятора антиколической активности моноцитов при их прохождении через печень будут выступать клетки Купфера, являющиеся, как известно [4], мигрировавшими из крови в околасинусоидальное пространство моноцитами, трансформировавшимися в нём в тканевые макрофаги. Нами обнаружена способность органов ЖКТ стимулировать интенсивность поглощения моноцитами кишечной палочки. Одним из механизмов этого следует рассматривать выделение находящихся в стенке органов ЖКТ клеток иммунной системы веществ, вызывающих избирательную экспрессию на поверхности мембран моноцитов рецепторов, способных взаимодействовать с *E. coli*. В частности, установлена прямая зависимость интенсивности поглощения моноцитами патологических иммунных комплексов от

экспрессии на поверхности их мембран С3-рецептора [14]. Повышая интенсивность поглощения кишечной палочки моноцитами органы ЖКТ, вероятно, регулируют не только степень физиологической портальной колибактериемии, но и презентацию антигена *E. coli* этими клетками.

Анализ полученных результатов показывает, что нарушение способности оперированной печени увеличивать количество в крови активных моноцитов сопровождается кратковременной (на 3-и сут после операции) ретенционной задержкой в оставшейся после резекции части органа моноцитов, активно фагоцитирующих *E. coli*. Если учесть, что аналогичные изменения выявлены и в отношении нейтрофилов [10], то можно говорить о формировании в печёночных синусоидах оставшейся после резекции части печени своеобразного нейтрофильно-моноцитарного антибактериального фильтра. Он будет компенсировать обнаруженное после РП снижение поглотительной способности клеток Купфера [3]. Обнаруженное в эксперименте снижение ФИм к *E. coli* в КВВ после РП при отсутствии изменений ФЧм позволяет говорить о преимущественно повышенном выходе из сосудистого русла в ткани кишечника моноцитов с высокой интенсивностью поглощения кишечной палочки. Вероятно, таким образом ограничивается снижение антимикробного потенциала данного отдела пищеварительного тракта, вызываемое повышением проницаемости его гистогематического после РП [12]. Применение ГБО после РП показало, что в условиях гипероксии не только восстанавливается нарушаемая операцией способность печени “обогащать” кровь моноцитами, активно фагоцитирующими *E. coli*, но и закладываются механизмы, вызывающие её отсроченную активацию на 11-е сут постгипероксического периода. Можно полагать, что это связано со способностью гипербарического кислорода восстанавливать стимулирующее влияние клеток Купфера на антиколибактериальную активность моноцитов крови. Вместе с тем устранение в условиях ГБО стимулирующего влияния операции на интенсивность поглощения *E. coli* моноцитами в крови позволяет говорить об устранении повышенной в гипероксических условиях экспрессии рецепторов на поверхности мембраны моноцитов.

Применение ГБО устраняет развивающуюся в ответ на РП ретенцию в оставшейся после резекции части органа моноцитов, активно фагоцитирующих *E. coli*. С одной стороны, это связано со способностью ГБО купировать развитие воспаления в повреждённой ткани [2], с другой – регулировать в ней тканевую кровоток [7]. В результате снижается выход активно фагоцитирующих моноцитов из крови в окологематическое пространство. Можно полагать, что это один из механизмов реализации на 11-е сут постгипероксического периода стимулирующего влияния ГБО на поступление из оперированной печени в кровь моноцитов, активно поглощающих *E. coli*.

Таким образом, применение курса ГБО в первые трое суток после РП устраняет ингибирующее влияние операции на способность печени стимулировать антиколибактериальную активность моноцитов. При этом гипербарический кислород регулирует компенсаторно-приспособительные реакции организма, возникающие в ответ на данное нарушение. Прекращение гипероксического воздействия на организм сопровождается усилением лечебного эффекта ГБО к 11-м суткам постгипероксического периода.

ЛИТЕРАТУРА

1. Леонов А.Н. Гипероксия. Адаптация. Саногенез, Воронеж. Изд-во ВГМА, 2006.
2. Маянский Д.Н., Щербаков В.И., Калинина Т.Г. Зависимость моноцитарной инфильтрации печени от пролиферации гепатоцитов. Бюллетень эксперим. биологии и медицины, 5, 621-623, 1984.

3. *Маянский Д.Н.* Система фагоцитоза: методологические проблемы. Патологическая физиология и экспериментальная терапия, 2, 84-87, 1986.
4. *Плющ И.В., Цырендоржиев Д.Д., Маянский Д.Н.* Реакция лёгочных фагоцитов после частичной гепатэктомии. Бюлл. эксперим. биол. и медицины, 5, 477-479, 1995.
5. *Савилов П.Н., Кузьмина Н.Н., Дьячкова С.Я.* Бактерицидная активность крови после частичной гепатэктомии интактной и патологически изменённой печени. Вестник ВГУ. Серия Проблемы химии, биологии, Воронеж, 1, 41-43, 2001.
6. *Савилов П.Н.* Кислородный режим оперированной печени после гипероксии. Бюллетень гипербар. биол. и медицины, 9, 1-4, 5-11, 2001.
7. *Савилов П.Н.* Фагоцитозрегулирующая функция печени. Росс. физиол. журнал, 90, 8, Приложение Ч.2: 121, 2004.
8. *Савилов П.Н., Дьячкова С.Я.* Иммунобиологические механизмы гипербарической кислородной терапии. Иммунология Урала, Оренбург, 1, 5, 66-67, 2006.
9. *Савилов П.Н.* Влияние резекции печени и гипербарической оксигенации на фагоцитоз нейтрофилами *E.coli*. Биолог. журн. Армении, 61, 1, 11-17, 2009.
10. *Фрейндлин И.С.* Система мононуклеарных фагоцитов. М.: Медицина, 1984.
11. *Ходжанов С.А.* Динамика приспособительных процессов перестройки кровеносных сосудов и слизистой оболочки подвздошной и толстой кишок после резекции печени: Дисс... канд. мед. наук. ТашМИ, Ташкент, 1988.
12. *Учитель И.Я.* Макрофаги в иммунитете. М.: Медицина, 1978.
13. *Yagawa K., Onone K., Aida K.* Structural studies of Fc receptor. I. Binding properties solubilization and partial characterization of Fc receptors of macrophages. J.Immunol., 122, 1, 366-373, 1979.

Поступила 09.01.2012



Биол. журн. Армении, 2 (64), 2012

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ У ЖИВОТНЫХ ПРИ ГИПОКИНЕЗИИ

А.Г. ГРИГОРЯН

Государственный аграрный университет Армении
achonagrigoryan@mail.ru

В условиях ограниченной двигательной активности – гипокинезии – в организме животных изучались изменения активности одного из ключевых ферментов минерального обмена – щелочной фосфатазы. Выявлена роль адаптогенного препарата экстракта элеутерококка в снятии или смягчении негативных последствий, возникающих в условиях гипокинезии.

*Гипокинезия – щелочная фосфатаза – минеральный обмен –
экстракт элеутерококка*

Ուսումնասիրվել են հանքային փոխանակության հիմնական ցուցանիշներից մեկի՝ հիմնային ֆոսֆատազ ֆերմենտի ակտիվության փոփոխությունները և էլեկտրոկոկկի մզվածքի պատրաստուկի դերը սակավաշարժության հետևանքով առաջացած բացասական երևույթների մեղմացման կամ չեզոքացման գործում:

*Հիպոկինեզիա – հիմնային ֆոսֆատազ – հանքային փոխանակություն –
Էլեուտերոկոկկի մզվածք*

Decreased movement of hypokinesia in animals organism could produce physiological and biochemical significant changes which impacts on animals productivity.

The present research was mostly based on one of the mineral exchange index, namely base phosphatase enzyme. Activation changes and commutation of these changes are studied by using of the adaptogenic preparations.

Hypokinesia – alkaline phosphatase – mineral metabolism – eleutherococcus extract

Автоматизация и механизация в сельском хозяйстве привели к созданию крупных животноводческих комплексов, в которых животные находятся на сравнительно малых площадях. Это повлекло за собой ограничение двигательной активности, снижение силы сокращения мышц, именуемое гипокинезией.

У сельскохозяйственных животных длительное ясельное содержание также ограничивает двигательную активность, они весь указанный период находятся в состоянии гипокинезии, что и является мощным этиологическим фактором для появления биохимических и физиологических нарушений и в конечном итоге негативно влияет на их продуктивность животных, а также на рост и развитие молодняка и выявляет ряд других нежелательных последствий.

Литературные данные свидетельствуют о том, что у человека и животных длительное ограничение двигательной активности ведет к таким патологическим изменениям как атрофия скелетной мускулатуры, сморщивание мышечных волокон, смягчение костей – остеомалации [1, 2].

При гипокинезии снижается импульсация с многочисленных нервных окончаний, что может привести к ряду трофических изменений в виде ослабления кровоснабжения, а также интенсивности окислительных процессов, белкового и минерального обмена. Длительное ограничение мышечной активности вызывает в костной и мышечной системе комплексные изменения биохимических процессов, на которых основано сохранение и постоянное динамическое поддержание нормальной структуры костной ткани. Перестройка обменных процессов в организме животных при ограничении двигательной активности приводит к изменению также обмена минеральных веществ, одним из показателей которого является степень активности щелочной фосфатазы.

Целью настоящей работы является изучение динамики активности щелочной фосфатазы. Известно, что щелочная фосфатаза принимает непосредственное участие в образовании волокнистых фибриллярных белков, в частности коллагена ткани, а также в переносе иона фосфорной кислоты (PO_4^-) от эфира к органическому основанию костной ткани. Активность щелочной фосфатазы зависит от состояния остеобластов.

Материал и методика. Объектом исследования были белые беспородные крысы – самцы с исходной массой 120-160 г. Животные подопытных и контрольных групп подбирались по принципу аналогов. Подопытные крысы помещались в специально нами сконструированные клетки, ограничивающие их двигательную активность, размером 140 x 60 x 60 мм. Кормили и поили животных из специальных кормушек и поилок, разработанных в научно-исследовательской лаборатории экспериментально-биологических моделей РАМН. Контрольные животные находились в обычных условиях вивария. Длительность гипокинезии в этой серии составила 45 дней. Кровь для исследований брали в динамике как до гипокинезии, так и на 5-е, 15-е, 25-, 35-е, 45-е сут гипокинезии.

Дальнейшие исследования были проведены в Егвардском промышленном комплексе по откорму и выращиванию молодняка крупного рогатого скота. Исследовались 60 бычков, из коих 40 были подопытные, а 20 – контрольные. В этой серии был опробован адаптогенный препарат – экстракт элеутерококка.

Контрольные животные имели ежедневный выгул. Животные подопытных и контрольных групп содержались в условиях, соответствующих технологии выращивания и откорма, практикуемых в данном хозяйстве. С целью профилактики явлений, возникающих при гипокинезии, подопытным животным вводили экстракт элеутерококка в дозе 0.2 мг/кг внутрь, в течение 60 сут, через день. Дозы были определены в предыдущих наших исследованиях.

Подопытные животные были разделены на три группы. В каждой группе находились по 20 голов бычков 20-дневного возраста с исходной массой 33-35 кг. Животные 1-й группы находились в обычных условиях их содержания и получали препарат в вышеупомянутые сроки в дозе 0.2 мг/кг, а бычки 2-й группы находились в аналогичных условиях, но не получали препарат. Третья группа была контрольной и содержалась в более просторных клетках. Кровь для исследований у бычков брали как до ограничения двигательной активности, так и на 5-е, 10-е, 15-е, 30-е, 45-е, 60-е сут гипокинезии.

Активность щелочной фосфатазы как показателя, характеризующего состояние костной системы, изучали методом Бессея, Лоури, Брока, принцип которого заключается в том, что р-нитрофенилфосфат натрия гидролизует ферментом сыворотки крови с образованием р-нитрофенола, дающего в щелочной среде желтое окрашивание. Интенсивность окраски пропорциональна активности фермента.

Результаты и обсуждение. По нашим наблюдениям, у крыс повышение активности щелочной фосфатазы происходит начиная с 15-х сут ограничения двигательной активности. В этот срок активность щелочной фосфатазы у подопытных животных (6.71 ± 0.57) превышала таковую у контрольных животных (5.0 ± 0.56) на 34.2%. В дальнейшем активность данного фермента постепенно повышается. Так, на 25-е сут гипокинезии у подопытных животных (8.12 ± 0.94) на 49.8% по отношению к контролю (5.42 ± 0.61), на 35-е сут на 101.1% (соответственно 10.46 ± 1.05 ; у контрольных 5.20 ± 0.50), а на 45-е сут уже на 106% (11.56 ± 1.02 ; контроль 5.62 ± 0.59).

Таблица 1. Изучение активности щелочной фосфатазы у белых крыс при 45-суточной гипокинезии, $M \pm m$, $n_0=8$, $n_k=6$

Исследуемые показатели	Сроки исследования, сут					
	фон	5	15	25	35	45
Опыт	5.62 ± 0.33	6.25 ± 0.57	$6.71 \pm 0.57^*$	$8.12 \pm 0.94^*$	$10.46 \pm 1.05^*$	$11.56 \pm 1.02^*$
Контроль	5.83 ± 0.41	5.41 ± 0.42	5.0 ± 0.56	5.42 ± 0.61	5.20 ± 0.50	5.62 ± 0.59

*Примечание $p \leq 0.05$

Таким образом, очевидно, что в процессе длительной гипокинезии в сыворотке крыс происходит повышение активности щелочной фосфатазы, что свидетельствует о происходящих сдвигах в минеральном обмене организма.

Можно допустить, что сдвиги в минеральном обмене могут привести к изменениям в опорно-двигательной системе, что в конечном итоге приводит к снижению минеральной насыщенности костной системы, ее декальцинации и активизации резорбтивных процессов.

Дальнейшие исследования, проведенные в промышленном комплексе по откорму и выращиванию молодняка крупного рогатого скота, дали следующие результаты (табл. 2).

Таблица 1. Динамика активности щелочной фосфатазы (ммоль/л) у бычков 20-дневного возраста при промышленном способе выращивания на фоне введения экстракта элеутерококка, $M \pm m$, $n_1=6$, $n_2=6$, $n_3=6$

Группа животных	Сроки исследования, сут						
	фон	5	10	15	30	45	60
1	5.83 ± 0.40	6.04 ± 0.6	5.83 ± 0.6	5.67 ± 0.52	5.96 ± 0.4	6.8 ± 0.8	5.42 ± 0.6
2	5.83 ± 0.60	5.60 ± 0.4	$6.25 \pm 0.4^*$	5.62 ± 0.60	5.62 ± 0.2	6.9 ± 0.8	7.3 ± 0.2
3	5.54 ± 0.52	4.80 ± 0.4	4.80 ± 0.4	5.62 ± 0.60	5.20 ± 0.4	5.20 ± 0.4	5.0 ± 0.4

*Примечание $p \leq 0.05$

Начиная с 10-х сут эксперимента мы получили достоверные изменения активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови подопытных животных. Так, в этот срок у животных 1-й подопытной группы активность щелочной фосфатазы (5.83 ± 0.6) оказалась повышенной на 21.4%, а во второй группе (6.25 ± 0.4) на 30.2% по сравнению с контролем (4.8 ± 0.4). На 30-е сут гипокинезии активность данного фермента была повышена у животных обеих групп соответственно на 14.6 и 8.1 %. На 45-е сут исследований активность щелочной фосфатазы у животных 1-й группы, получавших препарат, (6.8 ± 0.8) была повышена на 30.8 %, а у животных 2-й группы, не получавших препарат (6.9 ± 0.8), на 33% по сравнению с контролем (5.2 ± 0.4). На 60-е сут полученные у животных 1-й подопытной группы, не отличались исследований дан-

ные, от таковых у контрольных животных, тогда как у животных, не получавших препарат (7.3 ± 0.2), активность щелочной фосфатазы была выше по сравнению с контролем (5.0 ± 0.4) на 46% (табл.2).

Как видно из приведенных данных, к концу эксперимента активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови у бычков, получавших экстракт элеутерококка, нормализуется, а у бычков, не получавших препарат, активность ее оставалась повышенной.

Таким образом, на основании полученных данных, можно сделать вывод о том, что элеутерококк оказывает влияние на регуляцию активности щелочной фосфатазы, которая участвует в процессах гидролиза эфиров фосфорной кислоты. Комплексные изменения биохимических процессов в костной ткани, происходящие в условиях ограниченной двигательной активности, в конечном итоге оказывают влияние на рост и развитие животного организма, что приводит к снижению продуктивности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абзалов Р.А., Салихова Г.Г. Гипокинезия растущих в лаборатории крысят. Журнал эволюционной биохимии. XIX, 6, с. 604-605, 1983.
2. Коваленко Е.А. Патологические изменения при длительной гипокинезии. Космическая биология и авиакосмическая медицина. 10, 1. с. 3-15,
3. Коваленко Е.А., Гуровский Н.Н. Гипокинезия. М., Медицина, 320с., 1980.
4. Смирнов К.В. Пищеварение и гипокинезия. М., Медицина, 225с., 1990.

Поступила 15.11.2011



Биол. журн. Армении, 2 (64), 2012

ВЛИЯНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ И МИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ НА ДИНАМИКУ НАКОПЛЕНИЯ ПИТАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В ЯРОВОМ ЯЧМЕНЕ И ИХ ВЫНОС С УРОЖАЕМ

М.А. ГАЛСТЯН, С.А. ГРИГОРЯН, М.С. МАРКОСЯН

Государственный аграрный университет РА
Galstyanmh@mail.ru

Приведены результаты исследований влияния различных органических и минеральных удобрений на динамику накопления питательных веществ в растениях ярового ячменя, возделываемого на горных выщелоченных черноземах, и на их вынос с урожаем.

Выяснено, что накопление питательных элементов и их вынос с урожаем обусловлены биологическими особенностями ярового ячменя, содержанием макроэлементов в почвах, внесением различных видов удобрений, урожайностью и экологическими условиями окружающей среды.

*Минеральные и органические удобрения – яровой ячмень – питательные
элементы – динамика накопления*

Բերված են գարնանացան գարու կողմից սննդատարրերի կուտակման դինամիկայի և տնտեսական բերքի հետ դրանց օտարման վրա հանքային և օրգանական տարրեր պարարտանյութերի ազդեցության վերաբերյալ կատարված ուսումնասիրությունների արդյունքները:

Պարզվել է, որ բարձր լեռնային գոտու լվացված սևահողերի վրա աճեցվող գարնանացան գարու կողմից սննդատարրերի կուտակումը և բերքի հետ դրանց օտարման (ելի) քանակությունը պայմանավորված է մշակաբույսի կենսաբանական առանձնահատկությամբ, հողի մակրոտարրերի պարունակությամբ, պարարտանյութերի տեսակով, բերքի քանակով և շրջակա միջավայրի էկոլոգիական պայմաններով:

*Հանքային և օրգանական պարարտանյութեր – գարնանացան գարի –
սննդատարրեր – կուտակման դինամիկա*

The results of studies of the influence of mineral and organic various fertilizers on the dynamics of nutrients accumulation of spring barley and their outflow with yield have been summarized.

The accumulation of nutrients of spring barley cultivated on washed chernozem of high mountainous region and their outflow with yield are conditioned by crop biological characteristics, content of soil macro nutrients, type of fertilizers, yield quantity and environment ecological conditions.

Mineral and organic fertilizers – spring barley – nutrients – accumulation dynamics

Органические и минеральные удобрения улучшают баланс питательных веществ в земледелии и способствуют повышению урожая сельскохозяйственных культур и качества получаемой продукции.

Ценность органических удобрений заключается в большом содержании питательных веществ и прежде всего азота, фосфора, калия и ряда микроэлементов. Поэтому при их применении пополняется запас подвижных питательных элементов в почве, что является важным условием улучшения круговорота макро- и микроэлементов в системе почва-растение. Значительная часть питательных веществ, взятая растениями из почвы, а также из внесенных минеральных удобрений, с кормами и подстилкой переходит в органические удобрения, а затем возвращается в почву.

В последние годы большое значение придается изучению динамики накопления и выноса питательных веществ с урожаем сельскохозяйственных культур. При наличии подобных данных становится возможным регулировать питание растений более целеустремленно, получать высокий и доброкачественный урожай, одновременно улучшать плодородие почв.

Многими авторами установлено, что около 35-60 % сухих веществ в растениях зерновых культур накапливается в течение первой половины вегетации (до колошения), а 40-60 % - во второй. На динамику накопления сухих веществ в значительной мере влияют содержание подвижных питательных элементов почв и климатические условия. На рост и развитие растений зерновых культур в определенной степени влияют также минеральные и органические удобрения и другие внешние факторы окружающей среды, в частности техногенная загрязненность почв [1, 2, 6, 7].

В почвенно-климатических условиях Армении вопросы динамики накопления питательных элементов и их выноса из почвы с урожаем различных сельскохозяйственных культур были изучены многими авторами [1 – 4]. Установлено, что вынос питательных элементов из почвы зависит от уровня урожайности, биологических особенностей возделываемого сорта, содержания подвижных питательных элементов в почве, а также климатических условий.

Вынос питательных элементов с урожаем ярового ячменя в почвенно-климатических условиях Апаранского региона до сих пор еще не изучен. Исходя из этого, мы изучали влияние органических и минеральных удобрений на динамику накопления питательных элементов в растениях ярового ячменя и их вынос с урожаем.

Материал и методика. С этой целью в условиях Апаранского региона (Апаранская община) в 2009-2011 гг. нами на горных выщелоченных черноземах проведены полевые опыты. Опыты закладывались на делянках площадью 100 м² с трехкратной повторностью. В качестве удобрений применялись аммиачная селитра (33 %), простой суперфосфат (18 %), 40 %-ная калийная соль, цеокарбофос (N – 16 %, P₂O₅ – 16 %), полуперепревший навоз, где N, P₂O₅, K₂O соответственно составляют 0,5; 0,26; 0,6 %, биогумус и птичий помет в брикетах, которые содержат 2,5 % N, 2,7 % P₂O₅ и 2,9 % K₂O.

Удобрения вносились вразброс при проведении культивации почвы. Опыты проводились с районированным сортом ярового ячменя “Нутанс”, с нормой посева 200 кг/га, посев проводился во второй декаде мая, уборка урожая – во второй половине сентября.

Почвы опытных участков имеют низкую обеспеченность легкогидролизуемым азотом, среднюю обеспеченность фосфором и высокую – калием.

Результаты и обсуждение. Приведенные в табл. 1 результаты исследований свидетельствуют о значительных колебаниях интенсивности накопления питательных элементов по фазам роста и развития ярового ячменя. Так, максимальное количество питательных элементов накапливается в фазе кущения.

Содержание азота в растениях контрольного варианта составляет 1,48 %, а в вариантах $N_{60}P_{60}K_{60}$; $N_{60}P_{60}$ (цеокарбофос), полуперепревший навоз 12 т/га, биогумус 2,4 т/га соответственно 2,0; 1,9; 1,8 и 2,1 %. Минеральные и органические удобрения также способствовали изменению содержания фосфора и калия. Так, в растениях контрольного варианта содержание фосфора составило 0,6, $N_{60}P_{60}K_{60}$ – 0,95, в вариантах $N_{60}P_{60}$ (цеокарбофос) и биогумус 2,4 т/га соответственно 0,86 и 0,92 %.

Таблица 1. Влияние органо-минеральных удобрений на динамику накопления питательных элементов в растениях ярового ячменя

Варианты	Содержание питательных веществ в воздушно-сухой массе, %											
	кущение			колошение			полная спелость					
	N	P_2O_5	K_2O	N	P_2O_5	K_2O	зерно			солома		
							N	P_2O_5	K_2O	N	P_2O_5	K_2O
Контроль (без удобрений)	1,48	0,60	1,62	0,60	0,42	0,80	1,02	0,24	0,18	0,19	0,12	0,29
$N_{60}P_{60}K_{60}$	2,00	0,95	2,29	0,92	0,64	1,22	1,24	0,31	0,25	0,23	0,16	0,40
$N_{60}P_{60}$ (цеокарбофос)	1,90	0,86	2,03	0,90	0,56	0,95	1,16	0,30	0,21	0,22	0,15	0,33
Полуперепревший навоз 12 т/га	1,80	0,75	2,04	0,84	0,52	1,08	1,22	0,29	0,23	0,22	0,15	0,38
Биогумус 2,4 т/га	2,10	0,92	2,29	1,02	0,70	1,16	1,12	0,30	0,26	0,23	0,18	0,40
Птичий помет (брикеты) 2,4 т/га	2,00	0,84	2,26	1,05	0,70	1,22	1,24	0,30	0,25	0,22	0,16	0,39

Максимальное накопление калия в растениях отмечается в фазе кушения. Если в контрольном варианте содержание калия в растениях составило 1,62 %, то в вариантах $N_{60}P_{60}K_{60}$ и биогумус 2,4 т/га его содержание доходит до 2,20 и 2,29 % соответственно.

Из данных табл. 1 видно, что в последующих фазах роста и развития ярового ячменя темпы накопления питательных элементов падают. Содержание НРК в фазе колошения по сравнению с содержанием в фазе кушения меньше – азота в 2-2,2, фосфора – в 1,2-1,4 и калия – в 1,9-2,0 раза.

Аналогичные закономерности накопления питательных элементов в растениях установлены и другими авторами [3, 5].

В фазе кушения и колошения растения содержат больше калия, чем азота и фосфора. В контрольном варианте соотношение $N:P_2O_5:K_2O$ в фазе колошения составляет 1:0,7:1,3, а в вариантах $N_{60}P_{60}K_{60}$, полуперепревший навоз 12 т/га, биогумус 2,4 т/га и птичий помет 2,4 т/га соответственно 1:0,7:1,3; 1:0,6:1,2; 1:0,6:1,1 и 1:0,7:1,2.

При полном созревании урожая происходит заметное перераспределение питательных веществ. В зерне накапливается больше азота (1,02–1,24 %), фосфора (0,24–0,31 %) и меньше калия (0,18–0,26 %), в то время как в соломе накапливается сравнительно больше калия (0,29–0,40 %), меньше азота (0,19–0,23 %) и фосфора (0,12–0,18 %).

Применение минеральных и органических удобрений способствует увеличению содержания азота, фосфора и калия как в зерне, так и в соломе. Анализы показали, что соотношение питательных веществ (N:P:K) в зерне и соломе составляет: в контрольном варианте 1:0,23:0,18 и 1:0,6:1,52, а в вариантах $N_{60}P_{60}K_{60}$ и биогумус 2,4 т/га – 1:0,25:0,2; 1:0,26:0,23 и 1:0,69:1,7; 1:0,78:1,74.

Таким образом, в условиях горных выщелоченных черноземов Апаранского региона содержание калия и азота в яровом ячмене в фазах кушения и колошения значительно больше, а фосфора – меньше.

По мере роста и развития растений содержание питательных веществ в них постепенно изменяется, так что в конечном счете в зерне накапливается больше азота и фосфора, а в соломе - калия.

Данные динамики накопления питательных элементов в растениях показывают, что накопление калия до полного созревания происходит интенсивно, в конечном же урожае его содержание частично уменьшается.

Нами было изучено также влияние минеральных и органических удобрений на вынос из почвы питательных веществ с урожаем ярового ячменя. Результаты этих исследований показывают, что вынос питательных веществ с урожаем ярового ячменя с площади 1 га подвержен большим колебаниям и зависит от его урожайности и вида внесенных удобрений (табл. 2). Так, например, при урожае зерна ячменя 25,1 и соломы 30,1 ц/га с 1 га почвы выносятся 31,3 кг азота, 9,6 кг фосфора и 14,6 кг калия. По мере увеличения урожайности повышается и вынос питательных веществ из почвы. При более высоком уровне урожая зерна (38,2-43,2 ц/га) и соответствующем урожае соломы вынос питательных элементов составляет: азота – 51,5-65,3; фосфора – 20,0-23,7 и калия 29,8-31,2 кг.

Таблица 2. Содержание питательных веществ в сухой массе и их вынос с урожаем ярового ячменя сорта “Нутанс”

Варианты	Урожай, ц/га		Содержание питательных веществ, % воздушно-сухой массы						Общий вынос питательных веществ с урожаем, кг/га		
	зерно	солома	зерно			солома			N	P ₂ O ₅	K ₂ O
			N	P ₂ O ₅	K ₂ O	N	P ₂ O ₅	K ₂ O			
Контроль (без удобрений)	25,1	30,1	1,02	0,24	0,18	0,19	0,12	0,29	31,3	9,6	14,6
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	43,2	50,9	1,24	0,31	0,25	0,23	0,16	0,40	65,3	23,7	31,2
N ₆₀ P ₆₀ (цеокарбофос)	40,4	47,2	1,16	0,30	0,21	0,22	0,15	0,33	57,2	19,2	24,1
Полуперепревший навоз 12 т/га	37,9	44,7	1,22	0,29	0,23	0,22	0,15	0,38	56,1	17,0	25,7
Биогумус 2,4 т/га	38,2	49,6	1,12	0,30	0,26	0,23	0,18	0,40	51,5	20,0	29,8
Птичий помет (брикеты) 2,4 т/га	34,8	41,8	1,24	0,30	0,25	0,22	0,16	0,39	52,4	17,1	25,0

Перерасчет выноса питательных элементов на 1 ц зерна и соответствующее количество соломы в различных вариантах опыта составил: азота – 1,35-1,51; фосфора – 0,49-0,55; калия – 0,60-0,72 кг.

Обобщая результаты исследований, можно прийти к следующим выводам:

1. Значительная часть питательных элементов в яровом ячмене сорта “Нутанс” накапливается в первой половине вегетации. В дальнейшем темпы накопления снижаются. От фазы кущения до фазы колошения в растениях в большем количестве накапливается азот и калий, в меньшем - фосфор.

2. Вынос из почвы питательных элементов с урожаем при применении минеральных и органических удобрений в основном зависит от урожайности ярового ячменя и вида вносимых удобрений.

3. С урожаем зерна ярового ячменя 34,8-43,2 ц/га и соответствующим количеством соломы вынос азота, фосфора и калия составляет соответственно 51,5-65,3; 17,0-23,7 и 24,1-31,2 кг.

4. В фазе полной спелости в зерне ячменя азота и фосфора накапливается значительно больше, чем калия, а в соломе, наоборот.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Գալստյան Մ.Յ.* Գյուղ. գիտ. դոկտորի գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության սեղմագիր, Երևան, 42 էջ, 2007:
2. *Մարկոսյան Մ.Մ.* Աշտարակ-Թալին ավտոմայրուղու հարակից տարածքներում աճեցվող գյուղատնտեսական մշակաբույսերում սննդատարրերի կուտակումն ու բերքի հետ դրանց օտարման քանակությունները. Ագրոգիտություն. Երևան, 5-6, էջ 252-257, 2011:
3. *Авакян Н.О., Аразян С.М. и др.* Динамика накопления питательных веществ в растениях и их вынос с урожаем зерновых колосовых культур. Тр. НИИ почвоведения и агрохимии МСХ Арм. ССР, вып. 4, с. 127-135, 1968.
4. *Аствацатрян Б.Н., Аишбабаян С.А., Асланян В.Е.* Накопление и вынос питательных элементов в долголетнем опыте по удобрению озимой пшеницы. Известия с.х. наук МСХ Арм. ССР, 8, с. 34-39, 1972.
5. *Васильев В.А., Лукьяненко И.И., Минеев В.Г.* Органические удобрения в интенсивном земледелии (под ред. В.Г. Минеева). М., "Колос", 303, с. 1984.
6. *Гвозденко Д.В.* Влияние органо-минеральных удобрений на рост, развитие и урожай озимой пшеницы в условиях Карабахской степи Азербайджана. Канд. дис., Степанакерт, 1960.
7. *Лященко Н.И.* Влияние удобрений на урожай и поступление питательных веществ в растениях озимой пшеницы в условиях Центрального Полосья Ук. ССР. Агрохимия, 7, с.76-81, 1971.

Поступила 16.11.2011



Биол. журн. Армении, 2 (64), 2012

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ЭТИОПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ЭКСПРЕССИЮ АДА2

Е.Г. САРКИСОВА, Н.А. АНДРЕАСЯН,
А.А. АРУТЮНЯН, Р.Л. АЙРАПЕТЯН

Институт биохимии им. Г.Х. Бунятына НАН РА
biochem@ipia.sci.am

Исследована активность аденозиндеамины 2 (АДА2) в плазме крови человека после коревой вакцинации. Изучена способность изолированных клеток периферической крови человека и лабораторных животных продуцировать фермент. Показано, что при иммунном ответе на коревую вакцинацию уровень АДА2 в плазме крови человека возрастает. Динамика активации АДА2 коррелирует с известной динамикой уровня иммуноглобулинов после вакцинации. Моноциты крови человека вырабатывают АДА2. При стимуляции клеток культурой *Salmonella typhimurium* возрастает активность фермента. Наличие лимфоцитов в инкубационной смеси с моноцитами значительно усиливает этот эффект. В присутствии NO (нитрозативном стрессе) в клетках наблюдается возрастание активности АДА2, что позволяет предположить, что активные формы кислорода, наряду с аденозином, могут быть факторами, регулирующими активность АДА2 при патологии.

*Аденозиндеаминаза 2 – клетки крови – клетки Купфера – активация
фермента – окислительный стресс – NO*

Հետազոտվել է ադենոզինդեամինազ 2-ի (ԱԴԱ2) ակտիվությունը մարդու արյան պլազմայում կարմրուկի պատվաստումից հետո: Հետազոտվել է մարդու ծայրամասային արյան և լաբորատոր կենդանիների մեկուսացված բջիջների ֆերմենտ արտադրելու ունակությունը: Ցույց է տրվել, որ կարմրուկի պատվաստման իմունային պատասխանի դեպքում արյան պլազմայի ԱԴԱ2 ակտիվությունը աճում է: Ակտիվացման տեղաշարժը համապատասխանում է պատվաստումից հետո իմունոգլոբուլինների հայտնի փոփոխությունների ընթացքին: Մարդու արյան մոնոցիտները արտադրում են ԱԴԱ2: *Salmonella typhimurium*-ի կուլտուրայով այդ բջիջների խթանումը բերում է ֆերմենտի ակտիվության աճին: Ինկուբացիոն խառնուրդում մոնոցիտների հետ լիմֆոցիտների առկայությունը զգալիորեն ուժեղացնում է այդ աճը: NO-ի ներկայությամբ (նիտրոզատիվ ստրես) բջիջներում դիտվում է ԱԴԱ2 ակտիվության աճ, որը թույլ է տալիս եզրակացնել, որ թթվածնի ակտիվ ձևերը ադենոզինի հետ մեկտեղ կարող են հանդիսանալ ԱԴԱ2-ի ակտիվությունը կարգավորող գործոններ պաթոլոգիայի ժամանակ:

*Ադենոզինդեամինազ 2 – արյան բջիջներ – Կուպֆերի բջիջներ – ֆերմենտի
ակտիվացում – օքսիդատիվ սթրես – NO*

In present article presented the level of adenosine deaminase 2 activity (ADA2) in human plasma after measles vaccination was investigated. ADA2 production in vitro by isolated blood cells of humans and laboratory animals at stimulation by *Salmonella typhimurium* and oxidative stress was studied. It had been shown, that ADA2 activity was in-

creased at immune response to measles vaccination. The dynamics of ADA2 activity was correlated with the known pattern of immunoglobulin production at measles vaccination. Human blood monocytes produced ADA2. At stimulation with *Salmonella typhimurium* the increase in enzyme activity in cells was observed. The co-incubation of monocytes with lymphocytes significantly strengthens the effect. In the presence of nitric oxide (nitrosative stress) observed increase of ADA2 activity allowed proposing, that ROS as well as adenosine could regulate enzyme activity at pathology.

Adenosine deaminase 2 – blood cells – Kupffer cells – enzyme activation – oxidative stress – NO

Внеклеточный аденозин – важная регуляторная молекула, концентрация которой низкая в норме, может быстро возрасти при повреждении тканей, воспалении или гипоксии. В поврежденных тканях и при воспалительных процессах аденозин, являясь продуктом распада АТР, наряду с ним стимулирует пуринергические рецепторы. Выброс АТР и аденозина, их сигнальная деятельность и последующее истощение в среде – суть стадии острого воспалительного ответа, развивающегося воспаления и его подавления [5]. Регуляция воспалительного ответа аденозином и АТР в целом сложна, особенно в адаптивном иммунитете млекопитающих, в связи с чем возникает много вопросов о роли АТР и аденозина. Важным этапом этой регуляции является дезаминирование аденозина аденозиндеаминой (АДА), ферментом, который превращает аденозин и дезоксиаденозин в инозин и дезоксиинозин соответственно. Известны два типа ферментов с АДА активностью: АДА1 и ADGF/АДА2 (или АДА-подобные белки), факторы роста с аденозиндеаминой активностью, которые впервые были охарактеризованы у *Drosophila* [22]. Основная функция АДА1 заключается в выведении токсичных производных аденозина и дезоксиаденозина и защите клеток от апоптоза [3]. Наследственный дефицит АДА1 у человека приводит к тяжелому комбинированному иммунодефициту (ТКИД) [11]. В отличие от хорошо изученной АДА1, АДА2 исследована в меньшей степени из-за низкого содержания фермента в организме. В норме АДА2 определяется лишь в плазме крови человека, каталитическая способность ее ниже, чем у АДА1 (K_m в 100 раз больше) и оптимум pH находится в слабокислой области при pH 6,0, тогда как для АДА1 – при pH 7,4 [19]. Активность АДА2 в плазме значительно возрастает при заболеваниях, при которых активируются моноциты/макрофаги (гепатит С, острая лейкопения, ВИЧ/СПИД, инфекционный мононуклеоз и т. д.), в плевральной жидкости при туберкулезном плеврите, в спинномозговой – при туберкулезном менингите и т.д. Активность АДА2 предложена в качестве диагностического теста [1, 11, 14, 17, 18].

Последние достижения в расшифровке гена АДА2 [19] позволили получить фермент в рекомбинантной форме и исследовать его физиологическую роль. Показано, что АДА2 необходима для дифференцирования моноцитов и стимуляции пролиферации макрофагов и дендритных клеток. Возможно, для выполнения этой функции не требуется собственно АДА-активность, а важны, скорее всего, свойства АДА2 как фактора роста [20]. Причины и механизмы возрастания активности АДА2 при патологии еще предстоит исследовать.

При воспалении клетки продуцируют активные формы кислорода (АФК), неконтролируемый выброс которых приводит к окислительному стрессу. Многие клеточные белки – факторы транскрипции, рецепторы и ферменты – чувствительны к этим условиям. К их числу принадлежит и 5'-нуклеотидаза, которая активируется под воздействием супероксид-иона [8], что приводит к увеличению концентрации аденозина. Аденозин в свою очередь активирует глутатионпероксидазу 1 – центральный фермент антиоксидантной защиты организма [23]. Увеличение концентрации адено-

зина, таким образом, может быть важным адаптивным механизмом при окислительном стрессе. В этой связи роль АДА2, как регулятора уровня аденозина в условиях, при которых требуются его высокие концентрации, приобретает важное значение. А так как уровень АДА2 возрастает при некоторых инфекциях, то интересно было исследовать воздействие окислительного стресса на ее активность.

В настоящей работе мы наблюдали за активностью АДА2 в плазме крови человека после вакцинации против кори. Была исследована также способность изолированных клеток крови человека и лабораторных крыс и мышей продуцировать фермент *in vitro*, а также при стимулировании клеток культурой *Salmonella typhimurium* и в условиях окислительного стресса.

Материал и методика. В работе использовали плазму крови добровольцев – сотрудников лаборатории, а также белых лабораторных крыс и мышей. Аденозин, ингибитор АДА1 эритро-9-(2-гидрокси-3-нонил)-аденинхлорид (EHNA), HBSS, HEPES, коллагеназа IV – фирмы “Sigma-Aldrich” Ltd. (США), Ficoll – фирмы “Serva”, коммерческий препарат sodium diatrizoate – “Bracco Diagnostics” (США). Остальные реактивы высокой степени очистки.

Мононуклеары периферической крови (PBMC) получали по Воуит [6]: венозную кровь с антикоагулянтом (в соотношении 9:1 с 3,8%-ным цитратом натрия) разбавляли в 2-4 раза физиологическим раствором с 20 мМ К-фосфатного буфера (PBS) и 2 мл разбавленной крови наносили на двухслойный градиент Ficoll-diatrizoate (2 мл плотностью 1.078 наслаивали на 2 мл плотностью 1.119 в 10-миллилитровой пробирке) и центрифугировали в течение 30 мин при 3500 об/мин. Верхний слой, содержащий PBMC, собирали, после трехкратного промывания PBS клетки смешивали с HBSS с 20 мМ HEPES, pH 7.35. Подсчитывали число клеток и определяли активность АДА клеточной суспензии. Для получения первичных моноцитов осадок клеток в буфере с 0.1 мМ CaCl_2 высевали на культуральные платы и инкубировали в течение 1-1,5 ч при 37°C. Прикрепившиеся клетки – моноциты и не прикрепившиеся – лимфоциты трижды промывали буфером и использовали далее в экспериментах. Подсчет клеток производили в камере Горяева, использованы только препараты с 80-90%-ной чистотой. Процедура очистки приводила к примерно 90%-ной чистоте лимфоцитов и моноцитов, и число жизнеспособных клеток составляло $\approx 90\%$, определенных с помощью трипанового синего.

Кровь крыс получали пункцией из сердца шприцем с гепарином, затем клетки разделяли по Воуит [6], как описано выше, в градиенте плотностей 1,087 и 1,129 Ficoll-diatrizoate для PBMC и PMN соответственно. Процедура в основном повторяет процедуру для получения клеток крови человека, описанную выше.

Печень лабораторных животных подвергали перфузии поэтапной обработкой раствором коллагеназы IV, по методике Seglen [16], промывали PBS и суспендировали в HBSS с 20 мМ HEPES, pH 7,35. После центрифугирования при 50 g в течение 10 мин надосадочный раствор, содержащий клетки, наносили на смесь Ficoll-diatrizoate плотностью 1,1 и центрифугировали при 3500 об/мин в течение 30 мин. Верхний слой содержал чистые клетки Купфера, которые после трехкратного промывания тем же буфером использовали в экспериментах.

Перитонит у лабораторных животных вызывали инъекцией содержимым слепой кишки крыс или мышей, 0,5 г/кг внутривентриально, как описано в [9]. По истечении 20 ч животных подвергали анестезии и клетки собирали трехкратным промыванием брюшной полости PBS. Клетки трижды промывали PBS и использовали в экспериментах.

Активность АДА (АДАtotal, АДА1 и АДА2) в плазме крови и в клеточных суспензиях определяли так же, как описано в [4]. Активность АДА2 измеряли в присутствии 0,04 мМ EHNA, специфического ингибитора АДА1, который демаскирует активность АДА2. Активность АДА1 получена вычитанием АДА2 из АДАtotal. Значения активности АДА в плазме выражены в единицах активности на литр, U/l; в гомогенатах и клеточных суспензиях - в единицах активности на мг белка и на число клеток соответственно. За единицу активности АДА было принято количество фермента, образующего 1 нмоль аммиака за 1 мин/ч в указанных условиях эксперимента. Белок определяли по методу Bradford [7], используя в качестве стандарта БСА.

В качестве источников кислородных радикалов были использованы растворы нитрита и нитропруссиды натрия. Клеточные суспензии предварительно инкубировали с 1мМ азида натрия в течение 10 мин при 37°C для подавления активности каталазы. Далее клетки инкубировали с

различными концентрациями нитрита (0-75 мМ) и нитропруссид натрия (0-40 мМ) в HBSS с 20 мМ HEPES, pH 7,0, в течение 15 мин при 37°C и из каждой пробы отбирали аликвоты для определения в них активности АДА. Контролем служили клетки, инкубированные в буфере без добавок.

Результаты анализировали с использованием матрицы Non-linear Fit программы Grafit, version 5.0.3 for Windows (Erithacus Software, USA) [12].

Статистический анализ проводили с использованием программы InStat, version 3 for Windows (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA), специфические различия оценивали в Student's two-tailed t-test. Данные приведены как средние $\pm$ стандартная ошибка.

Результаты и обсуждение. Как уже отмечалось выше, при некоторых заболеваниях уровень АДА повышается в жидкостях организма (плевральной, спинномозговой, синовиальной и т.д.) в основном за счет возрастания активности АДА2. Активность последней определяется лишь в плазме крови человека, и было интересно проследить за ней при иммунном ответе после вакцинации. Воспользовавшись тем, что молодым сотрудникам лаборатории в поликлинике была сделана прививка от кори, мы проследили за уровнем активности АДА2 в плазме, каждые 3-4 дня определяя у них АДА-активность.

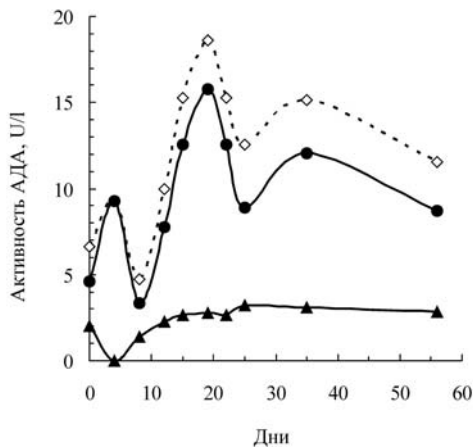


Рис. 1. Активность АДА в плазме крови после коревой вакцинации.

Зависимость активности АДА от времени иммунного ответа:

(--◇--) – АДА_{total}; (-▲-) – АДА1; (-●-) – АДА2.

Активность АДА, определенная до прививки, была принята за контроль.

На рис. 1 приведены кривые активности АДА в плазме за два месяца наблюдений. На графике четко прослеживается динамика возрастания АДА2, которая достигает максимума на 15-20 день и составляет примерно 16 U/l, затем постепенно возвращается к норме. Если сравнить полученную динамику активности АДА2 с описанной динамикой развития иммунного ответа [15], то первый пик соответствует 5-10 дням, когда растет уровень IgM, а нарастание второго наблюдается примерно с десятого дня, то есть вместе с ростом уровня IgG. Интересно, что АДА1, упав до нуля сразу после прививки, быстро восстанавливается и держится на постоянном уровне, равном примерно 3,0 U/l.

Значения активности АДА1 в только что полученных РВМС и РМН очень низки, а АДА2 практически не выявлена ни в одном из исследованных типов клеток. Однако через несколько часов инкубации в HBSS с HEPES, pH 7,0 при 37°C моноциты обнаруживают низкую активность АДА2 (данные не приведены). Далее с

целью стимулирования клетки инкубировали (в течение 8-и ч) в присутствии *Salmonella typhimurium*, затем определяли активность АДА2 в моноцитах, лимфоцитах, нейтрофилах и в смешанных суспензиях моноцитов с лимфоцитами или с нейтрофилами, а также лимфоцитов с нейтрофилами. В присутствии бактерий моноциты продуцировали выраженную активность АДА 2. В смешанной суспензии моноцитов с лимфоцитами наблюдалось значительное увеличение активности АДА2 по сравнению с суспензией только моноцитов за одно и то же время инкубации (рис. 2). Взаимодействие клеток, таким образом, является необходимым условием для проявления активности АДА2.

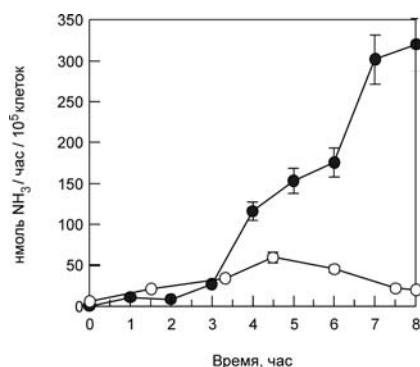


Рис. 2. Зависимость активности АДА2 в изолированных клетках крови, стимулированных *S. typhimurium* (моноцитах (○) и моноцитах/лимфоцитах (●)) от времени инкубации. Приведенные графики получены вычитанием из кривых для смешанных суспензий, кривых, полученных отдельно для лимфоцитов и отдельно для *S. typhimurium*. Здесь и на рис.3 каждая точка представляет собой среднее трех независимых экспериментов. Все значения активности АДА2 значительно отличались от контроля ($p < 0.005$).

Суспензию моноцитов с лимфоцитами (РВМС) после выделения и промывки инкубировали в течение 5 ч в HBSS с HEPES, pH 7,0, при 37°C, при этом в среде накапливался фермент. Затем клетки подвергали воздействию перекиси водорода и нитрита натрия, которые использовали в качестве продуцентов АФК.

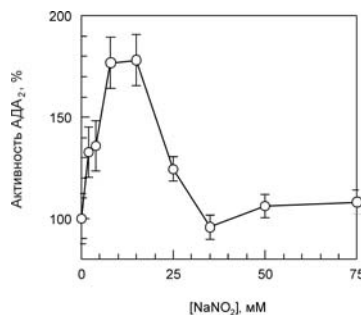


Рис. 3. Зависимость активности АДА2 в суспензии РВМС от концентрации NaNO₂. Контрольные (100%) значения активности представляют собой результат инкубации клеток только в буфере.

В присутствии нитрита натрия наблюдали активацию АДА2 на ~80% от исходной активности, с максимумом при 10-15 мМ NaNO_2 (рис.3). Аналогичные зависимости от НПН были получены также для очищенного фермента из плазмы крови человека [2].

В клетках крови и тканей лабораторных животных АДА2 не была обнаружена, в них выявлена лишь АДА1. Чтобы стимулировать иммунный ответ у крыс и мышей, им вводили эритроциты человека; в других опытах у животных вызывали сепсис инъекцией содержимым слепой кишки или заражали их культурой *S. typhimurium*. Хотя у зараженных животных в плазме крови мы не наблюдали индукции АДА2, в клетках перитонеального смыва (ПС), состоявшего преимущественно из макрофагов, отмечали некоторую АДА2 активность. Эти клетки были подвергнуты далее воздействию АФК. На рис. 4а представлена зависимость активности АДА2 в макрофагах ПС от концентрации НПН. Кривые зависимости активности АДА2 имеют форму колокола с максимумом при концентрации реагентов около 15 мМ.

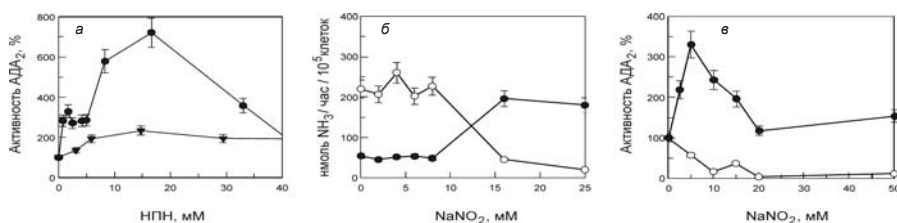


Рис 4. Зависимость активности АДА2 в клетках от концентрации АФК.

а - макрофаги перитонеального смыва мыши, зараженной *S.typhimurium* (-▲-) и крысы с экспериментальным сепсисом (-△-); *б* - зависимость активности изоферментов АДА от концентрации NaNO_2 в макрофагах ПС крыс при экспериментальном сепсисе: АДА1 (-○-) и АДА2 (-●-); *в* - зависимость активности АДА2 от концентрации NaNO_2 в клетках Купфера мышей, контрольных (-○-) и иммунизированных эритроцитами (-●-)

На рис. 4б приведены зависимости активности АДА1 и АДА2 от нитрита натрия в макрофагах ПС крыс при экспериментальном перитоните. С увеличением концентрации нитрита натрия активность АДА1 падает, а активность АДА2 возрастает. С ростом концентрации NaNO_2 происходит как бы переключение активности с АДА1 на АДА2. Кривые активности являются зеркальными отражениями друг друга. Это укладывается в предположение Gakis et al. [10] о гомеостазе, формируемом в организме двумя изоферментами.

У мышей, иммунизированных эритроцитами человека, ни в плазме крови, ни в тканях активность АДА2 не была обнаружена (данные не приведены). Однако при окислительном стрессе, при сравнении активности АДА2 клеток Купфера этих мышей с контрольными, наблюдалась активация АДА2 под воздействием NaNO_2 , в контрольных же клетках этого эффекта не было, рис. 4 в. Таким образом, активация фермента под воздействием АФК позволила выявить индукцию АДА2 в клетках печени в ответ на введение мышам эритроцитов человека.

Несмотря на то что у грызунов не был обнаружен ген, соответствующий ADGF и ответственный за активность АДА2 [13], была, тем не менее, показана способность макрофагов крыс продуцировать активность АДА, которая не подавляется ингибитором АДА1 EHNA [9]. Мы также наблюдали активность АДА2 в макрофагах перитонеального смыва крыс и мышей и клетках Купфера печени мышей при

воспалении. Значения активности АДА2 при этом очень низкие, но в присутствии АФК они заметно возрастают. Из использованных в качестве продуцентов АФК перекиси водорода, пероксинитрита, (Fe^{2+} -ascorbate), (Fe^{2+} - H_2O_2), нитрита и нитропруссид натрия только в присутствии последних двух наблюдалась активация фермента (рис. 4). Активность АДА2 возрастает под воздействием АФК, в отличие от большинства ферментов, которые обычно подвергаются ингибированию в условиях окислительного стресса. Ранее мы наблюдали это на препаратах очищенного фермента [2], здесь же приводятся данные, полученные на разделенных клетках крови человека, вырабатывающих АДА2, а также на макрофагах крыс и мышей при воспалении. На основании полученных результатов можно предположить, что активные формы кислорода, наряду с аденозином, могут быть факторами, регулирующими активность АДА2 при патологии.

В настоящей работе показано, что при иммунном ответе на коревую вакцинацию уровень АДА2 в плазме крови человека возрастает. Динамика активации АДА2 коррелирует с известной динамикой уровня иммуноглобулинов после вакцинации. Моноциты крови человека вырабатывают АДА2. Наличие лимфоцитов в инкубационной смеси с моноцитами значительно усиливает этот эффект. В присутствии NO, то есть при нитрозативном стрессе, в клетках наблюдается возрастание активности АДА2.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мардарян С.С., Саркисова Е.Г., Андреасян Н.А., Бадалян Л.Т., Ханоян А.С., Сагоян И.Л., Маркарян Н.Р. Активность аденозиндеаминазы в плевральной жидкости при туберкулезном плеврите. Проблемы туберкулеза, 2, 37-39, 2002.
2. Саркисова Е.Г., Андреасян Н.А., Айрапетян Р.Л., Арутюнян А.А. Окись азота – фактор активации аденозиндеаминазы 2 *in vitro*. Биохимия, 77, 1, 116-122, 2012.
3. Aldrich M.B., Blackburn M.R., Kellems R.E. The importance of adenosine deaminase for lymphocyte development and function. Biochem. Biophys. Res. Commun., 272, 311–315, 2000.
4. Andreasyan N.A., Hayrapetyan H.L., Sargisova Y.G., Mardanyan S.S., Badalyan L.T., Khanoyan A.S. Activity of adenosine deaminase and its isoforms in pleural fluid at tuberculous pleuritis. Medical Science Monitor, 8(10), CR 708, 2002.
5. Bours M.J., Swennen E.L., Di Virgilio F., Cronstein B.N., Dagnelie P.C. Adenosine 5'- triphosphate and adenosine as endogenous signaling molecules in immunity and inflammation. Pharmacol Ther., 112, 2, 358–404, 2006.
6. Boyum A. Scan. J.Clin. Lab. Invest. 21, Suppl. 97, 77, 1968.
7. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein binding. Anal. Biochem., 72, 259-268, 1976.
8. Chen Y-F., Li P-L. and Zou A-P. Oxidative stress enhances the production and actions of adenosine in the kidney. Am. J Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol., 281, R1808-R1816, 2001.
9. Conlon B.A. and Law W.R. Macrophages are source of extracellular adenosine deaminase-2 during inflammatory responses. Clin. Exp. Immunol., 138, 14-20, 2004.
10. Gakis C., Cappio-Borlino A. and Pulina G. Enzymes (Isoenzyme System) as homeostatic mechanisms. The isoenzyme (ADA2) of adenosine deaminase of human monocytes-macrophages as a regulator of the 2'-deoxyadenosine. Biochem. Mol. Biol. Intern., 46, 3, 487-494, 1998.
11. Hershfield M.S. New insights into adenosine-receptor-mediated immunosuppression and the role of adenosine in causing the immunodeficiency associated with adenosine deaminase deficiency. Eur. J. Immunol., 35, 25–30, 2005.
12. Leatherbarrow R.J. GraFit Version 5, Erithacus Software Ltd., Horley, U.K., 2001.
13. Maier S. A., Galellis J. R., McDermid H. E. Phylogenetic analysis reveals a novel protein family closely related to adenosine deaminase. J. Mol. Evol., 61, 776-794, 2005.

14. Niedzwicki J.G., Mayer K.H., Abushanab E., Abernethy D.R. Plasma adenosine deaminase 2 is a marker for human immunodeficiency virus-1seroconversion. *Am. J. Hematol.*, 37, 3, 152-155, 1991.
15. Helefang R.F., Kebede S., Gary H.E. Jr., Beyene H., Bellini W.J. Timing of development of measles-specific immunoglobulin M and G after primary measles vaccination. *Clin. Diag. Lab. Immun.*, 6, 2, 178-180, 1999.
16. Seglen P.O. Hepatocytes suspension and cultures as tools in experimental carcinogenesis. *J. Toxicol. Environ. Health*, 5, 551-560, 1979.
17. Thompson L.F. and Seegmiller J.E. Adenosine deaminase deficiency and severe combined immunodeficiency disease. *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.*, 51, 167-210, 1980.
18. Valdéz L., Pose A., San José E., Martínez Vázquez J. M. Tuberculous pleural effusions. *Eur. J. Intern. Med.*, 14, 77-88, 2003.
19. Zavialov A.V., Engstrom A. Human ADA2 belongs to a new family of growth factors with adenosine deaminase activity. *Biochem. J.*, 391, 51-57, 2005.
20. Zavialov A., Gracia E., Glaichenhaus N., Franco R., Zavialov A.V., Lauvau, G. Human adenosine deaminase 2 induces differentiation of monocytes into macrophages and stimulates proliferation of T helper cells and macrophages. *J. Leukocyte Biol.*, 88, 279-290, 2010.
21. Zemlin A.E., Burgess L.J., Carstens M.E. The diagnostic utility of adenosine deaminase isoenzymes in tuberculous pleural effusions. *Int. J Tuberc. Lung Dis.*, 13, 2, 214-220, 2009.
22. Zurovec M., Dolezal T., Gazi M., Pavlova E., Bryant P.J. Adenosine deaminase - related growth factors stimulate cell proliferation in *Drosophila* by depleting extracellular adenosine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99, 7, 4403-4408, 2002.
23. Zhang Y., Handy D., Loscalzo J. Adenosine-dependent induction of glutathione peroxidase 1 in human primary endothelial cells and protection against oxidative stress. *Circ. Res.*, 96, 831-837, 2005.

Поступила 21.11.2011



Биол. журн. Армении, 2 (64), 2012

ВЛИЯНИЕ СТЕВИИ (STEVIA REBAUDIANA BERTONI) НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СЕРДЕЧНО- СОСУДИСТОЙ И ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМ КРЫС В НОРМЕ И ПРИ СТРЕССЕ

Х.О. НАГАПЕТЯН, Р.А. АРУТЮНЯН,
А.М. БАБАХАНИЯН, Т.Г. НИКОГОСЯН

Институт физиологии им. акад. Л.А. Орбели НАН РА,
Институт проблем гидропоники им. акад. Г.С. Давтяна НАН РА
lmanvel@neuroscience.am

Изучалось влияние лекарственного растения стевии (*Stevia rebaudiana* Bertoni) на функциональное состояние сердечно-сосудистой и дыхательной систем крыс в норме и при воздействии эмоционально-звукового стресса. Установлено, что у крыс, получавших для питья 10%-ный настой лекарственного растения стевия (медовая трава) и этот же настой после его омагничивания, наблюдается ослабление стрессорного воздействия на жизненно важные системы организма (сердечно-сосудистая, дыхательная), что свидетельствует об антистрессорных свойствах этого лекарственного растения.

*Стевия – сердечно-сосудистая система – дыхательная система –
эмоционально-звуковой стресс – омагниченная вода*

Ուսումնասիրվել է ստեվիա դեղաբույսի (*Stevia rebaudiana* Bertoni) ազդեցությունն առնետների սիրտ-անոթային և շնչառական համակարգերի ֆիզիոլոգիական գործառնությունների վրա նորմայում և հուզումա-ձայնային սթրեսորային գործոնի ազդեցության պայմաններում: Պարզվել է, որ ստեվիա (մեղրախոտ) դեղաբույսի 10%-անոց թուրմ, ինչպես նաև նույն թուրմը մագնիսացումից հետո ստացած առնետների մոտ նկատվում է սթրեսորային գործոնի ազդեցության թուլացում կենսականորեն կարևոր համակարգերի (սիրտ-անոթային, շնչառական) գործունեության վրա, ինչը վկայում է նշված դեղաբույսի հակասթրեսորային հատկություններով օժտված լինելու մասին:

*Ստեվիա – սիրտ-անոթային համակարգ – շնչառական համակարգ – հուզումա-
ձայնային սթրես – մագնիսացված ջուր*

Influence on functional state of the cardio-vascular and respiratory system in norm and under action of the emotional-sound stress of the pharmaceutical plant *Stevia* (*Stevia rebaudiana* Bertoni) has been studied. It has been revealed that in rats, received for drinking 10% infusion of the pharmaceutical plant *Stevia* (honey herb) and as well as idem infusion after it magnetization was observed the weakening of stressoraction on the essential systems of organism (cardio-vascular and respiratory) that testify about antistress properties of this pharmaceutical plant.

Cardio-vascular system – respiratory system – emotional-sound stress – magnetic water

Нами было установлено положительное влияние фитопрепарата базилика лимонного (*Ocimum basilicum* L.V. citrol) и фитосбора диабефит, а также намагниченной воды на функциональное состояние сердечно-сосудистой системы у бодрствующих крыс в норме и под воздействием эмоционально-звукового стресса (ЭЗС) [1-3]. В настоящее время широко изучаются биологические характеристики и физиологические механизмы воздействия на организм другого, мало изученного лекарственного растения стевия (*S. rebaudiana* Bertoni), обладающего антигипертензивными, репаративными, иммуномодулирующими, бактерицидными (противовоспалительными) свойствами, обеспечивающими нормализацию функций иммунной системы и повышающими уровень биоэнергетических возможностей организма [4].

В настоящей работе впервые изучалось влияние выращенного гидропонным методом в Армении и Арцахе уникального и весьма ценного лекарственного растения стевия (*S. rebaudiana* Bertoni) (SrB) как в отдельности, так и в сочетании с омагниченной водой (OMB), а также только OMB на функциональное состояние сердечно-сосудистой и дыхательной систем у лабораторных крыс в норме, во время и после воздействия ЭЗС.

Материал и методика. Опыты проводились на 16 лабораторных бодрствующих белых крысах массой 280-320 г в четырех сериях – по 4 животных в каждой, которые содержались в одинаковых условиях ухода и кормления. Крыс первой серии (контроль) поили обычной водой (ПВ). Крыс второй серии вместо обычной ПВ поили 10%-ным настоем фитопрепарата стевия (SrB), третьей – тем же настоем, только после его омагничивания, а четвертой – только OMB. После недельного соблюдения указанного режима как у опытных, так и у контрольных крыс регистрировали частоту сердечных сокращений (ЧСС), систолическое артериальное давление (САД) и частоту дыхания (ЧД). Эти параметры определяли спустя 10-15 мин после фиксации и успокоения животных, затем на фоне ЭЗС воздействия и в разные сроки после его прекращения.

Омагничивание настоя SrB и ПВ осуществлялось один раз в день в течение 3-х мин на специальной магнитной подставке “Живая вода” со встроенным магнитным индуктором.

Измерение ЧСС, САД и ЧД проводили по известной методике [5], а в качестве ЭЗС-фактора использовали действие крысиного писка [6].

Результаты и обсуждение. Усредненные данные полученного экспериментального материала, представленные в табл. 1, показывают, что увеличение ЧСС как у контрольной группы крыс, получавших для питья обычную воду (серия 1), так и экспериментальных, получавших для питья настой SrB (серия 2) или омагниченный настой SrB (серия 3), а также OMB (серия 4), подсчитанное спустя 10-15 мин после фиксации животных и их успокоения, колебалось в пределах 16 уд/мин и ЧСС составляло в среднем 410-426 уд/мин. У контрольной группы крыс на фоне воздействия ЭЗС отмечалось увеличение ЧСС в пределах 30 уд/мин (от 420 уд/мин до 450 уд/мин). У крыс, получавших настой SrB, увеличение ЧСС составляло 10 уд/мин (от 410 уд/мин до 420 уд/мин). У крыс третьей серии (получавших омагниченный настой SrB) увеличение ЧСС на фоне воздействия ЭЗС составляло 10 уд/мин (от 420 уд/мин до 430 уд/мин), а у крыс, получавших только омагниченную воду, увеличение ЧСС на фоне ЭЗС составляло 13 уд/мин (от 426 уд/мин до 439 уд/мин). После прекращения воздействия ЭЗС к 5-й мин у контрольных крыс ЧСС уменьшалась до 10 уд/мин (от 450 уменьшалась до 440 уд/мин), а спустя еще 20 мин после прекращения воздействия ЭЗС она уменьшалась еще на 15 уд/мин (до 425 уд/мин), однако оставалась выше исходного уровня на 5 уд/мин. У крыс, получавших настой SrB, как на фоне воздействия ЭЗС, так и спустя 5 мин после прекращения воздействия этого стресса ЧСС заметных отклонений от исходного уровня не претерпевала, однако спустя 20 мин наблюдалось небольшое ее уменьшение – до 15 уд/мин от исходного уровня – от 420 уд/мин до 405 уд/мин.

Близкие результаты наблюдаются и у крыс, получавших ОМ настоек SrB: учащение от исходного 420 уд/мин до 430 уд/мин на фоне воздействия ЭЗС и ее уменьшение до 410 уд/мин спустя 20-25 мин после прекращения ЭЗС воздействия, что на 10 уд/мин ниже исходного уровня. У крыс 4-й серии, т.е. получавших ОМВ, воздействие ЭЗФ приводило к учащению ЧСС на 13 уд/мин (от 426 до 439 уд/мин), а спустя 20-25 мин после прекращения воздействия ЭЗФ ЧСС возвращалась к исходным значениям – 426 уд/мин. Таким образом, можно констатировать, что на фоне воздействия ЭЗС наблюдается некоторое увеличение ЧСС у всех четырех групп крыс, что более наглядно проявляется у контрольных крыс и у крыс, получавших ОМВ, а у крыс, получавших настоек SrB и омагниченный настоек SrB, воздействие ЭЗС не приводит к заметным отклонением ЧСС от исходного уровня.

Изучение динамики изменения САД у животных, получавших для питья настоек SrB (серия 2) и омагниченный настоек SrB (серия 3) до, при и в разные сроки после прекращения воздействия ЭЗФ, выявило тенденцию его сохранения почти на уровне исходных значений, что имело место как у контрольных крыс (серия 1), так и у крыс, получавших для питья ОМВ (серия 4). Так, если у крыс, получавших ПВ или ОМВ, САД до воздействия ЭЗС колебалось в пределах 129-131 мм рт.ст. (129 мм рт.ст у крыс первой серии и 131 мм рт.ст – четвертой), то у крыс, получавших настоек SrB или омагниченный настоек SrB, САД в норме было чуть ниже и колебалось в пределах 120-125 мм рт.ст. (120 мм рт.ст у крыс второй серии и 125 мм рт.ст. – третьей, в среднем). На фоне воздействия ЭЗФ у крыс контрольной серии определялось повышение САД на 16 мм рт.ст (от 129 мм рт.ст. исходного до 145 мм рт.ст. при воздействии ЭЗФ), которое спустя 5 мин после прекращения воздействия стрессора уменьшалось на 4 мм рт.ст., а спустя 20 мин еще на 2 мм рт.ст и оставалось выше исходного уровня на 10 мм рт.ст. У крыс, получавших для питья ОМВ, увеличение САД составляло 12 мм рт.ст (от 131 мм рт.ст. исходного до 143 мм рт.ст. при воздействии ЭЗС), которое спустя 20 мин после прекращения его воздействия оставалось выше исходного уровня на 7 мм рт.ст. У крыс, получавших для питья настоек SrB (серия 2), ЭЗС воздействие приводило лишь к незначительному увеличению САД – в пределах 5 мм рт.ст. (от 120 мм рт.ст. исходного до 125 мм рт.ст. во время воздействия ЭЗС фактора), а спустя 20 мин после прекращения ЭЗС воздействия оно доходило до исходного уровня (120 мм рт.ст.) У крыс, получавших для питья омагниченный настоек стевии (серия 3), увеличение САД от исходного уровня при воздействии ЭЗС составляло 10 мм/рт.ст. (от 125 мм рт.ст. исходного уровня до 135 мм рт.ст.), которое спустя 5 мин после выключения ЭЗС уменьшалось на 5 мм рт.ст., что сохранялось и к 20-й мин, оставаясь выше исходного уровня на 5 мм рт.ст.

Таким образом, можно заключить, что применение настоек SrB и омагниченного настоек SrB приводит к определенному ограничению воздействия ЭЗС фактора на состояние САД у исследуемых крыс.

Таблица 1. Влияние фитопрепарата стевия (Stevia) и омагниченной воды на функциональное состояние сердечно-сосудистой и дыхательной систем у крыс до, во время и после воздействия ЭЗС

Серия опытов	В норме (до воздействия ЭЗС)			При воздействии ЭЗС			Через 5' после ЭЗС			Через 20' после ЭЗС			Кол-во использованной жидкости в день /мл/
	Частота пульса	Велич. сист. Д.	Частота дыхания	Частота пульса	Велич. сист. Д.	Частота дыхания	Частота пульса	Велич. сист. АД	Частота дыхания	Частота пульса	Велич. сист. АД	Частота дыхания	
1. контроль	420	129	120	450	145	127	440	141	127	425	139	128	95,0 (n=7)
2. Стевия (n=7)	410	120	108	420	125	110	420	123	105	405	120	103	125,0 (n=7)
3. Стевия+ В (n=7)	420	125	114	430	135	122	413	130	119	410	130	108	125,0 (n=7)
4. ОВ (n=7)	426	131	113	439	143	130	426	138	125	426	137	115	93,0 ОВ (n=7)

Изучение влияния ЭЗС на частоту дыхательных движений (дд), как это отражено в табл. 1, показало, что ЧД у крыс 1-й серии в норме составляла 120 дд/мин, которое на фоне воздействия ЭЗС учащалось на 7 дд, доходя до 127 дд/мин, что сохранялось как спустя 5 мин, так и 20 мин после прекращения ЭЗС воздействия. У крыс, получавших ОВ, частота дд в норме составляла 113 дд /мин. На фоне воздействия ЭЗС она увеличивалась на 27 дд/мин, доходя до 130 дд /мин. Спустя 5 мин после прекращения ЭЗС воздействия она уменьшалась на 5, а 20 мин – на 10 дд /мин, составляя 115 дд/мин. Частота дд у крыс, получавших настой SrB (серия 2), почти не менялась от исходных значений (108 дд /мин в норме, 110 – на фоне воздействия ЭЗС, 105- через 5 мин и 103 – через 20 мин после прекращения ЭЗС воздействия). Почти такая же динамика частоты дд наблюдалась и у крыс, получавших омагниченный настой SrB (серия 3).

Таким образом, можно заключить, что применение настоя SrB как в отдельности, так и после его омагничивания, ограничивает отрицательное влияние ЭЗС на амплитуду систолического АД у экспериментальных крыс, тогда как у контрольных крыс и крыс, получавших только ОВ, воздействие ЭЗС приводит к небольшому отклонению САД в сторону его увеличения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Нагапетян Х.О., Арутюнян Р.А., Бабаханиян М.А. Влияние базилика лимонного и омагниченной воды на химические и физические механизмы терморегуляции в норме и при стрессе. Вестник МАНЭБ, С.-Пб, 15, 5, вып.2, с. 87-90, 2010,
2. Нагапетян Х.О., Бабаханиян А.М., Арутюнян Р.А., Никогосян Т.Г., Григорян Ш.В., Саркисян Х.Б. Влияние растительного сбора “Диабефит” на функциональное состояние сердечно-сосудистой и дыхательной систем у крыс в норме и при стрессе. Мед. наука Армении НАН РА, 11, 1, с. 7, 2011.
3. Саркисян Р.Ш., Нагапетян Х.О., Саркисян В.Р., Арутюнян Р.А., Варданян В.Т., Манукян А.М. Влияние эмоционального стресса на физиологическое состояние бодрствующих крыс в норме и после использования для питья омагниченной воды. Биолог. журн. Армении НАН РА, 63, 1, с.46-50, 2011.
4. Ситничук И.Ю., Стрижева Е.И., Ефремов А.А., Первышина Г.Г. Разработка эффективного способа выделения суммы дитерпеновых гликозидов из *Stevia rebaudiana* Bertoni. Химия растительного сырья, 3, с. 73-75, 2002.
5. Нагапетян Х.О., Бабаханиян М.А., Матинян Л.А. Влияние базилика лимонного (*Ocimum basilicum* L. v. *citrofol*) на функциональное состояние сердечно-сосудистой системы у крыс в норме и при стрессе. Биолог. журн.Армении, 60, 1-2, с.125-129, 2008.
6. Нагапетян Х.О., Матинян Л.А., Арутюнян Р.А., Арутюнян В.М. Влияние эмоционального стресса на температурный гомеостаз у крыс. Вестник МАНЭБ, СПб, 1, 13, с. 57-58, 1999.

Поступила 22.11.2011



Биол. журн. Армении, 2 (64), 2012

**УСВОЕНИЕ ПРЕБИОТИКОВ ПРИРОДНОГО
И СИНТЕТИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ
ШТАММОМ *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS*
ЕР 307/412 “НАРИНЕ” IN VITRO**

**Г.Г. ОГАНЕСЯН, А.А. БАРСЕГЯН, В.П. АКОПЯН,
С.С. ОГАНЕСЯН, А.В. МАРУТЯН**

*Институт микробиологии, НПЦ “Армбиотехнология” НАН РА
hhov@sci.am*

Изучалась эффективность усвоения растительных инулинов и лактулозы пробиотическим штаммом *Lactobacillus acidophilus* Ер 307/412 “Нарине” в условиях in vitro. Разработан метод выделения и очистки инулинов из различных растений. Установлено, что лактулоза и инулин, выделенный из корней лопуха, легко усваиваются штаммом “Нарине”, тогда как инулин, выделенный из цикория, почти не усваивается. По поддержанию роста и накоплению биомассы лактулоза и инулин, выделенные из лопуха, незначительно уступают глюкозе.

Пробиотик – пребиотик – синбиотик – инулин – лактулоза

Ուսումնասիրվել է բուսական ինուլինների և լակտուլոզի յուրացման արդյունավետությունը *Lactobacillus acidophilus* Եր 307/412 «Նարինե» պրոբիոտիկ շտամի կողմից in vitro պայմաններում: Մշակվել է տարբեր բույսերից ինուլինի անջատման և մաքրման եղանակ: Հաստատվել է, որ լակտուլոզը և կապտուկ մեծի արմատներից անջատված ինուլինը հեշտ են յուրացվում «Նարինե» շտամի կողմից, այն դեպքում, երբ ճարճատուկից անջատվածը գրեթե չի յուրացվում: Աճի պահպանմամբ և կենսազանգվածի կուտակմամբ լակտուլոզը և կապտուկ մեծի արմատներից անջատված ինուլինը շատ քիչ են զիջում գլյուկոզին:

Պրոբիոտիկ - պրեբիոտիկ - սինբիոտիկ - ինուլին - լակտուլոզ

Effectiveness of utilization of plant inulins and lactulose by probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* Er 307/412 “Narine” in vitro has been studied. A method of recovery and purification of inulins from various plants has been elaborated. It is revealed, that lactulose and inulin obtained from Burdock common (*Arctum lappa*) roots are easily consumed by strain “Narine”, whereas inulin obtained from chicory roots is consumed slightly. On maintenance of growth and accumulation of biomass lactulose and inulin selected from burdock a little bit concede glucose.

Probiotic – prebiotic – symbiotic – inulin – lactulose

В настоящее время для коррекции микробиоценоза желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), улучшения функционирования пищеварительного тракта, профилактики и лечения дисбактериозов широко применяются пребиотики, к которым относятся неперевариваемые ингредиенты пищи, способствующие улучшению

здоровья за счет избирательной стимуляции роста и/или метаболической активности пробиотиков, обитающих в толстой кишке [3, 9]. Чтобы компонент пищи был классифицирован как пребиотик, он не должен подвергаться гидролизу пищеварительными ферментами человека и абсорбироваться в верхних отделах пищеварительного тракта, однако должен являться селективным субстратом для роста и/или метаболической активации одного вида или определенной группы микроорганизмов, заселяющих толстый кишечник, приводя к нормализации их соотношения [5, 7, 8]. Природный пребиотик – инулин выделяют из клубней/корней топинамбура, лопуха, цикория и других растений [6, 11, 13]. В зависимости от растительного источника инулины различаются по степени полимеризации. Они состоят из одной терминальной молекулы глюкозы и 10-60 молекул фруктозы [3, 4, 13, 14]. Большинство инулинов состоят из 34-35 звеньев, в их составе присутствуют также (10-15%) молекулы с низкой степенью полимеризации, так называемые инулиды или фруктоолигосахариды (ФОС), содержащие глюкозу и 2-12 остатка фруктозы [3]. Инулины с высокой степенью полимеризации в холодной воде практически не растворимы. Эффективность усвоения инулина пробиотиками зависит от степени его полимеризации. Для повышения усвояемости инулины с длинными цепями подвергают частичному ферментативному гидролизу, в результате которого образуются ФОС.

В отличие от инулина, лактулоза – синтетический дисахарид, не встречающийся в природе, состоящий из остатков молекул галактозы и фруктозы, соединенных гликозидной связью [1,10]. С целью повышения эффективности пробиотики и пребиотики используют совместно в форме синбиотиков [3, 5], перед созданием которых необходимо изучить степень усвоения пребиотика пробиотиком.

Целью настоящей работы являлось выделение и изучение эффективности усвоения инулинов, выделенных из различных растений, а также лактулозы штаммом *L. acidophilus* Ep 307/412 в условиях *in vitro*.

Материал и методика. Культуру *Lactobacillus acidophilus* Ep 307/412 (ИНМИА-9602) получили из РЦДМ, г. Абовян, РА. Дикорастущие растения лопуха большого (*Arctium lappa*), цикория (*Cicorium intybus*) были собраны на территории Армении. Культуры лактобацилл выращивали на качалке в жидкой среде LAPT [15] при 37⁰C, куда в качестве единственного источника углерода добавляли 1% глюкозы, инулина или лактулозы. Оптическую плотность культур (ОП) измеряли на фотоколориметре КФК-2 МП при длине волны 590 нм.

Сбор корней производили поздней осенью или ранней весной. Растительное сырье тщательно промывали, измельчали и сушили при комнатной температуре, избегая прямого попадания света. Извлечение инулинов осуществляли кипячением с последующей фильтрацией. Инулин из растворов выделяли путем глубокого замораживания (от –22° до –24°С) и размораживания при комнатной температуре, а в осадке определяли в соответствии фармакопейным статьям Британии [16]. Осадок обрабатывали концентрированной HCl с последующим добавлением α -нафтола. Появление розовато-красной окраски свидетельствовало о наличии инулина.

Статистический анализ полученных данных осуществляли с использованием компьютерного теста Стьюдента, принимая уровень $p < 0.05$ достаточным для достоверной разницы в результатах.

Результаты и обсуждение. Выделение и очистка инулина. Инулин, в отличие от других полисахаридов, не осаждается 78%-ным спиртом, по этой причине долгое время со стороны Food and Drug Administration (FDA) не регистрировался в качестве пищевой добавки. Принимая во внимание сильную зависимость растворимости инулина от температуры, в водных экстрактах его осаждали путем замораживания при температурах –20°, –24°С с последующим размораживанием при комнатной температуре. Последовательность действий, начиная со сбора сырья, его подготовки, водной

экстракции, затем выделения и очистки инулина, приведена на рис. 1. По указанной методике из лопуха и цикория удалось извлечь до 28 % и 33 % инулина соответственно.

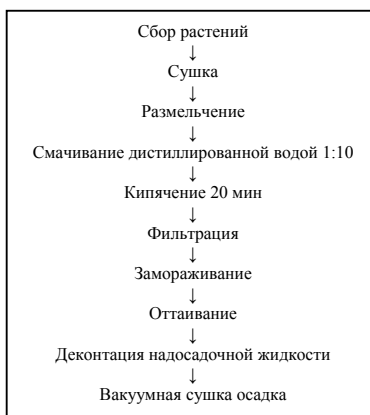


Рис. 1. Схема выделения инулина из корней растений

Изучалось влияние полученных инулинов на рост и накопление биомассы отечественного пробиотика *L. acidophilus* Ер 317/402. Опыты проводили на среде ЛАРТ, куда в качестве основного источника углерода добавляли по 1,0 % глюкозы, инулины лопуха (ИЛ) и цикория (ИЦ). После инокуляции указанных ростовых сред суточной культурой *L. acidophilus* Ер 317/402 колбы инкубировали при 37°C на водяной качалке и периодическим измерением ОП следили за ростом культур. Кривые роста штамма Ер 317/402 на средах, содержащих инулин лопуха и цикория (контроль-глюкоза), представлены на рис.2.

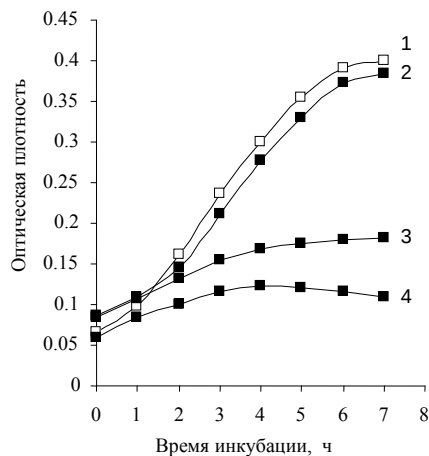


Рис. 2. Динамика роста культуры *Lactobacillus acidophilus* в бульоне ЛАРТ, содержащем инулины, выделенные из различных растений:
 1 – ЛАРТ + глюкоза; 2 – ЛАРТ + инулин лопуха;
 3 – ЛАРТ + инулин цикория; 4 – ЛАРТ-контроль

Как видно из рис.2, культура, растущая на ИЛ, по скорости роста незначительно уступает культуре, растущей на глюкозе. В то же время рост культуры на инулине, выделенном из цикория, как и у контрольной культуры, после 3-х часов постепенно останавливается. Как следует из полученных данных, ИЦ плохо усваивается штаммом Ер 317/402. Наблюдаемый незначительный рост по сравнению с контролем, по-видимому, происходит за счет низкомолекулярных инулидов, присутствующих в препаратах сырых инулинов [13]. Другими авторами тоже показано, что инулин, выделенный из цикория, *in vitro* плохо усваивается лактобациллами [5, 13]. Для повышения его усвояемости необходимо проводить неполный ферментативный гидролиз, в результате которого образуются легкоусвояемые фрукто-олигосахариды (ФОС) и олигофруктаны (ОФ). Можно также предположить, что высокая эффективность усвоения инулина лопуха штаммом Ер 317/402 обусловлена низкой степенью его полимеризации, а также высоким содержанием легкоусвояемых ФОС и ОФ.

Известно, что вязкость растворов полисахаридов находится в прямой зависимости от степени их полимеризации или разветвленности, в связи с чем было бы интересно определение сравнительной вязкости инулинов, выделенных из лопуха и цикория. Данные по определению вязкости 10 %-ных растворов ИЛ и ИЦ представлены на рис. 3. Как видно из рис. 3, вязкость водного раствора ИЦ на 30 % выше, чем у ИЛ, что свидетельствует о более высокой степени полимеризации инулина, выделенного из цикория, так как полимеры инулинов редко бывают разветвленными.

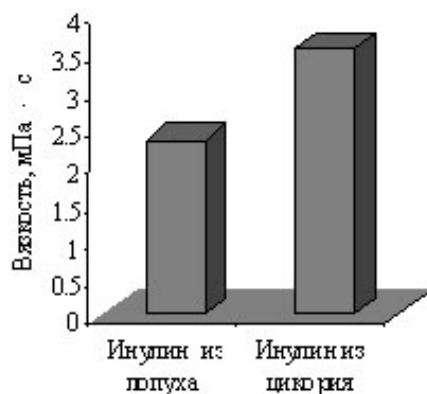


Рис. 3. Вязкость 10%-ных водных растворов инулинов, выделенных из лопуха и цикория.

Кисломолочный продукт “Нарине” широко используется в детском питании в качестве заменителя материнского молока. Как известно, в материнском молоке присутствует аналог лактулозы, который играет важную роль в формировании кишечного микробиоценоза у ребенка. В связи с этим очень важно изучить эффективность усвоения лактулозы штаммом Ер 307/412 для ее использования в качестве добавки к кисломолочному продукту “Нарине”, предназначенному как для детей, так и для взрослых, а также с целью создания синбиотиков в виде капсул или таблеток.

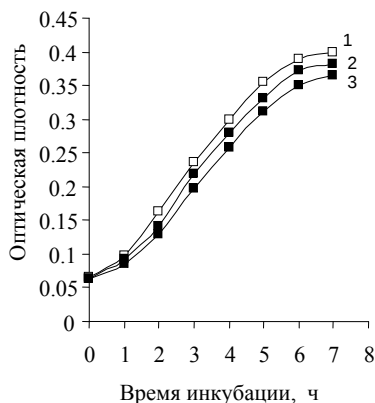


Рис. 4. Динамика роста культуры *Lactobacillus acidophilus* в бульоне LAPT, содержащем лактулозу. 1 - LAPT + глюкоза, 2 - LAPT + 20 мкг/мл лактулозы, 3 - LAPT + 40 мкг/мл лактулозы

На рис. 4 представлены данные по скорости роста и накоплению биомассы у штамма *L. acidophilus* Ер 307/412 на среде, содержащей в качестве основного источника углерода лактулозу (контролем служила глюкоза). Полученные результаты показывают, что исследуемая культура хорошо усваивает лактулозу и по росту и накоплению биомассы незначительно уступает культуре, растущей на среде, содержащей глюкозу. Большой разницы между 1%-ной и 2%-ной концентрациями лактулозы не было обнаружено, повышение ее концентрации даже слегка замедляло рост культуры.

Согласно последним исследованиям американских ученых, пробиотики обладают специфической, генетически детерминированной способностью транспорта ФОС и ОФ во внутрь клетки и их утилизации [2]. Согласно нашим данным и данным других авторов, существует некая критическая степень полимеризации (молекулярная масса), выше которой затрудняется транспорт инулина в клетку [3, 5, 13]. Непосредственное усвоение ИЛ и лактулозы лактобациллами позволяет употреблять их в составе синбиотиков, упакованных в капсулы и таблетки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каширская Н. Ю. Значение пробиотиков и пребиотиков в регуляции кишечной микрофлоры. Русский медицинский журнал, с. 13-14, 2000.
2. Barrangou R., Altermann E., Hutkins R., Cano R., Klaenhammer R. Functional and comparative genomic analyses of an operon involved in fructooligosaccharide utilization by *Lactobacillus acidophilus*. PNAS, 100, 15, 8957-8962, 2003.
3. Beirão-da-Costa M. L., Januário M. I.N., Leitão A. E. B., Simão F. M. L.S. Characterisation of inulin from chicory and salsify cultivated in Portugal. 2nd Mercosur Congress on Chemical Engineering. 4th Mercosur Congress on Process Systems Engineering. 1-9, 2005.
4. Biedrzycka, E. Prebiotic effectiveness of fructans of different degrees of polymerization. Food Science and Technology, 15, 170-175, 2004.
5. Collins M.D., Gibson G.R. Probiotics, prebiotics and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. The American Journal of Clinical Nutrition, 69, 1052-1057, 1999.

6. *Foster S., Games D.A.* Medical Plants and Herbs, New York, 2000.
7. *Gibson G.R.* Dietary modulation of the human gut microflora using the prebiotics oligofructose and inulin. *J Nutr; Suppl.*, 129, 7, 1438-1441, 1999.
8. *Gibson G.R., Roberfroid M.B.* Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr*, 125, 1401-1412, 1995.
9. *Kailasapathy K.A., Chin J.* Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. *Immunol Cell Biol.*, 78, 80-88, 2000.
10. *MacGillivray P.C., Finlay H.V.L., Binns T.B.* Use of lactulose to create a preponderance of lactobacilli in the intestine of bottle-fed infants. *Scott Med J*, 4, 182-189, 1959.
11. *Macrae, R., Robinson, R. K., Sadler, M. J. (Ed.).* Encyclopedia of Food Science. Food Technology and Nutrition. Academic Press. 2, 863-867, 1993.
12. *Niness K.R.* Inulin and Oligofructose: What Are They? *J. Nutr.*, 129, 1402-1406, 1999.
13. *Roberfroid M.B.* Prebiotics and probiotics: are they functional foods? *Am. J. Clin. Nutr. Suppl.*, 71, 6, 1682-1687, 2000.
14. *Suzuki M.* Fructans in crop production and preservation, In: Suzuki, M.; Chatterton, N. J. (ed), Science and Technology of Fructans, CRC Press, pp. 227-255, 1993.
15. *Vanengelgem F., Zamfir M., Adriany T., De Vuyst L.* Biodiversity of Exopolysaccharides Produced by *Streptococcus thermophilus* Strains Is Reflected in Their Production and Their Molecular and Functional Characteristics. *Journal of Applied Microbiology*, 97, 2, 1257-1273, 2004.
16. British herbal Pharmacopoeia, London British Herbal Assotetion, 1997.

Поступила 25.10.2011



Биол. журн. Армении, 2 (64), 2012

ЖИРНОКИСЛОТНАЯ МОДИФИКАЦИЯ ЛИПИДОВ В МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТКАХ КРОВИ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ЯИЧНИКОВ

Т.Р. ТОРГОМЯН, М.П. ЛАЗЯН, А.Г. ДАВТЯН, Т.Б. БАТИКЯН,
Р.А. КАЗАРЯН, К.А. АЛЕКСАНИАН*, Г.М. ГАЛСТЯН*,
Ю.В. ТАДЕВОСЯН

*Институт молекулярной биологии НАН РА

**Национальный центр онкологии им. В.Фанарджяна, МЗ РА
tigran.torgomyan@gmail.com

Исследованы закономерности кратковременного (5 с) включения и относительно длительного (60 мин) межфракционного перераспределения экзогенной [^{14}C]олеиновой кислоты (ОК) в различные фракции фосфолипидов (ФЛ) и нейтральных липидов (НЛ) мононуклеарных клеток (МНК), выделенных из периферической крови практически здоровых доноров и больных раком молочной железы (РМЖ) и яичников (РЯ).

Полученные данные свидетельствуют о достоверных и идентичных нарушениях в механизмах как быстрого, так и пролонгированного ОК-модификаций липидов МНК периферической крови при РМЖ и РЯ.

Делается заключение о вовлечении процессов ОК-модификации жирнокислотного состава ФЛ и НЛ клеточных мембран МНК крови в патогенез различных форм онкологических заболеваний. Полученные данные свидетельствуют также о специфичности сдвигов в отмеченных процессах для отдельных форм неоплазий в зависимости от типа исследованной ЖК.

*Мононуклеарные клетки – липиды – олеиновая кислота –
рак молочной железы – рак яичников*

Նորմայում և կրճազեղծի (ԿԶ) ու ձվարանների (ՁԶ) քաղցկեղների ժամանակ ծայրամասային արյան մոնոնուկլեարային բջիջներում (ՄՆԲ) ուսումնասիրվել են ֆոսֆոլիպիդների (ՖԼ) և չեզոք լիպիդների (ՉԼ) տարբեր բաղադրամասեր էկզոգեն [^{14}C]օլեինաթթվի (ՕԹ) արագ (5 վ) ներմուծման և տևական (60 րոպե) միջբաղադրամասային վերաբաշխման օրինաչափությունները:

Ստացված տվյալները վկայում են ԿԶ և ՁԶ ժամանակ ՄՆԲ լիպիդների ՕԹ-ով մոդիֆիկացման ինչպես արագ, այնպես տևական գործընթացներում հավաստի և նույնատիպ խանգարումների առկայության մասին:

Եզրակացություն է արվում տարբեր չարորակ նորագոյացությունների ախտածնության մեջ ծայրամասային արյան ՄՆԲ բջջաթաղանթների ՖԼ և ՉԼ բաղադրամասերի ՕԹ-ով մոդիֆիկացման գործընթացների ներգրավման մասին: Ստացված տվյալները վկայում են նաև տարատեսակ քաղցկեղների ժամանակ նշված գործընթացներում առկա խանգարումների յուրահատկությունների մասին՝ կախված ուսումնասիրված ճարպաթթվի տեսակից:

*Մոնոնուկլեարային բջիջներ – լիպիդներ – օլեինաթթու –
կրճազեղծի քաղցկեղ – ձվարանների քաղցկեղ*

Quick (5 sec) incorporation of exogenous [^{14}C]oleic acid (OA) into the phospholipid (PL) and neutral lipid (NL) diverse fractions and its long-term (60 min) interfractional conversions in crude mononuclear cells (MNC) isolated from the peripheral blood of patients with breast (BC) and ovarian (OC) cancers in comparison with the healthy people were investigated.

The data obtained provide evidence for reliable and identical disturbances in the MNC membrane lipids in the quick and long-term OA-modification mechanisms in BC and OC.

It is concluded that some of the mechanisms responsible for PL and NL fatty acid-content modification by OA peripheral blood MNC are involved in the pathogenesis of BC and OC. Notably, alterations revealed are specific for different forms of cancer in dependence to the fatty acid type used.

Mononuclear cells – lipids – oleic acid – breast cancer – ovarian cancer

Злокачественное новообразование в настоящее время рассматривается как многостадийное системное заболевание, при возникновении которого некоторые из патологически трансформированных клеток по не до конца выясненным причинам не обнаруживаются и не уничтожаются иммунной системой, давая начало опухолевому зачатку с последующим его развитием и распространением.

Известно, что при возникновении онкологического процесса под воздействием на клетку экзогенных или эндогенных канцерогенных факторов затрагиваются такие жизненно важные функции клетки, как генетический контроль над ее пролиферацией [11] или дифференциацией, межклеточные контакты [22], трансмембранные процессы [12] и др., в осуществлении которых ключевую роль играет плазматическая мембрана (ПМ) клетки.

Согласно современным представлениям, ПМ клетки представляет собой целостную, кооперативно функционирующую систему, состоящую из различных относительно автономных липопротеиновых доменов (сигнальные, транспортные и др.) [5, 22]. В состоянии покоя клеток как ПМ в целом, так и отдельные ее домены характеризуются строго специфичным и динамичным равновесием всех качественно-количественных, физико-химических, обменных, структурных и других параметров, совокупность которых, по нашим представлениям, определяет относительно стабильный “метаболический статус покоя” липопротеинового бислоя.

При воздействии на клетку любого внешнего сигнала в зависимости от его длительности и интенсивности происходит обратимое, либо необратимое, кратковременное или хроническое смещение исходного и установление нового, измененного метаболического статуса покоя ПМ. При этом в быстропотекающих процессах изменения липопротеинового бислоя ПМ участвует в основном внутримембранный потенциал модификационных механизмов. При относительно длительном воздействии внешних факторов в отмеченные процессы вовлекаются также и внутриклеточные кооперативные механизмы изменения метаболического статуса покоя ПМ.

Липидное составляющее липопротеинового бислоя ПМ, наиболее чувствительно реагирующее на внешние физиологические или патогенные сигналы, вовлекается в процессы реорганизации ПМ быстрыми и обратимыми сдвигами в активности реакций липидной модификации. Вследствие этого в липидном микроокружении различных мембраносвязанных белков изменяются исходные и устанавливаются новые, оптимальные условия для их нормального функционирования. Исходя из результатов ранее проведенных нами исследований [5-8], а также данных литературы [19], подобные сдвиги в модификации мембранных липидов выявляются уже с первых секунд действия на клетку внешних сигналов.

В настоящее время внимание ученых привлекают главным образом изменения структурно-функциональных особенностей белкового компонента ПМ клеток при возникновении и развитии онкологических заболеваний. Однако все еще недостаточно изучены [2-4, 8] специфические или неспецифические сдвиги в механизмах модификации липидного составляющего (естественного микроокружения мембранных белков) липопротеинового бислоя ПМ клеток при неоплазиях. В этом отношении особого внимания заслуживают сдвиги в процессах быстрой или пролонгированной модификации жирнокислотного состава различных мембранных липидов при раковых заболеваниях.

Литературные данные последних лет свидетельствуют [18] о важной роли иммуносупрессорных CD4+, CD25++ и FOXP3 экспрессирующих регуляторных Т-лимфоцитов (Трег) в процессах возникновения и развития разнообразных злокачественных опухолей. Превалирование Трег в периферической крови больных с различными формами новообразования, по всей вероятности, приводит к нарушению в организме больных нормального баланса про- и антиракового потенциалов иммунной системы [17]. На основании этого нами было предположено, что изучение нарушений в механизмах модификации липидов ПМ в общей массе мононуклеарных клеток (МНК) периферической крови больных при различных злокачественных новообразованиях может быть весьма информативным как для выявления, так и оценки глубины патологического состояния.

Ранее нами были выявлены идентичные нарушения в процессах модификации жирнокислотного состава липидов экзогенной полиненасыщенной арахидоновой кислотой (АК) в МНК периферической крови больных с различными формами злокачественных новообразований [5, 6, 20]. Согласно имеющимся данным, в норме мононенасыщенная олеиновая кислота (ОК) также вовлекается в процессы сигнальной трансдукции [12] или стабилизации мембранных структур [16] в качестве регулятора текучести липидного бислоя. Однако в научной литературе отсутствуют данные о возможных нарушениях в механизмах ОК-модификации липидов мембран МНК при отдельных формах неоплазий.

В настоящей работе представлены результаты сравнительных исследований процессов кратковременного (5 с) включения экзогенной [^{14}C]ОК в различные фракции фосфолипидов (ФЛ) и нейтральных липидов (НЛ) и ее относительно более длительного (60 мин) межфракционного перераспределения в ПМ МНК, выделенных из периферической крови практически здоровых доноров и больных раком молочной железы (РМЖ) или яичников (РЯ).

Материал и методика. В работе использованы пробы периферической крови 10-и практически здоровых доноров, 7-и первичных больных с РМЖ (стадии T1N0M0 и T2N1M0) и 5-и больных с РЯ (стадия T3NxM1) по классификации TNM. Пробы крови были предоставлены Национальным центром онкологии имени В.Фанарджяна МЗ РА. МНК из цельной крови выделяли методом Иннеса и др. [14] в градиенте фикола-верографина (1 часть 32,8% верографина и 2,4 части 8%-ного водного раствора фикола 400 000, $d=1,076-1,077$). Интактность клеток, определяемая окрашиванием трипановым синим, составляла более 90%. При чрезмерном загрязнении МНК эритроцитами последние лизировали гипотоническим шоком. МНК осаждали при 650g в течение 15 мин и ресуспендировали (106 кл./мл) в минимальной основной среде Игла (pH-7,4).

Включение экзогенной 1-[^{14}C]ОК в липиды ПМ интактных клеток осуществляли ранее описанным методом [5]. Для этого при 37 °C к 0,2 мл клеточной суспензии добавляли 0,3 мл среды Игла (фирмы "Sigma", pH 7,4), содержащей 0,1 мкКи 1-[^{14}C]олеоил-KoA (сп. акт. 56 мКи/ммоль, "Amersham International", Великобритания) и 50 мкмоль MgCl_2 , в конечном объеме 0,5 мл. На 5 с и 60 мин инкубации реакции останавливали подливанием 2 мл холодной смеси хлороформ-метанола (1:2, об/об).

Экстракцию липидов осуществляли по методу Блай и Дайер [9]. Фракционирование ФЛ проводили одномерной ТСХ на приготовленных нами на основе силикагеля "Н" ("Sigma", США) пластинках в системе растворителей хлороформ-ацетон-метанол-уксусная кислота-вода

(6:8:2:2:1, об/об). НЛ фракционировали в смеси растворителей петролейный эфир – диэтиловый эфир – муравьиная кислота (30:10:1, об/об) на фирменных (“Merck”, Германия) ТСХ пластинках.

Распределение радиоактивности в идентифицированных соответствующими химически чистыми стандартами (“Sigma”, США) и проявленных в парах йода липидных фракциях определяли сканированием ТСХ пластинок на радиосканере фирмы “Berthold” (Германия). Степень радиоактивности проб определяли в жидкости Брея на сцинтилляционном спектрометре “Roche-Bioelectronique Kontron”, модель SL-4221 (Франция). Достоверность разности средних показателей оценивали по критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Результаты исследования процессов быстрого (5 с) включения ОК в мембранные ФЛ МНК практически здоровых доноров обнаружили (рис.1.А) почти равномерное (в пределах 9-15% от суммы включенной радиоактивности) распределение жирной кислоты (ЖК) между всеми ФЛ фракциями. В МНК больных с РМЖ и РЯ в идентичных условиях эксперимента были выявлены (рис.1.А) в основном схожие нарушения в процессах быстрого включения экзогенной ОК в исследованные ФЛ фракции.

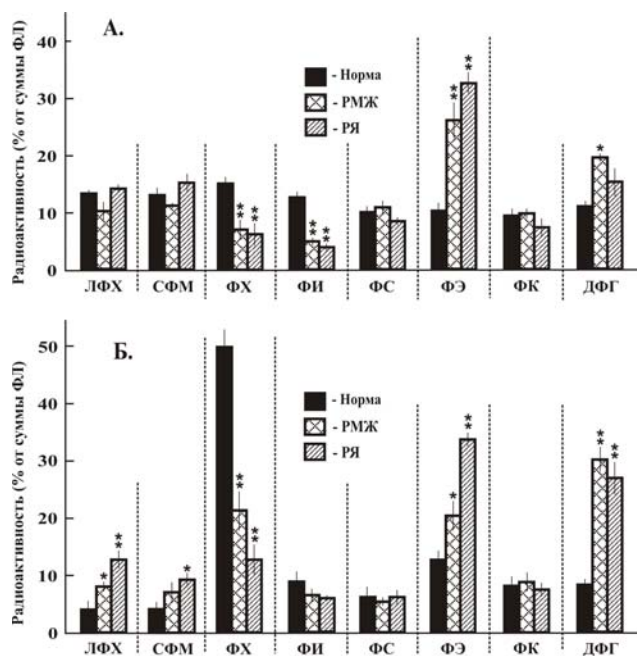


Рис. 1. Быстрое (5 с) (А.) включение экзогенной [^{14}C]олеиновой кислоты в фосфолипиды мононуклеарных клеток крови и ее пролонгированное (60 мин) (Б.) межфракционное перераспределение в норме, при раке молочной железы и раке яичников. * - $p < 0,5$; ** - $p < 0,001$

Наиболее значимым было многократное или значительное усиление процессов накопления ОК во фракции фосфатидилэтаноламинов (ФЭ) и дифосфатидилглицеринов (ДФГ) соответственно. При этом исследованные 2 формы неоплазий характеризовались также идентичным многократным подавлением процессов включения ОК во фракции фосфатидилхолинов (ФХ) и фосфатидилинозитов (ФИ). Уровни остальных [^{14}C]ОК-содержащих ФЛ фракций (лизофосфатидилхолинов - ЛФХ, сфингомиелинов - СФМ, фосфатидилсеринов - ФС и фосфатидных кислот - ФК) оставались в пределах нормы.

На основании представленных экспериментальных данных можно заключить, что при РМЖ и РЯ по сравнению со здоровыми волонтерами обнаруживаются закономерные и существенные нарушения в исходных, равномерно-сбалансированных в норме процессах быстрого (5 с) включения экзогенной ОК в различные фракции мембранных ФЛ МНК.

В условиях относительно пролонгированной (60 мин) инкубации [^{14}C]ОК с МНК здоровых доноров было выявлено (рис.1.Б) межфракционное перераспределение метки с наибольшим (50%) ее накоплением во фракции ФХ, количественно преобладающей во внешнем монослое ПМ клеток. Подобная закономерность, ранее выявленная [1, 6, 7] и в других клеточных популяциях при эстерификации ФЛ различными экзогенными ЖК, указывает на наличие в ПМ клеток специфических механизмов, обеспечивающих избирательное накопление различных ЖК во фракции ФХ при относительно длительных процессах ацилирования мембранных ФЛ.

Изучение процессов включения и перераспределения [^{14}C]ОК в ФЛ мембран МНК в течение 60 мин при РМЖ и РЯ показало (рис.1.Б.) достоверное повышение относительного содержания фракций ЛФХ, СФМ, ФЭ и ДФГ на фоне многократного подавления (по сравнению с нормой) процессов накопления ОК во фракции ФХ. Характерно, что схожие сдвиги в процессах пролонгированного включения различных ЖК в ФЛ фракции (кроме ФЭ) ранее были выявлены и при гемобластозах [1, 3, 5]. Обнаруженное понижение уровня [^{14}C]ОК-ФХ при всех исследованных нами формах раковых заболеваний, по всей вероятности, является следствием подавления реакции реацилирования ЛФХ, о чем свидетельствуют полученные нами данные [15]. С другой стороны, известен также механизм быстрого пополнения пула ФХ в наружном монослое ПМ, осуществляемый по схеме $\text{ФС} \rightarrow \text{ФЭ} \rightarrow \text{ФХ}$ [21]. Обнаруженное нами повышение ФЭ при РМЖ и РЯ на фоне низкого содержания ФХ, как в условиях 5 с (рис.1А), так и 60 мин (рис.1Б) инкубаций, указывает на возможное подавление ферментативных реакций двухэтапного трансметилирования ФЭ в цепи межфракционных перестроек близких по структуре 3-х отмеченных ФЛ фракций.

Таким образом, результаты этой серии исследований свидетельствуют о подавлении при РМЖ и РЯ процессов как быстрого (5 с) включения, так и относительно пролонгированного (60 мин) накопления экзогенной ОК во фракции ФХ в ПМ МНК, как результат возможного ингибирования реакций, катализируемых ЛФХ-ацилтрансферазой и/или ФЭ-трансметиلاзами.

Исследование закономерностей быстрого (5 с) включения [^{14}C]ОК в НЛ мембран МНК здоровых доноров выявило преимущественное (более чем 50%) накопление метки во фракции 1,2-диацилглицеринов (1,2-ДАГ) (рис.2.А). Содержание фракций моноацилглицеринов (МГ) и триацилглицеринов (ТГ) не превышало 25% от суммы радиоактивности, включенной в НЛ. Результаты аналогичных экспериментов с клетками больных с РМЖ и РЯ не обнаружили (рис. 2.А) значительных сдвигов (по сравнению с нормой) в процессах быстрого включения ОК в исследуемые фракции НЛ, за исключением достоверного повышения и понижения при РЯ содержания ОК во фракциях МГ и 1,2-ДАГ соответственно.

При относительно пролонгированном (60 мин) ацилировании НЛ МНК в норме обнаруживалось (рис.2.Б) накопление [^{14}C]ОК во фракциях МГ, 1,2-ДАГ и ТГ в соотношении 22, 35 и 43% соответственно. Известно, что в клетках молекула глицерина является одним из предпочитаемых субстратов для эстерификации различных свободных ЖК с образованием МГ [13]. В результате последующих ферментативных реакций ацилирования по схеме $\text{МГ} \rightarrow 1,2\text{-ДАГ} \rightarrow \text{ТГ}$ в клетках из МГ поэтапно синтезируются фракции 1,2-ДАГ и ТГ, последний из которых выполняет функцию временного “депо” для накопления избытка свободных ЖК [10, 13].

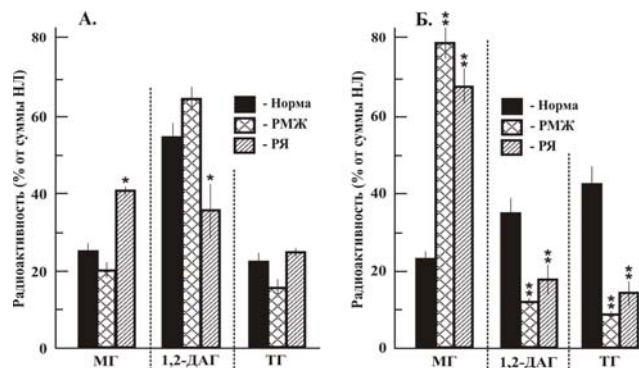


Рис. 2. Быстрое (5 с) (А.) включение экзогенной [^{14}C]олеиновой кислоты в нейтральные липиды мононуклеарных клеток крови и ее пролонгированное (60 мин) (Б.) межфракционное перераспределение в норме, при раке молочной железы и раке яичников.

В отличие от нормы, как при РМЖ, так и РЯ наблюдалось (рис.2.Б) преимущественное (70-80%) накопление метки во фракции МГ ПМ МНК на фоне многократного понижения уровней ОК-содержащих 1,2-ДАГ и ТГ. Эти данные указывают на возможное блокирование механизмов межфракционного перераспределения ОК при исследованных двух формах неоплазий, вследствие подавления активности МГ-ацилтрансферазы, инициирующей последующие реакции поэтапного ацилирования НЛ в МНК. Характерно, что отмеченная закономерность нарушений в процессах пролонгированной ОК-модификации НЛ при РМЖ и РЯ не была обнаружена [1,3] при различных гемобластозах, исследованных ранее в идентичных условиях эксперимента. С другой стороны, нарушения, выявленные при использовании экзогенной [^{14}C]АК для ЖК-модификации НЛ в МНК периферической крови больных с 3-мя различными формами лейкемии [3, 5, 6], были абсолютно идентичны с таковыми, обнаруженными при РМЖ и РЯ (неопубликованные данные).

Обобщая представленные выше и полученные ранее экспериментальные данные, можно заключить о достоверном вовлечении в патогенез различных форм онкологических заболеваний как быстрых, так и относительно пролонгированных процессов ОК-модификации жирнокислотного состава ФЛ и НЛ клеточных мембран МНК. Полученные данные свидетельствуют также о специфичности сдвигов в отмеченных процессах для отдельных форм неоплазий в зависимости от типа исследованной ЖК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Մելքոնյան Մ., Լիմֆոցիտների թաղանթային լիպիդներում օլեինաթթվի ներմուծման օրինաչափությունները նորմայում և սուր միելոբլաստային լեյկոզի ժամանակ: Գիտություն և տեխնիկա, հ.6, էջ 12-19, 2006:
2. Акопян Г.В. Закономерности включения пальмитиновой кислоты в липиды мембран лимфоцитов в норме и при острой лимфобластной лейкемии. Наука и техника, 5, 513, стр. 12-18, 2006.
3. Гарибян А.Л., Батикян Т.Б., Асатрян Л.Ю., Тадевосян А.Ю., Амирханян Е.С., Тадевосян Ю.В. Исследование процессов липидной модификации лимфоцитарных мембран в норме и при хроническом лимфолейкозе. Мед. наука Армении, 39, 3, с. 41-50, 1999.

4. *Гарибян А.Л., Батикян Т.Б., Амирханян Е.С., Мелконян М.Г., Акопян Г.В., Тадевосян Ю.В.*, Липидные модификации в мембранах лимфоцитов при хроническом лимфолейкозе: Эффекты химиотерапии. Сб. статей научной сессии "Медицинская диагностика", (фундаментальные и прикладные аспекты), Ереван, с. 69-74, 2001.
5. *Мелконян М.Г., Акопян Г.В., Тадевосян А.Ю., Батикян Т.Б., Амирханян Е.С., Альтман А., Тадевосян Ю.В.* Ацилирование липидов арахидиновой кислотой и образование липидных вторичных посредников в анти-CD3/CD28 костимулированных лимфоцитах в норме и при различных формах лейкемии. Мед.наука Армении, 2, стр.56-63, 2007.
6. *Тадевосян А.Ю., Батикян Т.Б., Асатрян Л.Ю., Гарибян А.Л., Мелик-Андреасян М.Г., Геворкян Э.С., Тадевосян Ю.В.* Закономерности включения арахидиновой кислоты в липиды мембран нормальных и лейкемических лимфоцитов. Мед. наука Армении, 39, 3, стр. 33-40, 1999.
7. *Тадевосян Ю.В., Асатрян Л.Ю., Карагезян К.Г.* Процессы деацилирования мембранных фосфолипидов при инициации фосфоинозитидного цикла в синаптических крыс и лимфоцитах человека. Нейрохимия, 11, 2, стр. 194-2015, 1992.
8. *Тадевосян Ю.В., Асатрян Л.Ю., Батикян Т.Б., Карагезян К.Г., Тадевосян А.Ю.* Катаболизм мембранных фосфатидилхолинов в лимфоцитах на ранних стадиях митогенной стимуляции фосфоинозитидного цикла. Биохимия, 61, вып. 8, стр. 1414-1421, 1996.
9. *Bligh E.G., Dyer W.I.* A rapid method for lipid extraction and purification Canad.J. Biochem.Physiol., 37, p. 911-917, 1959.
10. *Coleman, R., Haynes E.* Subcellular location and topography of rat hepatic monoacylglycerol acyltransferase activity. Biochem.Biophys. Acta, 834, pp. 180-187, 1985.
11. *Dowhan W., Mileykovskaya E., Bogdanov M.,* Diversity and versatility of lipid-protein interactions revealed by molecular genetic approaches. Biochim. Biophys. Acta. 1666, 1-2, pp. 19-39, 2004.
12. *Gong Y, Zhang Z.* Alternative signaling pathways: when, where and why? FEBS Lett., 579, 24, pp. 5265-5274, 2005.
13. *Igal R.A., Whang S., Gonzalez-Baro M., and Coleman R.A.* Mitochondrial glycerol phosphate acyltransferase directs the incorporation of exogenous fatty acids into triacylglycerol. J. Biol. Cem., 276, pp. 42205-42212, 2001.
14. *Innes J., Runtz M.M., Kim Y.T. Weksler M.E.* Induction of suppressor activity in the autologous mixed lymphocyte reaction and in cultures with ConA. J. Clin. Invest. 64, pp. 1608-1613, 1979.
15. *Hakobyan G.V., Batikyan T.B., Kazaryan R.A., Amirkhanyan E.S., Tadevosyan Yu.V.* Phospholipid-catabolizing enzyme activities in blood lymphocyte plasma membranes in hematological malignancies Biol. J. Arm., LXII, (suppl. 1), pp. 36-40, 2010.
16. *Leekumjorn S., Cho H.J., Wu Y., Wright N.T., Sum A.K., Chan C.* The role of fatty acid unsaturation in minimizing biophysical changes on the structure and local effects of bilayer membranes. Bioch.Biophys. Acta, 1788, pp. 1508-1516, 2009.
17. *Liyanage U.K., Goedegebuure P.S., et al.,* Increased prevalence of regulatory T cells (Treg) is induced by pancreas adenocarcinoma. J. Immunother. 29, 4, pp. 416-424, 2006.
18. *Skog J., Würdinger T., et al.,* Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers. Nat. Cell Biol. 10, 12, pp. 1470-1476, 2008.
19. *Suzuki K.G.N., Fujiwara T.K., et al.,* GPI-anchored receptor clusters transiently recruit Lyn and Gα for temporary cluster immobilization and Lyn activation: single-molecule tracking study. J. Cell Biol., 177, 4, pp. 717-730, 2007.
20. *Torgomyan T.R.,* Acylation of lipids in blood lymphocytes in ovarian cancer. Electronoc Journal of Natural Sciences, NAS RA, Iss.1 (18), pp. 15-19, 2012.
21. *Vance D.E., C.J. Walkey, Z. Cui,* Phosphatidylethanolamine N-methyltransferase from liver. Biochim. Biophys. Acta, 1348, pp. 142-150, 1997.
22. *Vigh L., Escibar P.V., et al,* The significance of lipid composition for membrane activity: New concepts and ways of assessing function Progress in Lipid Research, 44, pp. 303-344, 2005.

Поступила 02.04.2012



Биол. журн. Армении, 2 (64), 2012

ИССЛЕДОВАНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ И ЛИПИДОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ВЫЗВАННОМ СИНДРОМЕ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Л.М. ОВСЕПЯН, Г.С. КАЗАРЯН, М.В. ЛЬВОВ,
А.А. АКОПДЖАНИЯ

Институт молекулярной биологии, НАН РА
lhovsep@mail.ru

Исследовались окислительные процессы при экспериментальном синдроме болезни Паркинсона (БП). Обнаружено увеличение содержания гидроперекисей и малонового диальдегида при экспериментально вызванном синдроме БП. Анализ уровней окислительной модификации белков в ядерной и митохондриальной фракциях показал, что по сравнению с группой интактных животных статистически значимо увеличивается уровень алифатических альдегид- и кетон-динитрофенилгидразонов, что свидетельствует об увеличении интенсивности процесса окислительной деструкции белков при экспериментально вызванном синдроме БП.

*Перекиси липидов – окислительная модификация белка – синдром
болезни Паркинсона*

Ուսումնասիրվել են փորձարարական Պարկինսոնի սինդրոմի (ՊՍ) ժամանակ լիպիդների օքսիդային գործընթացները և սպիտակուցների օքսիդային մոդիֆիկացիաների ցուցանիշները: Լիպիդների գերօքսիդների ուսումնասիրությունը ցույց տվեց, որ հիդրոպերօքսիդների և մալոնային դիալդեհիդի քանակը ավելանում է փորձարարական ՊՍ-ի ժամանակ: Ավելանում է ալիֆատիկ-ալդեհիդ և կետոն-դինիտրոֆենիլհիդրազոնի մակարդակը: Նշված փաստը վկայում է սպիտակուցների օքսիդային պրոցեսների ակտիվացման ինտենսիվության մասին:

*Լիպիդների պերօքսիդներ – սպիտակուցի օքսիդային մոդիֆիկացիա –
Պարկինսոնի հիվանդության սինդրոմ*

The oxidative processes (peroxidation of lipids and proteins) at Parkinson's disease were studied. It was shown that the development of PD led to increase of hydroperoxides and malone dialdehyde in mitochondrial fraction of the brain. The levels of aliphatic aldehyde and ketone dinitrophenyl hydrazones were also increased that suggested the acceleration of oxidative destruction of proteins. It was concluded that the oxidative modification of lipids and proteins occurs at PD and, probably, plays an essential role in pathogenesis and development of this disease.

Lipid – peroxide – oxidative modification protein – Parkinson's disease

Болезнь Паркинсона (БП) – нейродегенеративное заболевание, проявляющееся двигательными, психическими и вегетативными расстройствами. Прогрессирующее течение, недостаточная эффективность терапии, тяжелая инвалидизация, наступающая у большинства больных, превращают БП в серьезную социальную проблему.

В основе двигательных нарушений при БП-тремора, ригидности, олигокинезии лежит первичное поражение дофаминергических нейронов компактной части черной субстанции, что приводит к снижению уровня дофамина (ДА) в стриатуме [4]. Несмотря на многочисленные исследования, первичные причины гибели ДА нейронов при БП остаются невыясненными. Из литературных данных известно, что при данном нейродегенеративном заболевании поражение дофаминергических нейронов черной субстанции и связанное с ним нарушение метаболизма дофамина, всегда сопровождается активацией свободно-радикальных процессов, а тяжесть клинических проявлений достоверно коррелирует с изменением показателей равновесия между про- и антиоксидантными системами [8,13].

В связи с вышеизложенным, целью настоящей работы явилось исследование интенсивности окислительной деструкции белков и липидов в митохондриальной фракции головного мозга у животных с экспериментально вызванным синдромом болезни Паркинсона.

Материал и методика. Эксперименты проводили на беспородных белых старых крысах (возраст 2-2,5 года), содержащихся в условиях вивария. Модель экспериментального синдрома БП осуществляли ежедневным внутрибрюшинным введением МФТП (1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрапиридин) в дозе 25,0 мг/кг в течение 7 дней.

Животные были распределены на 2 группы, в каждой по 10 животных: 1 – интактные; 2 – животные с воспроизведенным синдромом БП. Регистрировали поведенческие характеристики (координацию движений, качание головы, ригидность мышц передних и задних лап, нарушение походки, слюнотечение), которые служили критерием развития болезни.

Ядерную и митохондриальную фракции головного мозга выделяли в среде, содержащей 0,25М сахарозы и 0,01 М трис-НС1 буфера, pH-7,4, методом дифференциального центрифугирования (ядра при 600g, митохондрии – 13000 g) [5].

Об активности ПОЛ судили по количеству образования гидроперекисей (ГП) и малонового диальдегида (МДА). ГП определяли по цветной реакции с тиоционатом аммония при максимуме поглощения 480 нм [6]. МДА определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой [6].

Для количественного определения продуктов окислительной модификации белков (ОМБ) был применен метод, основанный на реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков белков и 2,4-динитрофенилгидразина (ДНФГ) с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов, количество которых определяли спектрофотометрически. Оптическую плотность образовавшихся карбонильных производных динитрофенилгидразонов регистрировали при различных длинах волн: 356 нм – алифатические кетондинитрофенилгидразоны (КДНФГ) нейтрального характера; 370 нм – алифатические альдегиддинитрофенилгидразоны (АДНФГ) нейтрального характера; 430 нм – алифатические КДНФГ основного характера; 530 нм – алифатические АДНФГ основного характера. [9,2]. Белок определяли по Лоури [10].

Результаты и обсуждение. Перекисное окисление изучалось нами в ферментативной (НАДФ-Н-зависимой) и неферментативной (аскорбат-зависимой) системах окисления. Ферментативная НАДФ-Н зависимая система перекисного окисления использует в качестве донора редуцирующих эквивалентов восстановленный НАДФН. Неферментативная аскорбат-зависимая система перекисного окисления использует в качестве восстановителя аскорбиновую кислоту. Изучение процесса

перекисного окисления липидов в субклеточных фракциях головного мозга позволило обнаружить увеличение содержания гидроперекисей и малонового диальдегида при экспериментально вызванном синдроме БП (табл.1). Содержание МДА в ядерной фракции интактных крыс при аскорбат- и НАДФН-зависимом перекислении составило $5,66 \pm 0,56$ и $4,21 \pm 0,3$ соответственно.

Таблица 1. Содержание продуктов перекисного окисления липидов в ядерной фракции (в аскорбат- и НАДФН- зависимой системе окисления липидов) в норме и при экспериментальном синдроме БП (n=7)

Показатели	Аскорбат-зависимое перекисление		НАДФН-зависимое перекисление	
	контроль	синдром БП	контроль	синдром БП
Гидроперекиси Σ /мг белка	$0,58 \pm 0,06$	$0,88 \pm 0,049^*$	$0,48 \pm 0,05$	$0,72 \pm 0,04^*$
МДА/мг белка	$5,66 \pm 0,56$	$9,73 \pm 0,77^{**}$	$4,21 \pm 0,3$	$8,68 \pm 0,4^*$

Примечание: * - $p < 0,001$; ** $p < 0,01$

Таблица 2. Содержание продуктов перекисного окисления липидов в митохондриальной фракции (в аскорбат- и НАДФН-зависимой системе окисления липидов) в норме и при экспериментальном синдроме БП (n=7)

Показатели	Аскорбат-зависимое перекисление		НАДФН-зависимое перекисление	
	контроль	синдром БП	контроль	синдром БП
Гидроперекиси Σ /мг белка	$0,78 \pm 0,06$	$1,3 \pm 0,1^{**}$	$0,55 \pm 0,02$	$0,91 \pm 0,03^*$
МДА/мг белка	$7,32 \pm 0,02$	$12,87 \pm 1,28^{**}$	$5,8 \pm 1,2$	$10,3 \pm 1,4^*$

Особый интерес вызывает исследование процессов перекисления в митохондриальной фракции. Как вытекает из фактического материала, течение реакций перекисления липидов до гидроперекисей более интенсивно протекает в митохондриальной фракции, чем в ядерной. Аналогичная закономерность прослеживается и в интенсивности образования малонового диальдегида. При синдроме БП исходный уровень ТБК-активных продуктов в митохондриальной фракции составил в случае аскорбат-зависимого перекисления $12,87 \pm 1,28$, а в случае НАДФН-зависимого $10,3 \pm 0,4$ нмоль/мг белка, что статистически значимо отличалось от показателей в группе интактных крыс, где данные показатели составили $7,32 \pm 0,02$ и $5,8 \pm 0,2$ нмоль/мг белка. Это указывает на интенсификацию процессов СРО в субклеточных фракциях.

Гидроперекиси и малоновый диальдегид являются продуктами окислительного распада полиненасыщенных жирных кислот (линолевой, линоленовой, арахидоновой) – важнейшими компонентами фосфолипидов биологических мембран.

В молекулах жирных кислот, особенно арахидоновой кислоты, имеется наибольшее количество двойных связей, поэтому они легче подвергаются свободнорадикальному окислению. Отрыв атома водорода от молекулы полиненасыщенных жирных кислот под воздействием активных форм кислорода легче всего происходит в α -положении по отношению к двойной связи. В результате окисления жирных кислот образуются гидроперекиси, которые затем метаболизируются во вторичные – малоновый диальдегид и третичные продукты перекисного окисления липидов. Уровень продуктов перекисного окисления зависит от количества антиоксидантов в клетке. Из литературных данных известно, что при БП в черной субстанции, в противоположность другим отделам мозга, снижено число глиальных клеток, содержащих естественный антиоксидант - глутатион пероксидазу, а также отмечен низкий уровень глутатиона [1,12]. Низкий уровень антиоксидантов сопровождается высоким уровнем активных форм кислорода, об

ладающих цитотоксичными свойствами ингибировать сульфгидрильные группы ферментов и повреждать NH₂- группы мембранных белков.

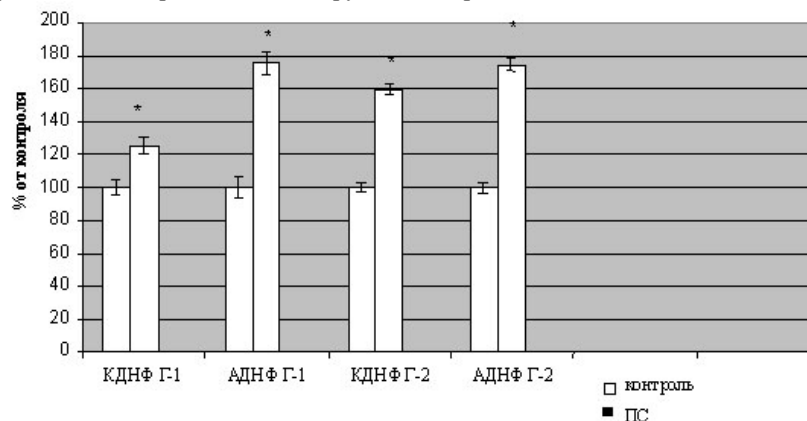
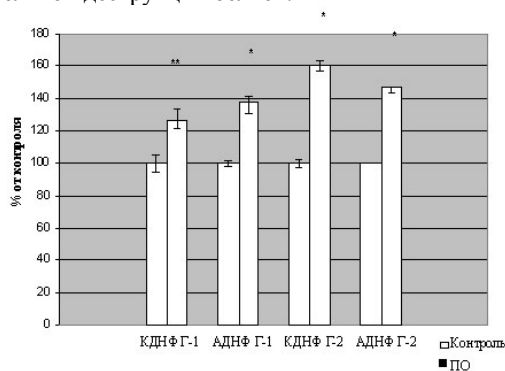


Рис.1. Окислительная модификация белков в ядерной фракции в норме и при БП(n=7)
1-нейтрального характера, 2-основного характера
*-p>0,01

Исходя из этого, мы провели исследование по определению содержания окислительного повреждения белков при моделировании синдрома БП.

На рис. 1,2 даны продукты окисления белков, которые прореагировали с 2,4-динитрофенилгидразином в ядерной (рис. 1), митохондриальной фракциях (рис. 2). На этих рис. представлен процент разницы от контроля образовавшихся 2,4-динитрофенолгидразонов. Анализ уровней окислительной модификации белков во фракциях головного мозга крыс с экспериментальным синдромом БП показал, что по сравнению с группой интактных животных (показатели которых мы приняли за 100%) статистически значимо увеличивается уровень алифатических альдегид- и кетон-динитрофенилгидразонов, регистрируемых при длинах волн 356, 370, 430, 530 нм. Данный факт свидетельствует об увеличении интенсивности процесса окислительной деструкции белков.



Длина волн - 356нм 370нм 430нм 530нм
1-нейтрального характера, 2-основного характера
*-p>0,01

Рис.2. Окислительная модификация белков в митохондриальной фракции в норме и при синдроме БП (n=7).

Из литературных данных [2] известно, что окислительная модификация рассматривается как один из ранних маркеров окислительного стресса. Интенсивность окислительной модификации белков определяется в первую очередь особенностями аминокислотного состава белка. Акцепторными группами, которые способны перехватывать электроны, взаимодействуя с активными формами кислорода и образовывать анион-радикалы, могут служить дисульфидные, сульфгидрильные, карбонильные и карбоксильные и NH- группы белков [3]. Механизмы накопления таких белков могут быть различны. Например, формирование окисленных белков является типичным результатом влияния активных форм кислорода, которые образуются в результате многих метаболических процессов клетки и часто препятствуют нормальной работе белка.

Окислительное повреждение белков играет важную роль в этиологии болезней Паркинсона и Альцгеймера [11]. Считают, что накопление повреждённых белков происходит с возрастом и может отвечать за такие ассоциированные с возрастом болезни как болезнь Альцгеймера, Паркинсона и катаракта [7].

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что окислительная модификация белков и липидов играет существенную роль в патогенезе развития синдрома болезни Паркинсона.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гуляева Н.Б., Ерин А.Х. Роль свободнорадикальных процессов в развитии нейродегенеративных заболеваний (болезнь Паркинсона и Альцгеймера). *Нейрохимия*. 2, с. 3-15, 1995.
2. Дубинина Е.Е., Морозова М.Г., Леонова Н.В., и др. Окислительная модификация белков плазмы крови больных психическими расстройствами. *Вопросы мед. химии*, 4, с.1-14, 2000.
3. Каюшин Л.П., Пулатова М.К., Кривенко Б.Г. Свободные радикалы и их превращения в облученных белках, М., Атомиздат, 269, 1976.
4. Крыжановский Г.Н., Карабань И.Н., Магаева С.В. и др. Болезнь Паркинсона. М., 2002.
5. Прохорова М.И. (под ред.) Методы биохимических исследований. Л., 1982.
6. Современные методы в биохимии. Под ред. В.Н. Ореховича, М., Медицина, 1977.
7. Chakravarti B, Deb N., Oxidative Modification of Proteins: Age-Related Changes, *Gerontology*, 53, p.128-139, 2007.
8. Jenner P., Olanow S.W. The pathogenesis of cell death in Parkinson's disease. *Neurology*, 66, p. 24-36, 2006.
9. Levine R.L., Garland D., Oliver C.N. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins - Meth. Enzymol., 186, p.464- 478, 1990.
10. Lowry N.J., Rosenbogh A.J., Farr A., L. Protein measurement with folin phenol reagent, *J.Biol.Chem.* 193, p.265-275, 1951.
11. Rubinshtein D.C. The roles of intracellular protein-degradation pathways in neurodegeneration. *Nature*. 443, p. 780-786, 2006.
12. Thiruchelvam M., Prokopenko O., Cory-Slechta D.A., Richfield E.K., Buckley B., Mirochnitchenko O. Overexpression of superoxide dismutase or glutathione peroxidase protects against the paraquat + maneb-induced Parkinson disease phenotype. *J. Biol Chem.*, 280, 23, p. 22530-22539, 2005.
13. Tsang A.H., Chung K.K. Oxidative and nitrosative stress in Parkinson's disease. *Biochim Biophys Acta*, 1792, 7, p. 643-50, 2009.

Поступила 23.12.2011



Biolog. Journal of Armenia, 2 (64), 2012

COMPUTATIONAL MODELING OF KINETICS OF THE BISUBSTRATE ENZYMATIC REACTION WITH PING-PONG MECHANISM

R.A. AZIZYAN, A.E. GEVORGYAN, V.B. ARAKELYAN,
E.S. GEVORGYAN

Yerevan State University, Department of Biophysics
rafayelazizyan@ysu.am

This paper deals with mathematical and computer modeling of bi-substrate enzymatic reactions with ping-pong mechanism, which play an important role in different biochemical pathways. Two models describing these reactions were designed using different software packages, namely “STELLA” dynamic modeling package and “Mathematica 7”. The simulation of the models with different ratios of local rate constants allowed investigating the behavior of reactions as well as determined some interesting aspects concerning influence of each local rate constants on enzyme kinetics.

Computational modeling – bi-substrate enzymatic reactions – ping-pong mechanism

Աշխատանքում իրականացվել է երկսուբստրատ ֆերմենտային ռեակցիաների մաթեմատիկական և համակարգչային մոդելավորում: Այդպիսի ռեակցիաները հաճախ են հանդիպում և կարևոր դեր են խաղում բազմաթիվ կենսաքիմիական ուղիներում: Աշխատանքում նախագծվել են վերը նշված ռեակցիաները նկարագրող մոդել՝ օգտագործելով “STELLA” և “Mathematica 7” համակարգչային փաթեթները: Արագության հաստատունների տարբեր հարաբերությունների դեպքում մոդելի փորձարկումը թույլ է տվել հետազոտել ռեակցիաների վարքը, ինչպես նաև որոշել յուրաքանչյուր արագության հաստատունի ազդեցությունը ռեակցիայի կինետիկայի վրա:

Համակարգչային մոդելավորում – երկսուբստրատ ֆերմենտային ռեակցիաներ – պինգ-պոնգ մեխանիզմ

Данная работа имеет дело с математическим и компьютерным моделированием двухсубстратных ферментативных реакций, протекающих механизмом пинг-понг, которые часто встречаются и играют важную роль в различных биохимических путях. Используя динамические программные пакеты “STELLA” и “Mathematica 7”, были сконструированы модели для двухсубстратных ферментативных реакций с механизмом пинг-понг. Симуляция моделей с различными соотношениями локальных констант скоростей позволили изучить поведение этих реакций, а так же установить некоторые интересные аспекты относительно влияния каждой константы скорости на кинетику ферментативной реакции.

Компьютерное моделирование – двухсубстратные ферментативные реакции – механизм пинг-понг

Enzymatic reactions with participation of two substrates are called bisubstrate enzymatic reactions and are widely spread in different metabolic pathways from simple organisms to highly developed ones [2,7,11]. Thus, in silico investigation of these processes can highlight some useful information of specific features of metabolic pathways.

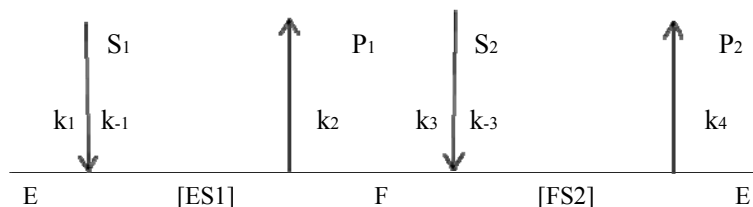
Enzymes almost always catalyze reactions having several substrates, frequently two. Certain enzymes require the presence of a dissociable coenzyme. For kinetic analysis, the coenzyme can be formally considered as a second substrate. Commonly, the concentration of one of the substrates is in large excess and is not significantly modified over the course of the reaction. In the case, when analyzing the kinetics, only the single substrate needs to be taken into account. Enzymatic hydrolysis reactions use water as a second substrate. When those reactions take place in aqueous solution, the second substrate does not contribute to the kinetics of the reaction [10].

There are several well-known mechanisms of bisubstrate enzymatic reactions, namely ping-pong mechanism, sequential mechanism and iso-mechanism [2,4,7,9-11]. These mechanisms differ by order of participation of substrates and by releasing products during enzymatic reaction. In the case of ping-pong mechanism, the product is being already released before all substrates are bound. In the sequential mechanism the two substrates bind before product is released. In iso-mechanisms the enzyme isomerizes into two or more stable conformations.

Ping-pong mechanism of bisubstrate enzymatic reactions.

The ping-pong mechanism can be categorized into two groups, namely random ping-pong and ordered ping-pong mechanisms. The ordered mechanisms are those in which the reaction substrates bind to the enzyme in a defined order. In this work we have examined only ordered ping-pong mechanism.

According to the Cleland's schematic representation of enzymatic reactions, different states of the enzyme can be represented by a horizontal line and the substrates and products by vertical arrows [5]. Thus, the scheme for bisubstrate ping-pong enzymatic reaction is as follows:



where k_1 , k_2 , k_3 and k_4 are local rate constants of forward reactions, whereas k_{-1} and k_{-3} are local rate constants of reverse reactions; E is concentration of free enzyme; S_1 and S_2 are concentrations of the first and the second substrates, respectively; $[ES_1]$ represents binary complex ($E-S_1$); $[FS_2]$ is the second binary complex ($F-S_2$); P_1 and P_2 are the first and the second products of the enzymatic reaction, respectively.

The name of the reaction indicates the alternate binding of substrates and release of products characteristic of this mechanism. After binding of the first substrate, the first product is released, followed by binding of the second substrate and release of the second product. A stringent feature of this mechanism is the formation of an intermediary enzyme form in the reaction with the first substrate, usually by transferring a reactive group. The second substrate will remove this group to form the second product. Aminotransferase (transaminase) reactions are typical examples of the reactions with ordered ping-pong mechanism.

Considering the general case where the reverse reaction is not negligible, the following rate equation for ordered ping-pong mechanism can be obtained under steady-state conditions [1].

$$v = \frac{k_2 \times E}{1 + \frac{K_1}{S_1} + \frac{K_2}{S_2} \left(1 + \frac{K_2}{S_2}\right)}$$

where K_1 and K_2 are binding constants of the substrates S_1 and S_2 , respectively.

The following system of differential equations describes the bisubstrate ping-pong enzymatic reactions:

$$\begin{cases} \frac{dE}{dt} = k_{-1}[ES_1] + k_4[FS_2] - k_{-1}[E][S_1] \\ \frac{dS_1}{dt} = k_{-1}[ES_1] - k_1[E][S_1] \\ \frac{dES_1}{dt} = k_1[E][S_1] - k_{-1}[ES_1] - k_2[ES_1] \\ \frac{dP_1}{dt} = k_2[ES_1] \\ \frac{dF}{dt} = k_2[ES_1] + k_{-2}[FS_2] - k_2[F][S_2] \\ \frac{dS_2}{dt} = k_{-2}[FS_2] - k_2[F][S_2] \\ \frac{dS_2}{dt} = k_2[F][S_2] - k_{-2}[FS_2] - k_4[FS_2] \\ \frac{dP_2}{dt} = k_4[FS_2] \end{cases}$$

The main objective of this study is to represent the results from in silico investigation of bisubstrate enzymatic reactions with ordered ping-pong mechanism as well as to describe in details the behavior of these reactions. The interests toward such kind of investigation is associated with the lack of experimental data which can be used for running computer models in the field of enzyme biochemistry in general, and in the enzymology in particular. Therefore, in silico investigation of enzymatic reactions can be useful for investigators from both fields.

Materials and methods. In the present work two different modeling software packages are used to design the model of ordered ping-pong mechanisms and to compare results derived from simulation. Modeling has been carried out using “STELLA” dynamic modeling package and “Mathematica 7” software [6, 8] based on the above-presented differential equations. In “STELLA” the computing was done by Euler’s method of integration while in “Mathematica 7” the Runge-Kutta’s method of integration was used.

One model of ping-pong bisubstrate enzymatic reactions has been constructed for each software package. Since the duration of real biological reactions does not correspond to the model simulation time, the description of kinetic behavior of models has done based on conditional time units (CTUs). The model simulation has been carried out using the following initial values of parameters in both packages:

$E_0 = 10 \mu\text{mol}$	$k_1 = 1.5 \times 10^{-3} (\text{sec} \times \mu\text{mol})^{-1}$	$k_{-1} = 1.4 \times 10^{-3} (\text{sec})^{-1}$
$S_1 = 300 \mu\text{mol}$	$k_3 = 1.5 \times 10^{-3} (\text{sec} \times \mu\text{mol})^{-1}$	$k_{-3} = 1.4 \times 10^{-3} (\text{sec})^{-1}$
$S_2 = 400 \mu\text{mol}$	$k_2 = 3 \times 10^{-3} (\text{sec})^{-1}$	$k_4 = 3 \times 10^{-3} (\text{sec})^{-1}$

From literature it is known, that for aminotransferases which are the typical examples of bisubstrate enzymatic reactions with ping-pong mechanism, binding of substrates is reversible and substrates can be easily dissociate from enzyme-substrate complexes, which means that binding equilibrium constants approximately equal to one. Thus, we have taken appropriate combinations of local rate constants for binding and dissociation of substrates for simulation.

Moreover, the influence of k_2 and k_4 local rate constants on whole kinetics was investigated. Leaving fixed k_1 ; k_{-1} and k_3 ; k_{-3} pairs we have examined the cases with the following three ratios of k_2 and k_4 : (1) $k_2 = k_4$; (2) $k_2 > k_4$ and (3) $k_2 < k_4$ (refer to Table 1 for values).

Table 1. Different ratios of local rate constants with corresponding values used for simulation

Ratios of local rate constants	Values	
	k_2	k_4
$k_2/k_4=1$	3×10^{-3}	3×10^{-3}
$k_2/k_4 > 1$	1.5×10^{-2}	3×10^{-3}
$k_2/k_4 < 1$	3×10^{-3}	1.5×10^{-2}

Results and Discussion. As known, in silico investigation, the computational experiments by different software packages allow identifying some principal features of investigated objects, which are either impossible to determine by in vitro experiments, or they require quite valuable techniques and methodologies. Besides that, computer-based experiment has another advantage, which allows saving time for preparation and implementation of experiments. Taking into consideration the above-mentioned, in this article we have generally concentrated on behavior of enzyme-substrate complexes and intermediary F enzyme form, because usually it is difficult to follow the behavior of these complexes during in vitro experiments.

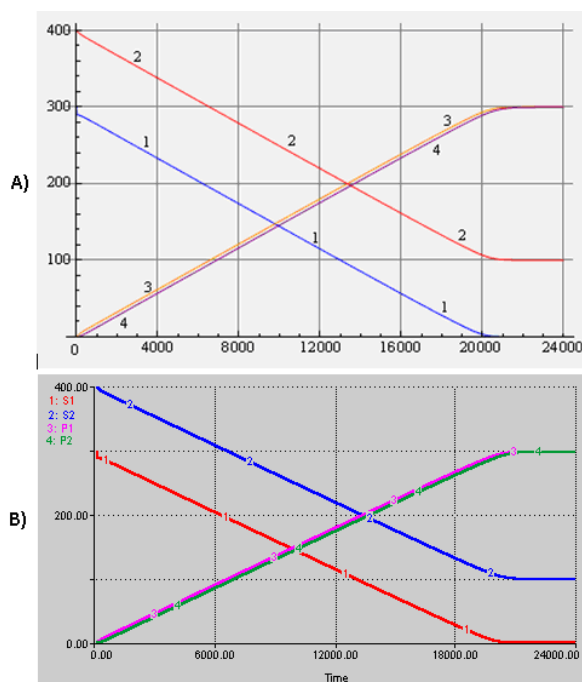


Fig. 1. Kinetic behavior of substrates S_1 ; S_2 (curves 1 and 2, respectively) and P_1 ; P_2 (curves 3 and 4, respectively) products in bisubstrate enzymatic reaction with ping-pong mechanism after model's simulation in (A) "STELLA" dynamic modeling package and (B) "Mathematica 7" software.

Simulation in both packages resulted to obtaining the dynamics of bisubstrate enzymatic reactions under bi-bi ping-pong mechanism (fig.1). As one can see from the fig.1, in the very beginning of kinetics the decrease in the concentrations of the first S_1 substrates is

very quick and one possible explanation for such a fast decrease could be that the concentration of the first S_1 substrate have taken with an excess compared to enzyme's concentration ($[E]/[S_1] = 1/30$), and it means that binding of S_1 takes place quite rapidly. The same fast binding of substrates has been previously shown by our group in the case of bisubstrate enzymatic reactions with sequential mechanism [3]. In contrast with the beginning stage, at the final steps of kinetics the decrease in the concentrations of substrates is very slow, and at the end of kinetics, all substrates was completely consumed. Simultaneously, products (P_1 and P_2), in their turn, reach a plateau.

The conditional time unit (CTU) for which the concentration of the $[FS_2]$ binary complex approaches to zero is considered end time moment for kinetics (tab. 2).

Table 2. Values of concentrations of various parameters at the end moment of kinetics

Parameters	Values at the end of kinetics in simulation with "STELLA" dynamic modeling package	Values at the end of kinetics in simulation with "Matematica 7" software
E (μmol)	9.89	9.93
S_1 (μmol)	0	0
ES_1 (μmol)	0.02	0.01
P_1 (μmol)	299.98	299.99
F (μmol)	0	0
S_2 (μmol)	100.02	100.01
FS_2 (μmol)	0.09	0.06
P_2 (μmol)	299.88	299.93

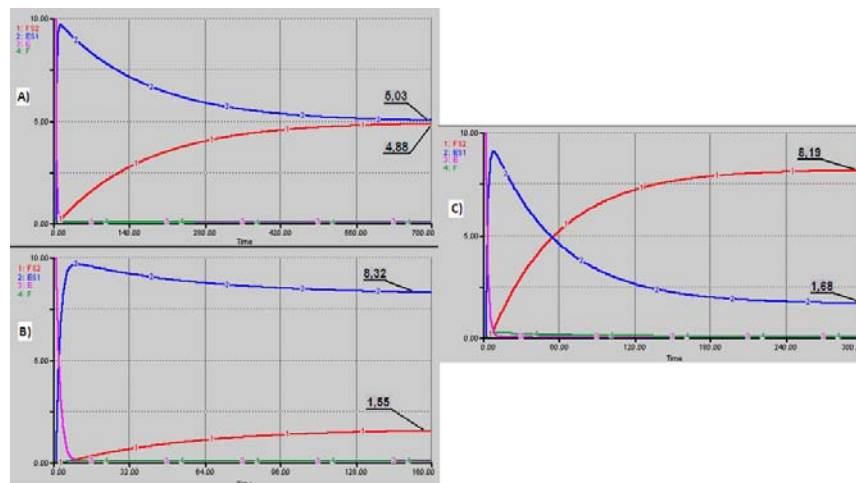


Fig. 2. Pre-steady state kinetics of enzyme-substrate complexes ($[ES_1]$ -curve-2; $[FS_2]$ -curve-1), free E enzyme (curve-3) and intermediary F form of enzyme ([curve-4] at the following three cases: (A) $k_2=k_4$; (B) $k_2<k_4$ and $k_4/k_2=5$; (C) $k_2>k_4$ and $k_2/k_4=5$

As one can notice from fig. 1 and tab. 2 the simulations under two software show identical results with insignificant differences. Thus, it is more favorable to consider data derived from only one package, which is in our case "STELLA". The simulation emphasized on the study of behavior of enzyme-substrate complexes, free enzyme and intermediary F form of enzyme. To show behavior of enzyme-substrate complexes in more details, we have represented the pre-steady state kinetics (fig. 2) and whole kinetic picture for enzyme-substrate complexes (fig. 3) separately.

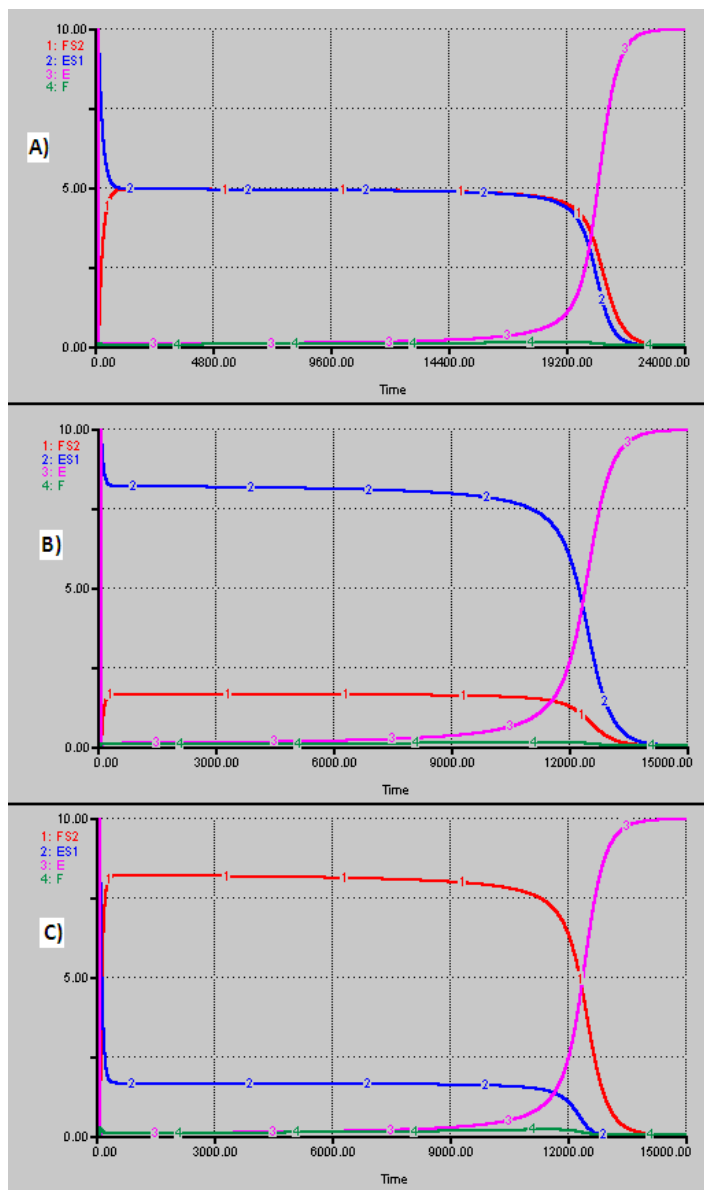


Fig. 3. Overall kinetic behaviour of enzyme-substrate complexes ($[ES_1]$ -curve-2; $[FS_2]$ -curve-1), free E enzyme and intermediary F form of enzyme (curves 3 and 4, respectively) at three different cases:
A) $k_2=k_4$; B) $k_2<k_4$ and $k_4/k_2=5$; C) $k_2>k_4$ and $k_2/k_4=5$

As one can see, fig. 2 represents pre-steady state kinetics of complexes, i.e. when $[ES_1]$ and $[FS_2]$ complexes reach saturation point and do not change over the time. The system needs different time to reach steady state point at different ratios of local rate constants. For the first case, system reach steady state after simulation for a 700 conditional time units (CTU), for second case, it needs 160 CTUs for reaching saturation, and for the last case 300 CTUs (tab. 3).

Table 3. Saturation points of $[ES_1]$ and $[FS_2]$ binary complexes at different cases

Ratios of local rate constants	$[ES_1] \times (\mu\text{mol})$	$[FS_2] \times (\mu\text{mol})$	CTUs needed for saturation
$k_2/k_4=1$	5.03	4.88	700
$k_2/k_4>1$	8.32	1.55	160
$k_2/k_4<1$	1.68	8.19	300

At the first case, when $k_2=k_4$, simulation shows that the concentration of free enzyme rapidly decreases, because of fast binding of the first S_1 substrate and after a few CTU all molecules of enzyme are occupied by substrates (fig. 2A, curve 3). Increase in the concentration of free enzyme was observed in the final part of kinetics (fig. 3A). Concentration of ES_1 complex (fig. 2A, curve 2), naturally reaches its maximum value at 10^{th} CTU (when free enzyme molecules are absent) and after that point it decreases very slowly till certain point and remains constant. Notable decrease in ES_1 concentration could be seen from 20000^{th} and it totally disappears at 24000^{th} CTU (fig. 3A). The concentration of FS_2 complex starts to raise from 10^{th} CTU till the saturation point ($[FS_2]=4.88$), which is almost the same as for the first ES_1 complex. Actually, synchronous behavior of curves 1 and 2 lasts until the system turns to the equilibrium state. Like the case of ES_1 complex, in this case as well, the decrease in concentration is seen from 20000^{th} CTU, while total disappearance of the last occurs a little bit later, than as for ES_1 complex. Interestingly, the concentration of intermediate form of enzyme almost equals to zero, which means that the second S_2 substrate rapidly binds to intermediate F form of enzyme, and it is hard to detect F in virtual solution.

In the next case, when k_2 is greater than k_4 by five-fold, the behavior of considered parameters is the same, except for ES_1 and FS_2 binary complexes. The ES_1 complex, as in the previous case, reaches rapidly its maximum value, followed by slow decrease till steady state point, which is equal to 8.32 but notably greater than in previous case (fig. 2, curve 2). As expected, the FS_2 complex slowly increases till saturation point $[FS_2]=1.55$, which is notable less than in the previous case.

For the third case ($k_2<k_4$) there are not significant changes with free E enzyme and intermediary F form of it. But in the contrast with the second case, the ES_1 and FS_2 binary complexes exchanged “roles”. The ES_1 complex, as usual, reaches its maximum value very fast, but then decrease till saturation point, which appeared to be equal to 1.68, less than in previous. Analogically, one might expect that FS_2 complex grows till steady state point, which will be notable greater than in the previous case. And the expectations were met ($[FS_2] = 8.19$).

The intermediary F form of enzyme has not been detected in notable quantity at all considered cases during pre-steady state kinetics. This fact gives possibility to conclude that intermediary F form quite rapidly binds with the second substrate molecules and transforms to the FS_2 binary complex. The influence of different local rate constant ratios on saturation points of binary complexes could be estimated from tab. 3.

From the tab. 3. it is clearly seen, that the increase in the k_2 local rate constant leads to increase in saturation point for ES_1 binary complex and accordingly to decrease in saturation point for FS_2 complex, while increase of the k_4 local rate constant leads to increase in saturation point for FS_2 complex, and to decrease in saturation point for ES_1 complex.

Comparing the concentrations of the product in the three various cases, namely (1) $k_2=k_4$; (2) $k_2<k_4$ and (3) $k_2>k_4$, the comparative dynamics of the change product concentration has been revealed (refer to fig. 4 below).

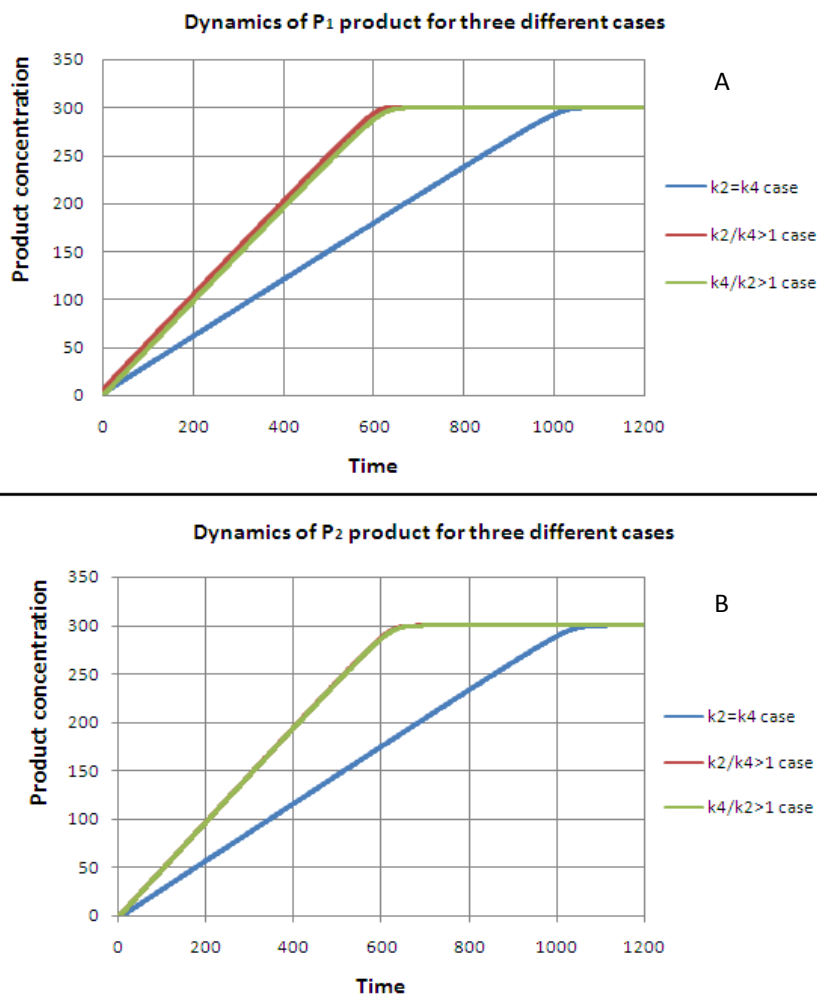


Fig. 4. Dynamics of the change in the concentrations of the first and the second product at three different cases: (1) $k_2=k_4$; (2) $k_2<k_4$; and (3) $k_2>k_4$

As one can see from fig. 4, the increase in the values of local rates in the second and third cases leads to fastening of the whole reaction kinetics, since rates of both first and second product generation were increased. In the second and third cases the increase in the values of local rate constants results to similar behaviour of the first product generation dynamics, while the curves of the second product totally coincide one to another (fig. 4B). Taking into consideration the above-mentioned results one can derive the following conclusions:

1. The computational simulation of models of bisubstrate enzymatic reactions with ping-pong mechanism by “Mathematica 7” and “STELLA” software packages gives identical pictures of kinetics.
2. The interim F form of the enzyme has not been recorded even in virtual environment by modeling using both software packages. Therefore, it can be concluded that F bounds to the second substrate (S_2) very quickly by transforming it into FS_2 complex.

3. In case of equal value of k_2 and k_4 local rate constants the steady-state values of concentrations of the ES_1 and FS_2 complexes are the same.
4. In the case of $k_4 > k_2$, the value of ES_1 complex concentration is significantly higher than the value of FS_2 concentration in the steady-state. Similarly, in the case of $k_4 < k_2$, the opposite picture occur.
5. The rate of product generation in bi-substrate enzymatic reaction increases regardless the fact which one of k_2 and k_4 local rate constants get bigger value.

REFERENCES

1. Варфоломеев, С.Д., Гуревич, К.Г. Биокинетика, М., 1999. Yuan, H., Fu G., Brooks, Ph., Weber, I., Gadda, G., Steady-State Kinetic Mechanism and Reductive Half-Reaction of D-Arginine Dehydrogenase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochemistry*, 49, 9542–9550, 2010.
2. Келети Т. Основы ферментативной кинетики, Мир, М., 1990.
3. Azizyan R.A., Gevorgyan A.E., Arakelyan V.B., Gevorgyan E.S. Computational modeling of kinetics of the bisubstrate enzymatic reaction with sequential mechanism. *Electronic Journal of Natural Sciences*, Jan 2011, Issue1, 18, pp. 3-12, 2012.
4. Bisswanger, H. "Enzyme kinetics. Principles and Methods" (2nd edition), WILEY-VCH, 2008.
5. Cleland, W.W., *Biochim. Biophys. Acta*, 67, 104–137, 1963.
6. "Mathematica 7" Home page available at
7. Sidhu, R., Blair, H., *Human Liver Aldehyde Dehydrogenase*. *The J. Biol. Chemistry*, 250, 7899-7904, 1975.
8. "STELLA Home Page" available at URL:
<http://www.iseesystems.com/software/Education/StellaSoftware.aspx>
9. Yao C., Lai C., Hsieh H., Chi C., Yin Sh. Establishment of steady-state metabolism of ethanol in perfused rat liver: the quantitative analysis using kinetic mechanism-based rate equations of alcohol dehydrogenase. *Alcohol*, 44, 541-551, 2010.
10. Yon-Kahn, J., Herve, G. *Molecular and Cellular Enzymology*, 1, Springer, 2010.

Received 10.04.2012



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 2(64), 2012

«ՈՐԴԱՆ ԿԱՐՄԻՐ» ԱՐԳԵԼԱՎԱՅՐԻ ԱՐԴԻ ՎԻՃԱԿԸ

Ա. Լ. ՄԿՐՏՉՅԱՆ¹, Վ. Ե. ՈՍԿԱՆՅԱՆ², Վ. Լ. ԲԱՂԱԼՅԱՆ²

¹Հայաստանի պետական ագրարային համալսարան,

²«Արգելոցապարկային համալիր» ՊՈԱԿ
badalyan_yahan@yahoo.com

Բերված են «Որդան կարմիր» արգելավայրի ֆլորայի արդի վիճակի ուսումնասիրության արդյունքները: Արգելավայրը ներկայացնում է ոչ մեծ հալոֆիտ համակեցություն, ինչը բնորոշ է Արարատյան հարթավայրի աղակալած տարածքներին: Ներկայումս արգելավայրի տարածքում դրանք պահպանվում են կղզյակներով և ունեն բացառիկ գիտական ու գործնական նշանակություն կենսաբազմազանության և Արարատյան հարթավայրի որդան կարմիր բնոթյան պահպանության համար: Մեր կողմից կատարվում են միջատի և նրա կերաբույսեր հանդիսացող որդանխոտի ու եղեգի պարբերական ուսումնասիրություններ: Արգելավայրի ֆլորան բաղկացած է 110 բարձրակարգ անդամավոր բուսատեսակներից, որոնք պատկանում են 82 ընտանիքների և 21 ընտանիքների: Արգելավայրի կենսաբազմազանության փոփոխության վրա ազդում են հողերի աղազեցումն, սեփականաշնորհման և անապատացման գործընթացները:

Արգելավայր – կենսաբազմազանություն – հալոֆիտ բուսականություն – որդան կարմիր

Приводятся результаты исследований современного состояния флоры и растительности заказника “Арагатская кошениль”, который представляет собой небольшую часть галофитной формации Арагатской равнины. Галофитные сообщества являются характерным компонентом растительности засоленных почв Арагатской равнины. В настоящее время они сохраняются лишь в виде отдельных фрагментов на территории заказника и имеют исключительно важное научное и практическое значение для сохранения биоразнообразия эндемического вида арагатской кошенили. Нами выявлено, что флора заказника представлена 110 видами высших сосудистых растений, относящихся к 82 родам и 21 семейству. Большое влияние на изменение биоразнообразия заказника имеют засоленные почвы, приватизация и опустынивание земель.

Заказник – биоразнообразие – галофитное сообщество – арагатская кошениль

The results of the study of present status of “Vordan Karmir” state sanctuary’s flora are presented. The state sanctuary represents not large halophyte community which is characteristic of saline regions of Ararat Valley. Currently they are preserved within the boundaries of reservation in the form of small islands and have unique scientific and practical importance for the preservation of biodiversity and endemic insect of Ararat Valley. Regular studies of the above mentioned insect and its fodder crops *Aeluropus littoralis* and *Phragmites communis* are being undertaken. Flora of the reservation consists of 110 species of vascular plants, which belong to 82 genera and 21 families. The reservation’s biodiversity changes due to the processes of soil desalinization, privatization and desertification.

State sanctuary – biodiversity – halophyte community – margarodes hameli

Հայաստանի բնության հատուկ պահպանվող տարածքների (ԲՀՊՏ) համակարգը (արգելոցներ, արգելավայրեր, ազգային պարկեր և բնության հուշարձաններ) ձևավորվել է 1958 թ-ին: Այդ գործընթացն առ այսօր էլ շարունակվում է, ինչը պայմանավորված էրկրի հազվագյուտ ու արժեքավոր բուսական և կենդանական տեսակների վտանգված լինելով և դրանց պահպանության անհրաժեշտությամբ:

«Որդան կարմիր» արգելավայրը ստեղծվել է ԲՀՊ տարածքների ընդհանուր համակարգի ձևավորումից ավելի ուշ՝ 1987 թ-ին, երբ ՀՍՍՀ կառավարության N61 որոշմամբ «Արարատյան դաշտի աղուտային էկոհամակարգերի, դրանց բուսական ու կենդանական աշխարհի ամբողջության պահպանության ու կայուն օգտագործման ապահովման, մասնավորապես, արժեքավոր միջատի՝ արարատյան որդան կարմիրի (*Porphyrophora hameli*) ու նրա սնման օբյեկտ հանդիսացող որդանխոտի (*Aeluropus litoralis*) պահպանության և վերարտադրության ապահովման» նպատակով առաջարկվեց հիմնադրել վերոհիշյալ արգելավայրը: Այս որոշման համար հիմք էր հանդիսացել դեռևս 1971թ. ՀՍՍՀ կառավարության հանձնարարությամբ ՀՀ ԳԱ Կենդանաբանության ինստիտուտի նախաձեռնած արարատյան որդան կարմիրի գիտահետազոտական ուսումնասիրությունները:

«Որդան կարմիր» արգելավայրը գտնվում է Արմավիրի մարզում, կազմված է երկու հատվածներից և զբաղեցնում 219.85 հա տարածք: Մի հատվածը գտնվում է Արագածի (198.33 հա), մյուսը՝ Ջրառատ (21.52 հա) գյուղական համայնքների վարչական տարածքներում [2]:

Արգելավայրի ստեղծումից հետո, հաշվի առնելով որդան կարմիր միջատի բացառիկ նշանակությունը, հիմնական աշխատանքները տարվում էր միջատի և որդանխոտի ուսումնասիրման ու պահպանման ուղղությամբ: Իսկ ինչ վերաբերում է արգելավայրի կենսաբազմազանությանը, հատկապես բուսական բազմազանությանը, ապա պետք է նշել, որ դեռևս ամբողջական պատկեր չկա:

Մեր աշխատանքի նպատակն է եղել ուսումնասիրել «Որդան կարմիր» արգելավայրի ֆլորայի կենսաբազմազանությունը և ներկայացնել արդի վիճակը:

Նյութ և մեթոդ: Աշխատանքի համար նյութ են ծառայել «Որդան կարմիր» արգելավայրի տարածքում 2007-2011 թվականների ընթացքում կատարված ուսումնասիրությունների արդյունքները: Կենսաբազմազանության ուսումնասիրումը կատարվել է երթուղային և ստացիոնար մեթոդներով, որոնք հնարավորություն են տվել հետազոտությունները իրականացել տարվա բոլոր եղանակներին: Ուսումնասիրվել է բույսերի տեսակային կազմը, ֆենոլոգիան, կատարվել են երկրաբուսաբանական նկարագրություններ: Բուսատեսակների հաշվառման համար կազմվել են հերթաբերումներ: Տեսակային կազմի որոշման համար օգտվել ենք համապատասխան գրականություններից [4,5]: Գիտարշավների ժամանակ հավաքված նյութերի մշակումը կատարվել է ՀՀ ԳԱԱ Բուսաբանության ինստիտուտի բարձրակարգ բույսերի կարգաբանության և աշխարհագրության բաժնում և ԵՊՀ կենսաբանության ֆակուլտետի բուսաբանության ամբիոնում, որի համար հայտնում ենք մեր խորին շնորհակալությունը:

Արդյունքներ և քննարկում: Որդան կարմիր միջատը և որդանխոտը ապրում են աղուտային հողերի վրա, այսինքն արգելավայրում ձևավորված է յուրահատուկ աղուտային էկոհամակարգ: Այստեղ կարելի է հանդիպել հիմնականում, այնպիսի բուսատեսակների, որոնք կարող են ապրել հողում աղի բարձր պարունակության (մինչև 3%) պայմաններում՝ աղահասկիկ (*Halostachys*), աղաբույս (*Salicornia*), աղածաղիկ (*Halanthium*) և այլն) կամ այնպիսի մոլախոտերի, որոնք էկոլոգիապես շատ ճկուն են և ապրում են ցանկացած պայմաններում, այդ թվում նաև աղուտներում, (օրինակ, թելուկ սպիտակ (*Chenopodium album*), հովվամաղախ սովորական (*Capsella bursa pastoris*), խատուտիկ սովորական (*Taraxacum officinale*):

Արարատյան դաշտում գյուղատնտեսական մշակաբույսերի աճեցման նպատակով 20-րդ դարի 60-ական թվականներից սկսվեց աղուտային հողերի աղազեղծման գործընթացը: Արդյունքում կրճատվեց աղասեր բուսատեսակների քանակը, փոխվեց էկոհամակարգի կենսաբազմազանությունը և մոտ 70 տեսակ հալոֆիտ բույսեր կորցրին իրենց ցենոտիկ ակտիվությունը [3]: Ոչնչացման սպառնալիքի ենթակա դարձան հազվագյուտ բույսեր՝ բորակաթուփ շոբերին (*Nitraria schoberi*), որը պահպանվում է միայն արգելավայրի տարածքում, կարմրան ութառեղը (*Tamarix octandra*), կալախոտ կասպիականը (*Kalidium caspicum*), սարսազան կոնաձևը (*Halocnemum strobilaceum*), որոնք ՀՀ բույսերի Կարմիր գրքում գրանցված են որպես վտանգված տեսակներ (կամ անհետացման շատ բարձր ռիսկի առջև կանգնած տեսակներ վայրի

բնության մեջ), իսկ բիներցիա շուրջաթևը (*Bienertia cycloptera*) հայտնվել է կրիտիկական վիճակում (կամ անհետացման չափազանց բարձր ռիսկի առջև կանգնած տեսակ է) [1]:

20-րդ դարի վերջում հողերի սեփականաշնորհումն էլ իր հերթին նպաստեց կենսաբազմազանության փոփոխմանը՝ մի կողմից բերելով «Որդան կարմիր» արգելավայրում առանձնապես մեծ արժեք չներկայացնող բուսատեսակների և մոլախոտերի տարածմանը, մյուս կողմից՝ հազվագյուտ տեսակների կրճատմանը: Հողի սեփականաշնորհումից հետո արգելավայրն ամբողջովին շրջապատվեց սեփականաշնորհված գյուղատնտեսական հողակտորներով և բնակավայրերով, որտեղից տարբեր մոլախոտեր անարգել թափանցում են արգելավայրի տարածք: Այդ բույսերից են ուղտափուշը (*Alhagi pseudoalhagi*), գաղձը (*Cuscuta cesatiana*), դառնարմատը (*Goebelia alopecuroides*), եռակողասերմիկը (*Tripleurospermum inodorum*), որոնք արդեն կազմել են խմբավորումներ և աստիճանաբար մեծացնելով իրենց գրաված տարածքները՝ դուրս են մղում որդան կարմիր միջատի գոյության պայման հանդիսացող որդանխոտին և եղեգին (*Phragmites australis*):

Արգելավայրի կենսաբազմազանության փոփոխության վրա ազդում է նաև կլիմայի գլոբալ փոփոխությունը և անապատացումը: Տարածքների արիդացումն առաջին հերթին բնութագրական է անապատա-կիսաանապատային հողերին, որոնց թվին էլ պատկանում են աղուտները: Կլիմայի գլոբալ փոփոխության արդյունքում, ինչպես և կանխատեսվում էր, նկատվում է անապատային տարածքների ընդլայնում, որն էլ ենթադրում է հալոֆիտ բուսականության քանակական ավելացում: Այս գործընթացի ժամանակ առավելապես կտուժեն հազվագյուտ բույսերը, որոնք չունենալով էկոլոգականսաքանական հատկությունների ճկունություն, դուրս կմղվեն համակեցությունից:

Մեր կողմից կատարված ուսումնասիրությունները ցույց տվեցին, որ, չնայած կրած տարբեր փոփոխություններին, արգելավայրի տարածքում շարունակում են գերակշռող դիրք գրավել աղասեր բուսատեսակները՝ օշանները (շոռաններ), սուվեդ բարձրը (*Suaeda altissima*), գեյդլիցիա ծաղկավետը (*Seidlitzia florida*), քաֆուրախոտը (*Camphorosma lessingii*), հալիմիոնե գորտնուկավորը (*Halimione verrucifera*) և որդանխոտը:

Նախնական վերլուծության արդյունքում պարզ դարձավ, որ արգելավայրում մեր կողմից արձանագրված ֆլորան բաղկացած է 110 բուսատեսակներից, որոնք պատկանում են 82 ցեղերի և 21 ընտանիքների (աղ. 1):

Տեսակներով ամենահարուստը թելուկազգիների (*Chenopodiaceae*) ընտանիքն է, որը ներկայացված է 27 տեսակով, 15 ցեղով: Ամենամեծ ցեղը նույնպես պատկանում է այս ընտանիքին. օշան՝ 6 տեսակով (*Salsola ericoides*, *S. dendroides*, *S. nitraria*, *S. soda*, *S. macera*, *S. glauca*): Ընտանիքի մյուս ցեղերը ներկայանում են. սվեդան՝ 4 (*Suaeda altissima*, *S. confuse*, *S. heterophylla*, *S. acuminata*), մոխրաթելուկը (*Atriplex verrucifera*, *A. leucoclada* subsp. *turcomanica*, *A. tatarica*) և պետրոսիմոնիան (*Petrosimonia brachiata*, *P. glaucescens*, *P. glauca*)՝ 3-ական տեսակներով:

Տեսակների քանակով երկրորդ տեղում են գտնվում աստղածաղկազգիները (*Asteraceae*)՝ 18 տեսակ, որոնք էլ ներկայանում են 16 ցեղով (*Achillea*, *Acroptilon*, *Arctium*, *Anthemis*, *Artemisia*, *Carduus*, *Centaurea*, *Cirsium*, *Cichorium*, *Crepis*, *Lactuca*, *Sonchus*, *Taraxacum*, *Tripleurospermum*, *Xanthium*, *Podospermum*):

Այնուհետև գալիս է կաղամբազգիների (*Brassicaceae*) ընտանիքը՝ 17 տեսակ, 11 ցեղ, որից միայն դաշտակոտեմը հանդես է գալիս 5 տեսակով (*Lepidium ruderales*, *L. vesicarium*, *L. perfoliatum*, *L. crassifolium*, *L. latifolium*):

Դաշտավուկազգիները (*Poaceae*) չորրորդ տեղում են 11 տեսակով և 9 ցեղով: Երկու ներկայացուցիչները՝ որդանխոտը և եղեգը իրենց տնտեսական նշանակությամբ ամենարժեքավորն են արգելավայրում: Հինգերորդ տեղում բակլազգիների (*Fabaceae*) ընտանիքն է՝ 7 տեսակ, 6 ցեղ:

Մյուս՝ նեխուրազգիներ (*Apiaceae*), գաղտրիկազգիներ (*Boraginaceae*), իշակաթնուկազգիներ (*Euphorbiaceae*), խուլեղիկազգիներ (*Lamiaceae*), ճրագախոտազգիներ (*Orobanchaceae*), մատիտեղազգիներ (*Polygonaceae*), (*Tamaricaceae*) ընտանիքները ներկայանում են 2, 3 կամ 4 տեսակներով:

Աղյուսակ 1. «Որդան կարմիր» արգելավայրի ֆլորայի տաքսոնոմիական կազմը

APIACEAE 1. <i>Astrodaucus orientalis</i> (L.) Drude 2. <i>Conium maculatum</i> L. 3. <i>Falcaria vulgaris</i> Bernh. ASTERACEAE 4. <i>Achillea millefolium</i> L. 5. <i>Acroptilon repens</i> (L.) DC. 6. <i>Arctium palladinii</i> (Marc.) Grossh. 7. <i>Artemisia fragrans</i> Willd. 8. <i>Anthemis cotula</i> L. 9. <i>Carduus nutans</i> L. 10. <i>Centaurea solstitialis</i> L. 11. <i>Centaurea iberica</i> Trev. 12. <i>Cirsium arvense</i> (L.) Scop. 13. <i>Cirsium incanum</i> (S.G.Gmel.) Iljin 14. <i>Cichorium intybus</i> L. 15. <i>Crepis sancta</i> (L.) Babc. 16. <i>Lactuca serriola</i> Torn. 17. <i>Podospermum laciniatum</i> (L.) DC. 18. <i>Sonchus asper</i> (L.) Hill 19. <i>Taraxacum officinale</i> Wigg. 20. <i>Tripleurospermum inodorum</i> (L.) Sch. Bip. 21. <i>Xanthium italicum</i> Moretti BRASSICACEAE 22. <i>Alyssum desertorum</i> Stapf 23. <i>Arabidopsis pumila</i> (Steph.) N. Busch 24. <i>Barbarea minor</i> C. Koch 25. <i>Bunias orientalis</i> L. 26. <i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Medik. 27. <i>Descurainia sophia</i> (L.) Webb. ex Prantl 28. <i>Erysimum sisymbrioides</i> C.A.Mey 29. <i>Hymenolobus procumbens</i> (L.) Fourr. 30. <i>Lepidium ruderales</i> L. 31. <i>Lepidium vesicarium</i> L. 32. <i>Lepidium perfoliatum</i> L. 33. <i>Lepidium crassifolium</i> Waldst. et Kit. 34. <i>Lepidium latifolium</i> L. 35. <i>Meniocus linifolius</i> (Steph.) DC. 36. <i>Sisymbrium altissimum</i> L. 37. <i>Sisymbrium loeselii</i> L. 38. <i>Sisymbrium inio</i> (L.) Fourr. BORAGINACEAE 39. <i>Arnebia decumbens</i> (Vent.) Coss. et Kral. 40. <i>Lappula sessiliflora</i> (Boiss.) Guerke 41. <i>Myosotis micrantha</i> Pall. ex Lehm. CHENOPODIACEAE 42. <i>Atriplex verrucifera</i> Bieb. 43. <i>Atriplex leucoclada</i> Boiss. subsp. <i>turcomanica</i> (Moq.) Aellen 44. <i>Atriplex tatarica</i> L.	45. <i>Bassia hyssopifolia</i> (Pall.) O.Kuntze 46. <i>Bienertia cycloptera</i> Bunge 47. <i>Camphorosma lessingii</i> Litv. 48. <i>Chenopodium chenopodioides</i> (L.) Aellen 49. <i>Climacoptera crassa</i> (Bieb.) Botsch. 50. <i>Halanthium rarifolium</i> C.Koch 51. <i>Halostachys caspica</i> (Bieb.) C. A.Mey 52. <i>Halocnemum strobilaceum</i> (Pall.) Bieb. 53. <i>Kalidium caspicum</i> (L.) Ung.-Sternb. 54. <i>Petrosimonia brachiata</i> (Pall.) Bunge 55. <i>Petrosimonia glaucescens</i> (Bunde) Iljin 56. <i>Petrosimonia glauca</i> (Pall.) Bunge 57. <i>Polycnemum arvense</i> L. 58. <i>Suaeda altissima</i> (L.) Pall. 59. <i>Suaeda confuse</i> Iljin 60. <i>Suaeda heterophylla</i> (Kar. et Kir.) Bunge 61. <i>Suaeda acuminata</i> (C.A.Mey.) Moq. 62. <i>Salsola ericoides</i> Bieb. 63. <i>Salsola dendroides</i> Pall. 64. <i>Salsola nitraria</i> Pall. 65. <i>Salsola soda</i> L. 66. <i>Salsola macera</i> Litv. 67. <i>Salsola glauca</i> Bieb. 68. <i>Salicornia europaea</i> L. CONVOLVULACEAE 69. <i>Convolvulus arvensis</i> L. CUSCUTACEAE 70. <i>Cuscuta cesatiana</i> Bertol. EUPHORBIACEAE 71. <i>Euphorbia boissierana</i> (Woronow) Prokh. 72. <i>Euphorbia sequierana</i> Neck. 73. <i>Euphorbia virgata</i> Waldst. et Kit. FABACEAE 74. <i>Alhagi pseudoalhagi</i> (Bieb.) Desv. 75. <i>Goebelia alopecuroides</i> (L.) Bunge 76. <i>Lotus caucasicus</i> Kuprian. Ex Juz 77. <i>Melilotus officinalis</i> Desr. 78. <i>Medicago lupulina</i> L. 79. <i>Trifolium arvense</i> L. 80. <i>Trifolium repens</i> L. LAMIACEAE 81. <i>Leonurus cardiaca</i> L. 82. <i>Mentha longifolia</i> (L.) L. 83. <i>Stachys atherocalyx</i> C.Koch. 84. <i>Lamium amplexicaule</i> L.	NITRARIACEAE 85. <i>Nitraria schoberi</i> L. OROBANCHACEAE 86. <i>Orobancha</i> sp. 87. <i>Cistanche salsa</i> (C.A.Mey.) G. Beck PAPAVERACEAE 88. <i>Papaver arenarium</i> Bieb. PLANTAGINACEAE 89. <i>Plantago lanceolata</i> L. POLYGONACEAE 90. <i>Polygonum aviculare</i> L. 91. <i>Rumex acetosa</i> L. 92. <i>Rumex dentatus</i> L. subs. <i>halacsyi</i> (Rech.) fil. 93. <i>Rumex crispus</i> L. POACEAE 94. <i>Aelouropus littoralis</i> (Gouan) Parl. 95. <i>Aelouropus pungens</i> (M.Bieb.) C.Koch 96. <i>Alopecurus arvensis</i> (C. Koch) Grossh. 97. <i>Anisantha tectorum</i> (L.) Nevski 98. <i>Apera intermedia</i> Hack. 99. <i>Bromus japonicus</i> Thunb. 100. <i>Eremopyrum triticeum</i> (Gaertn.) Nevski 101. <i>Phragmites australis</i> (Cav.) Trin. ex Steud. 102. <i>Poa bulbosa</i> L. 103. <i>Puccinellia gigantea</i> (Grossh.) Grossh. 104. <i>Puccinellia grossheimiana</i> V. Krecz. RUBIACEAE 105. <i>Galium aparine</i> L. TAMARICACEAE 106. <i>Tamarix ramosissima</i> Ledeb. 107. <i>Tamarix octandra</i> Bunge THYMELAEACEAE 108. <i>Thymelaea passeriana</i> (L.) Goss. et Germ. TYPHACEAE 109. <i>Typha angustifolia</i> L. ZYGOPHYLLACEAE 110. <i>Tribulus terrestris</i> L.
---	---	---

Մեկական ցեղով և տեսակով պատատուկազգիներ (*Convolvulaceae*), գաղձազգիներ (*Cuscutaceae*), բորակաթուփազգիներ (*Nitrariaceae*), կակաչազգիներ (*Papaveraceae*), ջղախոտազգիներ (*Plantaginaceae*), տորոնազգիներ (*Rubiaceae*), կերոնազգիներ (*Typhaceae*), գոճմակազգիներ (*Thymelaeaceae*), զուգատերևազգիներ (*Zygophyllaceae*) ընտանիքներն են:

Այսպիսով, «Որդան կարմիր» արգելավայրը ներկայանում է հարուստ բուսական կենսաբազմազանությամբ: Արգելավայրի բուսական կազմում կան կերաբույսեր, ուտելի, ներկատու, դեղատու և տնտեսական այլ արժեք ունեցող բուսատեսակներ, որոնք բոլորն էլ խիստ պահպանման կարիք ունեն:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Հայաստանի Հանրապետության բույսերի Կարմիր գիրք (բարձրակարգ բույսեր և սնկեր): Երկրորդ հրատարակություն, Երևան, ՀՀ բնապահպանության նախարարություն, 2010:
2. Սարգսյան Գ.Պ., Ոսկանյան Վ.Ե., Սյրոտյան Ա.Լ. Ագրոգիտություն, 9-10, Երևան, էջ 466-469, 2009:
3. Барсегян А.М., Барсегян Н.А., Мкртчян А.Л. Вопросы современной ботаники и микологии (Сб. статей, посвящ. 75-летию каф. ботаники ЕГУ), Ереван, с. 57-59, 1999.
4. Тахтаджян А.Л., Федоров А.Н. Флора Еревана. Л., “Наука”, 1972.
5. Флора Армении. 1-11, Ереван, 1954-2010.

Ստացվել է 29.12.2011



Биол. журн. Армении, 2 (64), 2012

ГЕНЫ ГИБРИДНОЙ ДЕПРЕССИВНОСТИ У ЭНДЕМИЧНЫХ И СЕЛЕКЦИОННЫХ СОРТОВ ПШЕНИЦ АРМЕНИИ

Р.Р. САДОЯН

Научный центр земледелия,
ruzannasad@mail.ru

Виды и сорта пшениц, произрастающих на территории Армении, отличаются высокой концентрацией генов гибридной депрессивности различных типов. Выявлены особенности их видовой, биотипической и географической локализации. Гены гибридной депрессивности обнаружены у всех изученных армянских видов пшениц, за исключением дикорастущего вида *Triticum araraticum*.

Армения – пшеница – ген – аллель – гибридная депрессивность – комплементация

Հայաստանի տարածքում աճող ցորենների տեսակները և սորտերը աչքի են ընկնում հիբրիդային ճնշվածության տարբեր տեսակի գեների բարձր պարունակությամբ: Բացահայտվել են այդ գեների աշխարհագրական, կենսաձևային և տեսակային տեղակայման առանձնահատկությունները: Հիբրիդային ճնշվածության գեները հայտնաբերվել են հայկական ցորենների ուսումնասիրված բոլոր տեսակների մոտ բացառությամբ *Triticum araraticum* վայրի տեսակի:

Հայաստան – ցորեն – ալել – հիբրիդային ճնշվածություն – կոմպլեմենտացիա

Species and varieties of wheat grown in the territory of Armenia are characterized by high concentration of genes of different types of hybrid depression. Features of their specific, biotypical and geographical localization are revealed. Genes of hybrid depression are found in all studied Armenian species of wheat, except of wild-growing *Triticum araraticum*.

Armenia – wheat – gene – allele – hybrid depression – complementation

Стародавние сорта пшениц, произрастающих на территории Армении, хорошо приспособлены к ее сложным и разнообразным почвенно-климатическим условиям. Они являются естественными донорами таких важных хозяйственно-ценных признаков, как невосприимчивость к болезням, высокобелковость, засухоустойчивость, и представляют ценный исходный материал для селекции.

До первой половины XX века основным методом селекции пшеницы являлся отбор из местных популяционных сортов. Этим методом были выделены и районированы сорта Армянка, Арташати 42, Лениакани 3, Норкондик и другие.

В селекции пшениц особенно продуктивны гибриды, полученные методом отдаленной эколого-географической гибридизации с использованием местных сортов, более устойчивых к различным неблагоприятным факторам. В дальнейшем по этому принципу были получены многочисленные высокоурожайные сорта. Однако

выяснилось, что многие из них отягощены различными генами гибридной депрессивности, наличие которых при отдаленной, межвидовой и межродовой гибридизации приводит к неизбежному появлению депрессивных гибридов различных типов. Проблему гибридной депрессивности в конце XIX века выдвигали селекционеры в связи с частым появлением в селекционных посевах летальных или депрессивных гибридных растений различных типов. Установлено, что это явление контролируется разными генетическими системами, имеющими комплементарный характер [4, 5, 15, 16]. При этом степень депрессии обуславливается множественностью аллелей генов депрессивности, взаимодействие которых может привести к глубоким изменениям гибридных организмов [1, 9, 10, 11]. Гены гибридной депрессивности, широко распространенные почти у всех современных видов пшеницы, обнаружены также у диплоидных видов и *Aegilops* [8, 9]. С этой точки зрения особый интерес представляет дикорастущий вид *T.araraticum* (AbG), у которого доминантные гены гибридной депрессивности всех четырех типов не обнаружены. Это обстоятельство повышает перспективность использования вида *T.araraticum* в селекционных программах [10, 12].

Эволюционное расселение пшениц от центров происхождения по всем континентам, зарождение доминантных комплементарных мутаций, приводящих к гибридной депрессии, и их дивергенция привели к концентрации этих мутаций по видам, образу жизни и эколого-географическим зонам. Их исследование становится особо актуальным при использовании в селекции методов отдаленной эколого-географической, межвидовой и межродовой гибридизации.

В связи с этим изучалась коллекция армянских популяционных и селекционных сортов пшениц по различным типам гибридной депрессивности (гибридный некроз, гибридный красный и белокрапчатый хлорозы, гибридная карликовость).

Материал и методика. Коллекция местных сортов пшениц получена из Научного центра земледелия и защиты растений РА. Гибриды F₁ получены методом искусственного опыления. Для выявления генов гибридной депрессивности каждого типа были использованы соответствующие сильные тестеры. Уровень депрессии определяли по срокам наступления фенекритической фазы, а также летальной эффективной.

Результаты и обсуждение. Изучением местных сортов пшениц по различным генам гибридной депрессивности выявлены особенности их видовой, биотической и географической локализации. Результаты наших исследований и обобщенные литературные данные о распространенности генов гибридной депрессивности в армянских пшеницах представлены в табл. 1.

Выяснилось, что армянские пшеницы отягощены различными генами гибридной депрессивности (65,1%). Местные популяционные сорта мягкой пшеницы и селекционные раннего периода, которые в основном получены методом индивидуального отбора из армянских популяционных сортов, являются преимущественно носителями гена Ne₁ гибридного некроза. Другим видам, произрастающим в Армении (*T.compactum*, *T.vavilovii*, *T.dicoccum*, *T.durum*, *T.persicum*), также свойственно присутствие гена Ne₁. Ген Ne₂ встречается значительно реже и только у селекционных сортов вида *T.aestivum*, полученных методом гибридизации с использованием интродуцированных сортов, часть которых является носителем доминантного гена Ne₂. У 40,3% изученных образцов доминантные гены гибридного некроза отсутствуют.

Известно, что существует связь между образом жизни и распределением генов гибридного некроза. Яровые сорта в основном являются носителями гена Ne₁, а ген Ne₂ характерен для озимых сортов [8,13].

Таблица 1. Гены гибридной депрессивности в пшеницах Армении

ВИД	Количество изученных образцов														ВСЕГО	Факторные	Бесфакторные	
	Гибридный некроз			Гибридная карликовость				Хлорозы										
	Ne ₁ ne ₂	Ne ₂ ne ₁	ne ₁ ne ₂	D ₁ d ₂ d ₃	D ₁ d ₂ D ₃	d ₁ D ₂ d ₃	d ₁ D ₂ D ₃	d ₁ d ₂ d ₃	белокрапчатый		красный							
									Ch _{1ws} ch _{2ws} Ch _{3ws}	ch _{1ws} Ch _{2ws} ch _{3ws}	ch _{1ws} ch _{2ws} ch _{3ws}	Ch _{1r} ch _{2r}	Ch _{2r} ch _{1r}	ch _{1r} ch _{2r}				
ГЕКСАПЛОИДЫ																		
T.aestivum	66	7	47	4	-	7	1	7	-	3	4	-	119	1				
T.compactum	3			1	-	1	1		-		11	-	3					
T.spelta					-						4	-						
T.vavilovii	1				-				-		2	-	1					
%	56,5	5,6	37,9	22,7	-	36,4	9,1	31,8	-	12,5	87,5	-	99,2	0,8				
ТЕТРАПЛОИДЫ																		
T.araraticum			7					7	-		7			7				
T.dicoccum	1	-	3	-	-			1	-		1			1				
T.durum	4	-		-	-		1		-		2							
T.persicum	4	-	1	-	-	2		3	-		4			4				
%	45,0	-	55,0	-	-	14,3	7,1	78,6	-		100			100				
ДИПЛОИДЫ																		
T.urartu												1						
Всего по генам	79	7	58	5	-	10	3	18	-	3	35	1	123	13	355	231	124	
%	54,8	4,9	40,3	13,9	-	27,8	8,3	50	-	7,9	92,1	0,7	89,8	9,5		65,1	34,9	

От общей закономерности локализации генов некроза в связи с образом жизни исключение составляют армянские озимые пшеницы, в подавляющем большинстве обладающие геном Ne₁. Они характеризуются также накоплением слабых (w) и умеренных (m) аллелей генов некроза.

Изучение генов гибридного красного хлороза (Ch_{1r} , Ch_{2r}) у пшениц Армении показало, что в отличие от индийских, сирийских и палестинских тетраплоидных пшениц, несущих ген Ch_{1r} (2A хромосома), местные тетраплоиды (*T.araraticum*, *T.dicoccum*, *T.durum*, *T.persicum*) не обладают этим геном. Источником гена Ch_{1r} в Армении является только *T.urartu* (2n-14), предок которого считается вероятным донором первого генома (геном A) современных культурных тетраплоидных и гексаплоидных пшениц [2, 5, 6, 13, 17].

Исследователями ботанической экспедиции университета Киото (Япония) в Армении было собрано и изучено 84 образца местных пшениц вида *T.aestivum* по генам гибридного некроза и красного хлороза. Согласно данным японских ученых, из изученных по некрозу 74 образцов 60,8% являются носителями гена Ne₁, а из изученных 84 образцов 98,8% оказались носителями доминантного гена Ch_{2r}. В изученной коллекции пшениц гены Ne₂ и Ch_{1r} ими не обнаружены [16].

Гибридный белокрапчатый хлороз, обнаруженный в Армении, является наиболее слабым типом гибридной депрессии. Он детерминируется тремя доминантными генами, из которых сочетание $Ch_{1ws}-Ch_{3ws}$ пока выявлено только у одного китайского сорта вида *T.aestivum* (v. *gracum*). Комплементарный к гену $Ch_{1ws}-Ch_{3ws}$ ген Ch_{2ws} обнаружен у образцов видов *T.aestivum*, *T.macha*, *T.durum* и *T.turgidum* [2, 4].

В Армении среди гексаплоидных пшениц носителем гена Ch_{2ws} является вид *T.aestivum* – 12,5%. У других изученных гексаплоидных (*T.compactum*, *T.spelta*, *T.vavilo vii*)

и тетраплоидных (*T.araraticum*, *T.dicoccum*, *T.durum*, *T.persicum*) видов пшениц этот ген пока не выявлен. Исследованиями подтвержден факт видовой лимитированности гена Ch_{2ws} в роде *Triticum*. У армянских пшениц бесфакторные сорта по белокрапчатому хлорозу составляют 92,1% [2, 10].

В отличие от других типов гибридной депрессии, которые характеризуются дегенерацией хлорофилльного аппарата и нарушением подвижного баланса, при гибридной карликовости наблюдается интенсивный синтез и большое накопление неактивных молекул хлорофилла, что не обеспечивает нормального хода онтогенеза [9]. Это явление детерминировано генами D_1 , D_2 , D_3 . Изучение местных образцов пшениц показало, что сочетание генов D_1 - D_3 и ген D_3 в Армении не выявлены, а ген D_1 встречается у 22,7% изученных образцов гексаплоидных пшениц (*T.aestivum*, *T.compactum*); ген D_2 встречается чаще, как в популяционных, так и в селекционных сортах различных видов. Сочетание генов D_2 - D_3 обнаружено у видов *T.aestivum*, *T.compactum* и *T.durum*. Сорта, свободные от доминантных генов гибридной карликовости, составляют 50% (табл. 1).

На основе проведенных исследований, можно утверждать, что в пшеницах Армении некоторые доминантные гены гибридной депрессивности отсутствуют (D_1 - D_3 , D_3 , Ch_{1ws} - Ch_{3ws}), а редкий ген гибридного красного хлороза Ch_{1r} представлен на диплоидном уровне (*T.urartu*). На тетраплоидном и гексаплоидном уровнях этот ген в пшеницах Армении не обнаружен. В армянских гексаплоидных пшеницах, как и в пшеницах других регионов мира, частота встречаемости гена Ch_{2r} высокая (99%).

Озимые гексаплоидные сорта, произрастающие на территории Армении, характеризуются наличием гена Ne_1 (56,5%) гибридного некроза со слабыми и умеренными аллелями. Ген Ne_2 встречается меньше (5,6%) и только у селекционных сортов гибридного происхождения. Из генов гибридной карликовости в местных пшеницах наиболее распространен ген D_2 (27,8%), а Ch_{2ws} белокрапчатого хлороза имеет небольшое распространение (7,9%) и обнаружен пока только у вида *T.aestivum*. Местные образцы дикорастущего вида *T.araraticum* свободны от доминантных генов гибридной депрессивности всех типов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабаджанян Г.А. Вопросы генетики гибридного некроза. Биолог. журн. Армении, XXIII, 2, 69-78, 1970.
2. Бекназарян Л.Г. Летальные гены у пшеницы. Распространенность. Селекционное значение проблемы, генетическое значение изучения летальных генов у пшеницы. Тр. Арм. НИИЗ, сер. Пшеница, 3, 34-61, 1975.
3. Гандилян П.А., Шакарян Ж.О., Назарова Э.А. Цитогенетические исследования гибрида *Aegilops tauschii* coss. x *Triticum urartu* Thum ex Gandil. Генетика, XXIV, 3, 494-504, 1988.
4. Дарбинян Н.О. Наследование хлороза у внутривидовых гибридов мягкой пшеницы (анализ второго и третьего поколений). Генетика, X, 12, 10-18, 1974.
5. Декапрелевич Л.Л. О получении нежизнеспособных и полужизнеспособных комбинаций при скрещивании пшеницы: Тр. Всесоюзного съезда по генет. селекции, семеновод. и племенному животноводству. Л., II, 221-227, 1929.
6. Дорофеев В.Ф., Мигушова Э.Ф. Система рода *Triticum* L. Вестник с.х науки. 2, 18-26, 1979.
7. Конарев А.В., Гаврилюк И.П., Мигушова Э.Ф. Дифференциация диплоидных пшениц по данным иммунохимического анализа глиаина. Докл. ВАСХНИЛ, 6, 12, 1974.
8. Пухальский В.А. Локализация генов гибридного некроза в сортах пшеницы СССР в зависимости от образа жизни. Доклады ТСХА, вып. 209, 75-79, 1975.
9. Пухальский В.А., Мартынов С.П., Добротворская Т.В. Гены гибридного некроза пшениц. Теория вопроса и каталог носителей летальных генов. М., 316 с., 2002.

10. Садоян Р.Р. Гибридная депрессивность пшеницы (История вопроса и каталог сортов по генам депрессивности различных типов). Ереван, изд-во „Юнипринт“, 196, 2008.
11. Садоян Р.Р., Минасбекян Л.А. Цитологические и биохимические изменения сортов мягкой пшеницы Армении под влиянием γ облучения. Известия аграрной науки, 8, 2, 32-36, 2010.
12. Садоян Р.Р. Гибридная летальность у тетраплоидных видов пшеницы. Вопросы идентификации, охраны и использования растительных генетических ресурсов. Сб. науч. трудов СХА, МСХ Армении, Ереван, 123-135, 2000.
13. Саркисян Н.С., Мкртчян А.А., Бабаджанян Г.А. Образ жизни и локализация генов некроза у пшеницы *T.aestivum*. Биолог. журн. Армении, XXIV, 4, 19-24, 1971.
14. Chapman V., Miller T.E., Riley R. Equivalence of the A genome of bread wheat and that of *Triticum urartu*. Genet. Res. 27, 1, p. 69, 1976.
15. Hermesen J.G. Hybrid dwarfness in wheat. Euphytica, 16, 1, 134-162, 1967.
16. Sachs L. The occurrence of hybrid semilethals and cytology of *Triticum macha* and *Triticum vavilovii*. Jour. of agric. Sci., 43, 2, 204-213, 1953.
17. Tsunewaki K., Nakai K. Necrosis genes in common wheat varieties from the USSR and the East Mediterranean Region. Wheat. Inform. serv., Jap., Kyoto Univ., 39, 19-30, 1974.
18. Yaaska V. Electronic survey of seedling esterases in wheats in relation to their phylogeny. Theor. Appl. Genet. 56, p.237, 1980.

Поступила 03.10.2011



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 2(64), 2012

ՀՐԱԶԴԱՆ ԳԵՏԻ ԶՐԱՖԻԶԻԿԱԿԱՆ ԵՎ ԶՐԱՔԻՄԻԱԿԱՆ ՈՐՈՇ ՑՈՒՑԱՆԻՇՆԵՐԻ ԴԻՆԱՄԻԿԱՆ

Հ.Վ. ԵՓՐԵՄՅԱՆ, Ռ.Յ. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ

ՀՀ ԳԱՎ Կենդանաբանության և հիդրոէկոլոգիայի գիտական կենտրոնի
Հիդրոէկոլոգիայի և ձկնաբանության ինստիտուտ
ehermine2000@yahoo.com

2003-2006 թթ. ուսումնասիրվել է Հրազդան գետի ջրաֆիզիկական և ջրաքիմիական որոշ ցուցանիշների դինամիկան: Գետի ակունքից մինչև «Աերացիա» դիտակետ $N [NH_4^+]$, $N[NO_2^-]$, $N[NO_3^-]$, PO_4^{3-} , BOD_5 և PO -ի ցուցանիշները գտնվել են գետերի ջրերի համար ընդունված թույլատրելի արժեքների սահմաններում, իսկ «Աերացիայից» մինչև Հովտաշեն գյուղ նշված ցուցանիշների արժեքները գերազանցել են դրանց սահմանային թույլատրելի մեծությունները:

*Հրազդան գետ – ջրաքիմիական ցուցանիշներ – սահմանային
թույլատրելի մեծություններ*

В 2003-2006 гг. была исследована динамика некоторых гидрофизических и гидрохимических показателей реки Раздан. С истока реки до станции “Аэрация” величины значения $N [NH_4^+]$, $N[NO_2^-]$, $N[NO_3^-]$, PO_4^{3-} , BOD_5 и PO были в допустимых пределах, принятых для речных вод, а от ст. “Аэрации” до с. Овташен значения указанных показателей превышали предельно допустимые величины.

*Река Раздан – гидрохимические показатели –
предельно допустимые концентрации*

Some hydrophysical and hydrochemical conditions of the River Hrazdan were investigated in the period of 2003 – 2006. From the river mouth to the observation point of “Aeracia” the MPC-es as $N[NH_4^+]$, $N[NO_2^-]$, $N[NO_3^-]$, PO_4^{3-} , BOD_5 and PO are not exceeded, but in the territory from “Aeracia” to Hovtashen the same MPC-es have been exceeded.

River Hrazdan – hydrochemical conditions – limit permissible concentration

Էկոլոգաաշխարհագրական տարբեր տեղաբաշխում, ծագում, սննդային մակարդակ և կառուցվածք ունեցող գետերի, լճերի և ջրամբարների էվտրոֆացման մեխանիզմների վերլուծությունը ցույց է տալիս, որ նշված պրոցեսների խթանման հիմնական պատճառներից մեկը «Կենսածին տարրեր և Տրոֆայնության մակարդակ» փոխհարաբերությունների խախտումն է:

Հրազդանը Սևանա լճից սկիզբ առնող միակ գետն է, որը հոսում է ՀՀ չորս (Գեղարքունիք, Կոտայք, Երևան, Արարատ) վարչական տարածքներով և ծովի մակարդակից 850 մ բարձրության վրա թափվում է Արաքս գետը: Հրազդան գետն ունի 141 կմ երկարություն, ջրհավաք ավազանի մակերեսը առանց Սևանա լճի կազմում է 2560 կմ²: Գետի միջին տարեկան հոսքը կազմում է 733 մլն մ³, միջին տարեկան ծախսը՝ 14 մ³/վ: Գետի միջին լայնությունը 10–20 մ է [2]: Հրազդան գետն ունի կարևոր ջրաէներգետիկ, ոռոգման և ռեկրեացիոն նշանակություն, ինչով բացատրվում է գետի ջրաէկոլոգիական ուսումնասիրությունների խիստ անհրաժեշտությունը:

Նյութ և մեթոդ: 2003-2006 թթ. ուսումնասիրվել է Հրազդան գետի ջրաֆիզիկական և ջրաքիմիական որոշ ցուցանիշների դինամիկան: Ջրի փորձանմուշները վերցվել են գետի ակունքից մինչև գետաբերան ընկած հետևյալ չորս դիտակետերից:

1. Հրազդան գետի ակունք [1] – (Փոքր Սևան, Հրազդան գետի սկիզբ, գետաբերանից 141 կմ հեռավորություն),

2. «Արզնի» առողջարանի մոտ [2] – (գետաբերանից 69 կմ հեռավորություն),

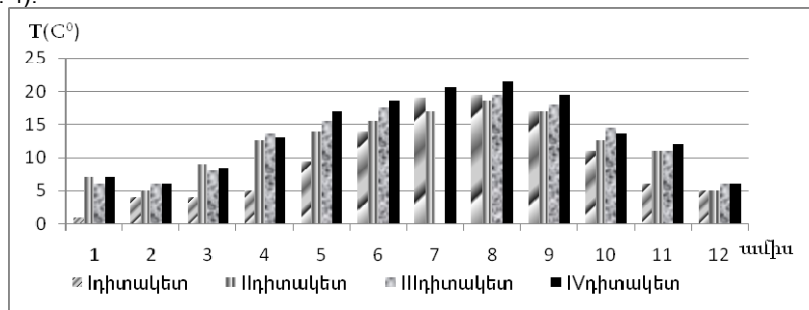
3. «Աերացիա» ջրամաքրման կայանից հետո [3] – (գետաբերանից 50 կմ հեռավորություն),

4. Հովտաշեն գյուղի մոտ [4] – (գետաբերանից 22 կմ հեռավորություն):

Ջրանմուշներում որոշվել են ջրի որակի ֆիզիկական և քիմիական որոշ ցուցանիշներ՝ ջերմաստիճանը, ջրածնային ցուցիչը (pH), ջրում լուծված թթվածնի քանակությունը, կենսածին տարրերի՝ հանքային ազոտի (NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^-) և հանքային ֆոսֆորի (PO_4^{3-}), թթվածնի կենսաքիմիական պահանջի (BOD_5) և պերմանգանատային օքսիդացման (MnO) մեծությունները:

Աշխատանքի ընթացքում օգտագործվել են ջրաքիմիայում համընդհանուր ճանաչում գտած մեթոդներ [3, 4, 5, 6, 7]:

Արդյունքներ և քննարկում: Մեր կողմից կատարված Հրազդան գետի ջրաֆիզիկական և ջրաքիմիական ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ գետի ակունքում ջրի ջերմաստիճանը տատանվել է $1-4^\circ\text{C}$ (հունվար-փետրվար) մինչև $17-19^\circ\text{C}$ (հուլիս-սեպտեմբեր) սահմաններում (նկ. 1): Գետի ակունքում ջրի ջերմաստիճանը բարձրացել է մայիսից և նվազել նոյեմբեր-դեկտեմբերին, իսկ Արզնի (2), Աերացիա (3) և Հովտաշեն (4) դիտակետերում՝ փետրվարից և նվազել դեկտեմբերին (նկ. 1):



Նկ. 1 Ջերմաստիճանի միջինացված 2003-2006 թթ. սեզոնային փոփոխությունները

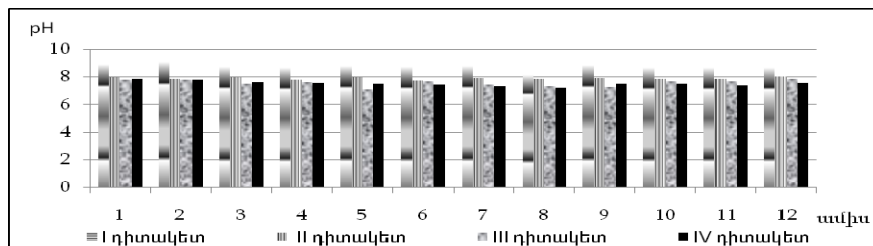
Մակերևութային ջրերում ընթացող ջրաքիմիական պրոցեսները կարգավորող հիմնական ցուցանիշներից է ջրածնային ցուցիչը, որի մեծությունից է կախված նաև ջրային բուսականության բազմացումը և կենսագործունեությունը: Լեռնային գետերում ջրածնային ցուցիչի մեծությունը ձմռանը տատանվում է 6.8–7.4, իսկ ամռանը 7.4–8.2 սահմաններում [4]:

Հրազդան գետի ակունք և Հովտաշեն դիտակետերում ջրածնային փոքրացմանը և ջերմաստիճանի բարձրացմանը զուգընթաց ջրածնային ցուցիչի մեծությունը նվազել է ամռան վերջին, Աերացիայում՝ գարնան վերջին, որը, հավանաբար, կապված է գարնանային վարարումների հետ: Արզնի դիտակետում ջրածնային ցուցիչի մեծությունը տարվա ընթացքում փոփոխվել է 7.75 (հունիս)–8.07 (դեկտեմբեր) սահմաններում:

Այսպիսով՝ Հրազդան գետի ուսումնասիրված դիտակետերի ջրածնային ցուցիչի տարեկան միջին մեծությունը կազմել է 7.95, իսկ նրա փոփոխության տիրույթը՝ 7.1 (թույլ հիմնային) – 9.1 (հիմնային) (նկ. 2):

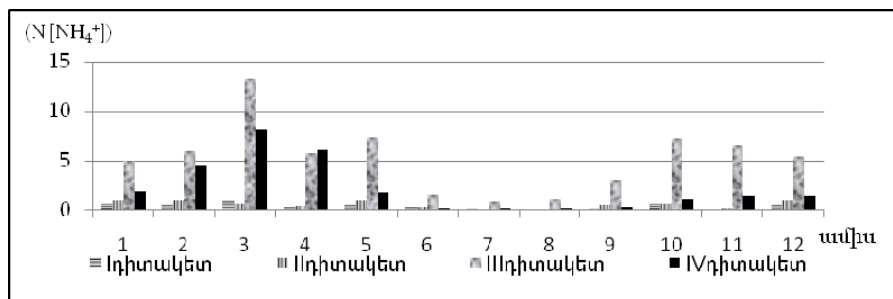
Ջրածնային ցուցիչից և ջերմաստիճանից կախված, մակերևութային ջրերում փոփոխվում է ամոնիումի ($\text{N}(\text{NH}_4^+)$) քանակը, որը կարևոր և բնորոշիչ ջրաէկոլոգիական չափանիշ է:

Քնական ջրաէկոհամակարգերում գարնանը և ամռանը ամոնիումի քանակը ջրերում փոքրանում է, որը կապված է բույսերի ակտիվ ֆոտոսինթեզի հետ, իսկ աշնանը մեծանում է՝ կապված օրգանական նյութերի քայքայման պրոցեսների ինտենսիվացման հետ [4]: Մեր ուսումնասիրություններում նշված օրինաչափությունը Աերացիա և Հովտաշեն դիտակետերում գարնան ամիսներին խախտվել է, ինչը կապված է «Աերացիա» մաքրման կայանի գործունեության հետ: Այս դիտակետերում ամոնիումային ազոտի քանակությունը տատանվել է համապատասխանաբար 0.83–13.33 մգ/լ և 0.18–8.24 մգ/լ սահմաններում (նկ. 3):



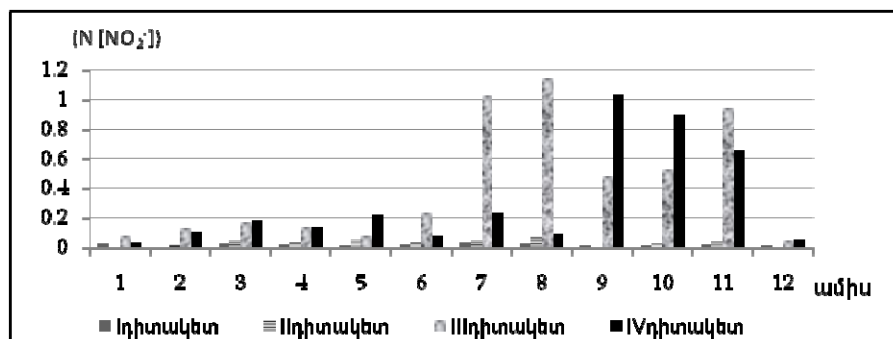
Նկ 2. Ջրածնային ցուցիչի (pH) 2003-2006 թթ.միջինացված մեծությունների սեզոնային փոփոխությունները

Այսպիսով, Աերացիա դիտակետում տարվա բոլոր ամիսներին (բացառությամբ ամռան) ամոնիումային ազոտի պարունակությունը գերազանցել է բնական ջրերի սահմանային թույլատրելի արժեքը, մոտ 6.7 մգ/լ (մարտ), իսկ Հովտաշեն դիտակետում՝ փետրվար-ապրիլ ամիսներին 2.3-4.1 մգ/լ: Հրազդան գետի ակունք և Արզնի դիտակետերում ամոնիումային ազոտի պարունակությունը տատանվել է 0.05-0.98 մգ/լ և 0.14-0.96 մգ/լ սահմաններում (նկ. 3):



Նկ 3. Ամոնիումային ազոտի (N [NH₄⁺]) 2003-2006 թթ.միջինացված քանակությունների սեզոնային փոփոխությունները, մգ/լ

Մակերևութային ջրերում նիտրիտները (N [NO₂]) հանդիպում են լուծված վիճակում և նրանց քանակությունը հանդիսանում է կարևոր սանիտարական ցուցանիշ: Մակերևութային ջրերի համար նիտրիտների սահմանային թույլատրելի կոնցենտրացիան կազմում է մոտ 0.08 մգ/լ [3]: Հրազդան գետի ուսումնասիրված դիտակետերի ջրերում նիտրիտային ազոտի պարունակությունը տատանվել է 0-1.14 մգ/լ սահմաններում: Հրազդան գետի ակունք և Արզնի դիտակետերում նիտրիտային ազոտի պարունակությունը տատանվել է 0-0.027 մգ/լ և 0.005-0.070 մգ/լ սահմաններում համապատասխանաբար, առանց կտրուկ փոփոխությունների (նկ. 4):



Նկ 4. Նիտրիտային ազոտի (N [NO₂]) 2003-2006 թթ.քանակությունների միջինացված մեծությունների սեզոնային փոփոխությունները, մգ/լ

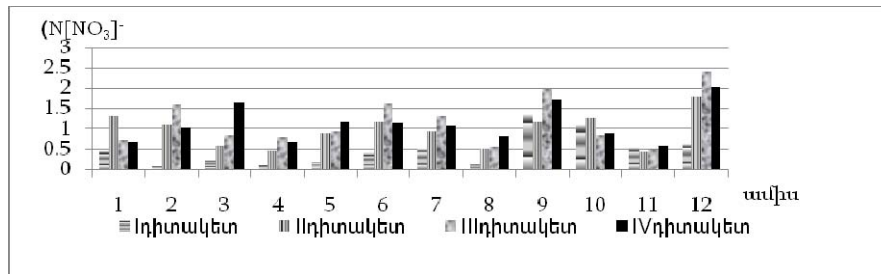
Հայտնի է, որ նիտրիտների մեծ քանակությունը կապված է բնական ջրերում օր-

գանական նյութերի և նրանց մնացորդների քայքայման ինտենսիվության մեծացման և նիտրիտներից նիտրատների փոխանցման պրոցեսների դանդաղեցման հետ, ինչը խոտում է բնական ջրերի ավտոխտոն աղտոտման մասին:

Աերացիա և Յովտաշեն դիտակետերում գրանցվել է նիտրիտային ազոտի քանակի կտրուկ աճ՝ 0.045–1.14 մգ/լ և 0.029–1.03 մգ/լ համապատասխանաբար (նկ. 4), որը գերազանցել է բնական ջրերում նիտրիտների պարունակության թույլատրելի սահմանային արժեքը:

Չաղտոտված գետերում նիտրատների քանակության սահմանային թույլատրելի արժեքը կազմում է մոտ 1 մգ/լ [4]: Ջրային բուսականության բուռն աճի ժամանակահատվածում նիտրատների քանակությունը մակերևութային ջրերում խիստ նվազում է, երբեմն նույնիսկ հավասարվում՝ զրոյի: Նրա քանակությունը մեծանում է գետի աղտոտման, ինչպես նաև ջրային բուսականության ինտենսիվ քայքայման ժամանակ:

Հրազդան գետի ուսումնասիրված դիտակետերի ջրերում նիտրատային ազոտի ($\text{N}[\text{NO}_3^-]$) պարունակությունը տատանվել է 0.09–2.40 մգ/լ սահմաններում: Հրազդան գետի ակունք և Արզնի դիտակետերում նիտրատային ազոտի քանակությունը համապատասխանաբար տատանվել է 0.09–1.38 մգ/լ և 0.42–1.80 մգ/լ սահմաններում: Աերացիա և Յովտաշեն դիտակետերում նիտրատային ազոտի քանակությունը համապատասխանաբար տատանվել է 0.49–2.40 մգ/լ և 0.57–2.03 մգ/լ սահմաններում (նկ. 5):



Նկ 5. Նիտրատային ազոտի ($\text{N}[\text{NO}_3^-]$) 2003–2006 թթ. միջինացված քանակությունների սեզոնային փոփոխությունները, մգ/լ

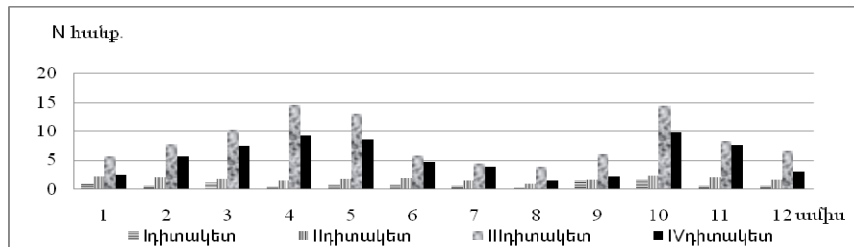
Հանքային ազոտը հանդիսանում է կենդանի օրգանիզմների կենսագործունեության հիմնական բաղադրիչը: Նրա քանակությունը և գոյակարգը ամբողջովին կախված է ջրային համակարգերում ընթացող կենսաբանական և կենսաքիմիական պրոցեսներից: Ազոտի միացությունների հանքային ձևերը յուրացվում են բույսերի կողմից ֆոտոսինթեզի պրոցեսներում, հանդիսանալով նրանց հյուսվածքների հիմնական բաղադրիչներից մեկը: Ջրային բույսերի ինտենսիվ բազմացման և զարգացման ընթացքում հանքային ազոտը կարող է լրիվ յուրացվել, որի հետևանքով բույսերի հետագա աճը շատ դանդաղում կամ լրիվ կանգ է առնում:

Հրազդան գետի ակունք և Արզնի դիտակետերում հանքային ազոտի պարունակությունը համապատասխանաբար տատանվել է 0.26–1.71 մգ/լ և 0.97–2.34 մգ/լ սահմաններում, առավելագույն արժեք գրանցվել է աշնանը՝ հոկտեմբերին: Աերացիա և Յովտաշեն դիտակետերում հանքային ազոտի քանակությունը տատանվել է համապատասխանաբար 3.82–14.6 մգ/լ և 1.54–9.85 մգ/լ սահմաններում (աղ. 6), քանակության կտրուկ մեծացում տեղի է ունեցել գարնանը և աշնանը:

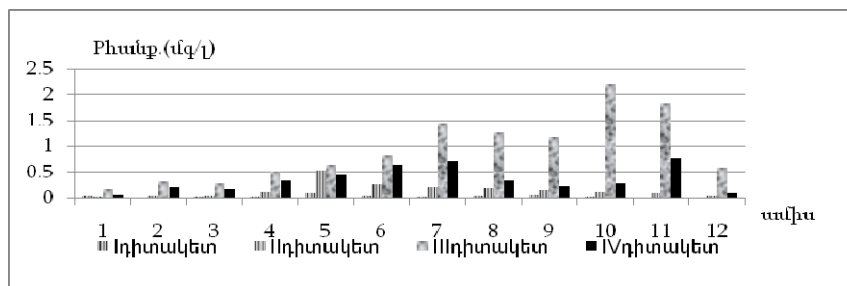
Ֆոսֆատները (PO_4^{3-}) մակերևութային ջրերում կարգավորում են արդյունավետության պրոցեսները: Բնական ջրերում ֆոսֆատների քանակության նվազումը բացատրվում է ֆիտոպլանկտոնի, ֆիտոբենթոսի և բարձրակարգ ջրային բույսերի կողմից ֆոտոսինթեզի պրոցեսում ֆոսֆատների ինտենսիվ կլանմամբ: Ջրային էկոհամակարգերում ֆոտոսինթեզից և օրգանական նյութերի կենսաքիմիական օքսիդացման ինտենսիվությունից կախված նկատվում է ֆոսֆատների քանակության սեզոնային փոփոխություն: Լեռնային գետերում ֆոսֆատների կոնցենտրացիան բնականում կազմում է 0.1–0.5 մգ/լ [4]:

Հրազդան գետի ուսումնասիրված դիտակետերում ֆոսֆատների պարունակությունը տատանվել է 0–2.2 մգ/լ սահմաններում (նկ. 7): Հրազդան գետի ակունքում և Արզնի դիտակետերում ֆոսֆատների պարունակությունը մեծացել է գարնան վերջին, իսկ տարվա մյուս ամիսներին այն կտրուկ փոփոխությունների չի ենթարկվել: Նշված

դիտակետերում ֆոսֆատների քանակությունը տատանվել է 0–0.11 մգ/լ և 0.03–0.54 մգ/լ սահմաններում (նկ. 7): Աերացիա դիտակետում ֆոսֆատների քանակության նվազագույն արժեքը կազմել է 0.18 մգ/լ, իսկ առավելագույնը՝ 2.2 մգ/լ, իսկ Հովտաշեն դիտակետում՝ 0.07 մգ/լ և 0.77 մգ/լ համապատասխանաբար: Ֆոսֆատների նվազագույն պարունակություն գրանցվել է գարնանը և ամռանը, իսկ առավելագույնը՝ աշնանը և ձմռանը: Երրորդ և չորրորդ դիտակետերում հանքային ֆոսֆորի քանակությունը աստիճանաբար մեծացել է և առավելագույն արժեք գրանցվել է աշնանը:



Նկ 6. Հանքային ազոտի (N հանք.) 2003–2006 թթ. միջինացված քանակությունների սեզոնային փոփոխությունները, մգ/լ



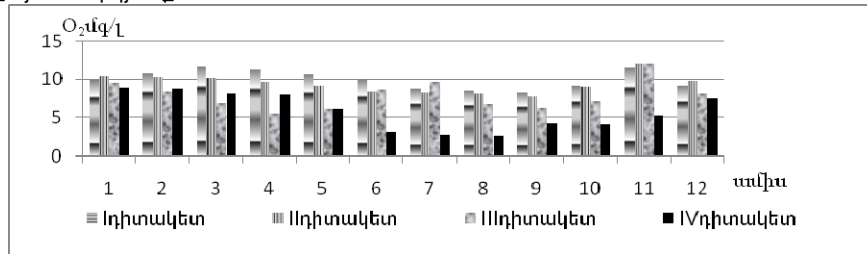
Նկ 7. Ֆոսֆատների (PO_4^{3-}) 2003–2006 թթ. միջինացված քանակությունների սեզոնային փոփոխությունները, մգ/լ

Հրազդան գետի ուսումնասիրված չորս դիտակետերում ջրում լուծված թթվածնի քանակությունների միջինացված մեծությունը կազմել է 8.3 մգ/լ, իսկ նրա փոփոխության տիրույթը տատանվել է 2.7–12.1 մգ/լ սահմաններում (նկ. 8): Հրազդան գետի ակունք և Արզնի դիտակետերում լուծված թթվածնի պարունակությունը տարվա առաջին ամիսներին բարձրացել է 9.9 մգ/լ (հունվար) մինչև 11.7 մգ/լ (մարտ), իսկ ջրի ջերմաստիճանի բարձրացմանը զուգընթաց նվազել է ապրիլ – հոկտեմբեր ժամանակահատվածում (նկ. 1, 8): Աերացիա դիտակետում ջրում լուծված թթվածնի քանակությունը նվազել է մինչև ապրիլ ամիսը, որից հետո այն աստիճանաբար բարձրացել է և առավելագույն արժեքի է հասել հուլիսին: Հոկտեմբերից նշված դիտակետում լուծված թթվածնի քանակությունը սկսում է նորից բարձրանալ: Հովտաշեն դիտակետում նկատվում է ջրում լուծված թթվածնի քանակության փոփոխությունների նմանատիպ դինամիկա, ինչպես ակունք և Արզնի դիտակետերում, միայն այն տարբերությամբ, որ Հովտաշեն դիտակետում ջրում լուծված թթվածնի քանակությունը նվազել է մինչև 2.7 մգ/լ (օգոստոս) առավելագույն ջերմաստիճանի պայմաններում, որը հավանաբար պայմանավորված է նաև տվյալ տարածքում գետի ինքնամաքման ունակության մեծացումով, օրգանական նյութերի և օրգանական մնացուկների ինտենսիվ քայքայումով և հետագա օքսիդացումով: Մակերևութային ջրերում թթվածնի կենսաքիմիական պահանջի մեծությունը սովորաբար տատանվում է մոլեկուլային թթվածնի 0.5–4 մգ/լ սահմաններում և ենթակա է սեզոնային և օրական տատանումների: Ջրամբարներում թթվածնի կենսաքիմիական պահանջի սեզոնային տատանումները հիմնականում կախված են ջերմաստիճանի փոփոխություններից և լուծված թթվածնի ելակետային քանակությունից, իսկ օրական տատանումները լուծված թթվածնի կոնցենտրացիայից, որն օրվա ընթացքում կարող է փոփոխվել 2.5 մգ/լ մեծության սահմաններում:

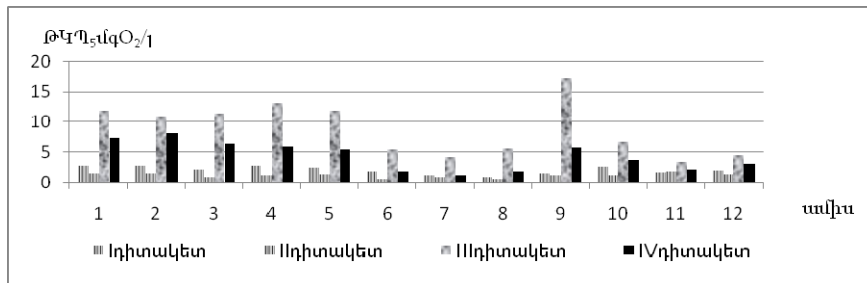
Հրազդան գետի 2003-2006թ.թ. ընթացքում ուսումնասիրված դիտակետերում թթվածնի կենսաքիմիական պահանջի (ԹԿՊ_5) մեծության միջինացված արժեքը կազմել է 4.2 մգ O_2 /լ, իսկ նրանց փոփոխության տիրույթը՝ 0.6 մգ O_2 /լ–17.3 մգ O_2 /լ (նկ. 9):

Հրազդան գետի առաջին և երկրորդ դիտակետերում թթվածնի կենսաքիմիական պահանջի մեծությունները աճել են գարնանը և աշնանը, երրորդ դիտակետում գրանցվել է ավելի բարձր արժեքներ (17.3 մգ O_2 /լ) (նկ. 9):

ԹԿՊ_5 -ի քանակությունը գերազանցել է բնական ջրերի թույլատրելի սահմանային արժեքները 2–4 անգամ, ինչը հավանաբար, Հրազդան գետի նշված հատվածի ջրերի ինտենսիվ աղտոտման, ինչպես նաև, աշնանը՝ ջրային բարձրակարգ բույսերի քայքայման արդյունք է:



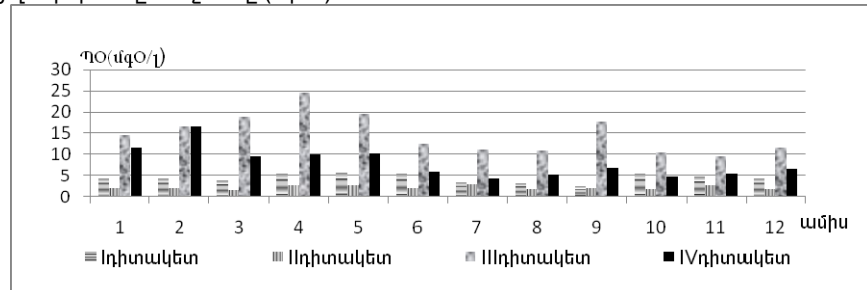
Նկ 8. Զրում լուծված թթվածնի 2003-2006 թթ.միջինացված քանակությունների սեզոնային փոփոխությունները, մգ/լ



Նկ 9. Թթվածնի կենսաքիմիական պահանջի (ԹԿՊ_5) 2003-2006 թթ.միջինացված քանակությունների սեզոնային փոփոխությունները, մգ O_2 /լ

Պերմանգանային օքսիդացման մեծությունը արտահայտում է մակերևութային ջրերում հեշտ օքսիդացվող օրգանական նյութերի քանակը, որը չաղտոտված բնական ջրերում պետք է չգերազանցի 5 մգ O /լ մեծությունը: Սովորաբար լեռնային մաքուր գետերում նրա մեծությունը կազմում է 2–3 մգ O /լ [4]:

Հրազդան գետի ուսումնասիրված դիտակետերում պերմանգանատային օքսիդացման արժեքների միջինացված մեծությունը կազմել է 7.4 մգ O /լ, իսկ նրանց նվազագույն և առավելագույն արժեքները ընկած են 1.7 մգ O /լ–24.6 մգ O /լ տիրույթում: Ուսումնասիրված դիտակետերում պերմանգանատային օքսիդացման մեծությունը բարձրացել է գարնանը և աշնանը (նկ. 10):



Նկ 10. Պերմանգանատային օքսիդացման (ՊՕ) 2002-2004 թթ.միջինացված քանակությունների սեզոնային փոփոխությունները, մգ O /լ

Գետում հեշտ օքսիդացվող (ՊՕ) օրգանական նյութերի քանակը չի գերազանցում թույլատրելի սահմանային քանակությունները միայն առաջին (4.3 մգՕ/լ) և երկրորդ (2.2 մգՕ/լ) դիտակետերում: Երրորդ (14.8 գՕ/մ³) և չորրորդ (8.1 գ Օ/մ³) դիտակետերում ՊՕ-ի արժեքները գերազանցում են ՊՕ-ի թույլատրելի սահմանային մեծությունները 2-5 անգամ (սկ.10):

Այսպիսով, Հրազդան գետի ակունքից մինչև Աերացիա դիտակետի տարածքը $N[NH_4^+]$, $N[NO_2]$, $N[NO_3]$, PO_4^{3-} , Ca^{2+} և ՊՕ-ի պարունակությունները գտնվել են գետերի ջրերի համար ընդունված թույլատրելի սահմանային արժեքների սահմաններում, իսկ Աերացիայից մինչև Հովտաշեն գյուղ նշված ցուցանիշների արժեքները գերազանցել են նրանց թույլատրելի սահմանային մեծությունները 2-5 անգամ:

Հրազդան գետում հեշտ յուրացվող և օքսիդացվող օրգանական նյութերի, ինչպես նաև ջրում լուծված թթվածնի քանակությունների փոփոխությունների օրինաչափությունները ցույց են տալիս, որ գետի ինքնամաքման պրոցեսների ինտենսիվությունը բավականին բարձր է: Բացառություն է կազմում Աերացիա դիտակետի տարածքը, որտեղ գետի ջրերը լրացուցիչ հարստանում են տեխնածին օրգանական նյութերով, որոնց 50% - 60%-ը մինչև Հովտաշենի տարածք հանքայնացվում են:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Չիլինգարյան Լ.Ա.*, Տարածաշրջանի ջրային ռեսուրսների կառավարման հիմնահարցը, Ատենախոսություն գիտ. զեկ. ձևով, Երևան, 128 էջ, 1997:
2. *Չիլինգարյան Լ.Ա., Սևադակյանյան Բ.Պ., Աղաբաբյան Կ.Ա., Թըքմաջյան Դ.Վ.*, Հայաստանի գետերի ու լճերի ջրագրությունը, Երևան, էջ 17- 49, 2002:
3. *Зенин А.А., Белоусова Х.В.* Гидрохимический словарь. Л., 1988.
4. *Никоноров А. М.*, Гидрохимия. СПб, Гидрометеиздат. 444 с, 2001.
5. Унифицированные методы анализа вод, Под общей редакцией Ю.Ю. Лурье. М., 1971.
6. Унифицированные методы исследования качества вод. Методы химического анализа вод, ч. 1, М., с. 126-620, 1987.
7. *Цыцарин Г.В., Шмидеберг Х.А.* Гидрохимический практикум. Общие методы анализа и обработки основных гидроэкологических данных. Изд-во МГУ, с. 69, 1973.

Ստացվել է 31.08.2011



Biolog. Journal of Armenia, 2 (64), 2012

ELUCIDATION OF DPPH ANTIRADICAL AND PHOTODYNAMIC ACTIVITIES OF *HYPERICUM PERFORATUM* EXTRACTS

H.R. VARDAPETYAN, S.G. TIRATSUYAN, A.A HOVHANNISYAN,
A.S. MARTIROSYAN

Russian-Armenian (Slavonic) University, Biomedical faculty
hvardapetyan@mail.ru

The antioxidative potentials of extracts of *Hypericum perforatum* from Tavush region of Armenia were evaluated by DPPH assay with simultaneous monitoring of the total flavonoids content. It was shown that *H. perforatum* ethanolic and aqueous extracts express significant antiradical activity with near inhibition capacities that vary significantly in their ratio index (RI). The DPPH scavenging activity in ethanolic extract correlates with flavonoids content. Ethanolic extract has been shown to have photohemolytic activity that is less than that of pure hypericin. It was revealed the protective effect of quercetin on hypericin induced photohemolysis. This certifies the possible and antiradical activity and the reduced phototoxicity of ethanolic extract expressed by flavonoid compounds.

Hypericum perforatum – flavonoids – DPPH – photodynamic activity

Ուսումնասիրվել է ՀՀ Տավուշի մարզում աճող *Hypericum perforatum*-ի էքստրակտների հակաօքսիդիչ ակտիվությունը (DPPH) և ֆլավոնոիդների ընդհանուր պարունակության մոնիտորինգը: Բացահայտվել է, որ *H. perforatum*-ի էթանոլային և ջրային էքստրակտները ցուցաբերելով բավականաչափ տարբեր ինդեքսներ (RI)՝ ունեն հակառադիկալային մոտ ակտիվություն: DPPH-ի հանդեպ հակառադիկալային ակտիվությունը կորելացվում է էթանոլային էքստրակտի ֆլավոնոիդների պարունակության հետ: Ցույց է տրվել, որ էթանոլային էքստրակտի ֆոտոդինամիկ ակտիվությունը հիպերիցինի համեմատ ավելի թույլ է: Հայտնաբերվել է քվերցետինի պաշտպանիչ դերը հիպերիցինով մակածված ֆոտոհեմոլիզում: Ենթադրվում է, որ էթանոլային էքստրակտների և ֆոտոտոքսիկության նվազումը և հակաօքսիդիչային ակտիվությունները պայմանավորված են ֆլավոնոիդային միացություններով:

Hypericum perforatum – ֆլավոնոիդներ – DPPH – ֆոտոդինամիկ ակտիվություն

Исследован антиоксидантный потенциал экстрактов зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum*) из Тавушского марза Армении анализом антирадикальной (DPPH) активности с одновременным мониторингом общего содержания флавоноидов. Показано, что этанольный и водный экстракты *H. Perforatum* обладают близкой антирадикальной активностью при значительной отличающемся индексе (RI). Антирадикальная активность против DPPH спиртового экстракта коррелирует с содержанием флавоноидов. Этанольный экстракт обладает более слабой фотодинамической активностью по сравнению с гиперидином. Выявлено протекторное действие кверцетина на фотогемолиз, индуцированный гиперидином. Возможно, что как антирадикальная активность, так и низкая фототоксичность этанольного экстракта обусловлены флавоноидными компонентами.

Hypericum perforatum – флавоноиды – DPPH – фотодинамическая активность

Hypericum perforatum (St. John's wort) has a wide range of medicinal applications, including skin wounds, eczema, burns, diseases of the alimentary tract and psychological disorders. The particular biological activity of plant extracts could be connected with the presence of a single [4; 10; 17] and several compounds that collectively provoke a variety of physiological responses. One of the most active components of extracts of *H. perforatum* is hypericin (HY) (1,3,4,6,8,13-Hexahydroxy-10,11-dimethylfenantro [1,10,9,8-*opqra*]perylene-7,14-dion), that is known as photodynamic agent [1]. HY is considered as the most powerful natural photosensitizer with high quantum yield of singlet oxygen ($^1\text{O}_2$), bright fluorescence and minimal dark toxicity [3]. *H. perforatum* has significant anti-tumor activity with low toxicity that was shown both on cell cultures and in vivo. This effect is connected mainly with HY that selectively accumulates in transformed cells [1; 13]. Besides, antitumor effect of *H. perforatum* could be due to flavonoids, i.e. quercetin (1,3,4,6,8,13-hexahydroxy-10,11-dimethylphenanthroperylene-7, 14-dion) – the most widely distributed flavonoid that acts not only neutralizing a variety of cancer-causing agent, e.g. reactive oxygen species (ROS), but also can inhibit many types of cancer cells growth and metastasis. Thus the role of *H. perforatum* flavonoids content in the fight against cancer cannot be ignored [12]. There is an increasing interest in natural antioxidants, namely phenols, present in medicinal and dietary plants, that might help prevent oxidative damage [7].

In spite of this intense research activity, the antioxidant potential of *H. perforatum* extracts has been poorly studied. The aim of current work was to elucidate photodynamic and free radical scavenging activities of *H. perforatum* extracts, determine the relationship of flavonoids composition.

Materials and methods. *H. perforatum* plants (flowers, approx. 3-5 cm of stem) were collected in 2010 from Tavush region of Armenia and the biomass was dried on the same day for the preparation of ethanolic and water extracts [16].

Aluminum chloride colorimetric method was used for flavonoids determination [5]. As a flavonoid standard the quercetin (0.1–10 $\mu\text{g/ml}$) dissolved in ethanol was used. The calibration curves traced for standard solutions of quercetin/ Al^{3+} complexes at 430 nm. From the calibration curve the dependence of quercetin concentration on absorption (A_{430}) was revealed that is expressed in the equation with a coefficient of determination (R^2):

$$C_{\text{quercetin}} = -0.19 + 14.64 \times A_{430}; \quad R^2 = 0.9834 \quad (1)$$

To calculate the quantity of total flavones (expressed as quercetin equivalents as mg/g of dry weight of plant material) in *H. perforatum* extracts the dilution factor was quantified and the concentration [mg flavonoid / g sample] was calculated by equation:

$$C_{\text{Flav.}} = V \text{ (ml)} \times 10^{-3} / m \text{ (g)} \times F \times C_{\text{det}} \text{ (mg/ml)}, \quad (2)$$

where: V is the volume of solution prepared from the plant material, m is the mass of plant material, F is the dilution factor that is equal to 10, C_{det} is the flavonoid content for each extract, quantifies by formula (2).

Antiradical activity or hydrogen donating ability of tested extracts compounds was assessed in a chemical model, i.e. 2,2-diphenyl-picrylhydrazyl radical (DPPH) system, occurring by the DPPH radical transformation into its reduced form (DPPH-H), which is accompanied by discoloration of the solution from red to yellow [11; 9]. DPPH solution was used as a negative control. Quercetin solution was used as a positive control. A remnant optical density of DPPH at 517 nm (14.5% in average) was detected even after its complete scavenging and thus the percentage of the radical scavenging activity (RSA) was calculated by the following equation:

$$\text{RSA}\% = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / (A_{\text{control}} - A_{\text{remnant}})] \times 100, \quad (3)$$

The IC_{50} values that denote the concentration of sample, required for scavenging the 50% of DPPH free radicals were calculated and expressed as means $\pm$ SD. The IC_{50} values were calculated by a linear regression analysis. To show the DPPH discoloration reaction kinetics the IC_{50} values were converted to a ratio by dividing them to a value, where a total DPPH reduction is in its steady state. This ratio was named reduction index (RI), a kinetic parameter that measures the velocity of the reaction of DPPH reduction.

To reveal the photodamaging effect on red blood cells (RBCs) the extract was standardized by HY content (0.46 μ M). Photodynamic activity of *H. perforatum* ethanolic extract and HY with/without quercetin was studied by photo-RBC test. RBCs suspensions in the presence of photosensitizer – extract or HY were irradiated for 10 min by visible light [5]. Evaluation of RBC hemolysis degree was conducted at 680 nm and calculated by formula:

$$\% \text{ hemolysis} = (1 - A_x/A_0) \times 100\%, \quad (4)$$

where A_0 and A_x – optical densities of RBC suspension initial and after irradiation during x time, respectively.

The influence of quercetin (up to 5 μ M) on HY induced photohemolysis was studied by 10 min irradiation of RBC suspension. Long lasting incubation of 5% ethanol with RBCs did not cause hemolysis in dark, as well as after irradiation.

Experimental results are expressed as means $\pm$ SD (standard deviation). All measurements were replicated three times. The data were analyzed by a one-way analysis of variance (ANOVA) and the values of $p < 0.05$ were considered as significant.

Results and Discussion. Most of the naturally occurring compounds of flavonoid origin contain one or more common structural features that can be involved in complex formation with metals, e.g. with aluminum. This property of flavonoids was used to reveal their content in *H. perforatum* extracts. The data received in this research indicate that the flavonoids content in ethanolic extracts of *H. perforatum* exceeds that of aqueous extracts more than 8 times (tab. 1).

Table 1. Flavonoid and hypericin contents of *H. perforatum* extracts. IC_{50} and RI values for DPPH radical scavenging activities of extracts and quercetin. Values are the mean of five independent experiments (mean $\pm$ SD, $p < 0.05$).

Tested samples	Flavonoid content, mg/g	hypericin content, μ M	IC_{50} , mg/ml	RI
Ethanolic extracts	0.59 ± 0.031	30.0 ± 0.5	0.68 ± 0.036	0.26 ± 0.017
Aqueous extracts	0.073 ± 0.004	7.0 ± 0.05	0.75 ± 0.045	0.08 ± 0.005
Quercetin	–	–	0.01 ± 0.003	0.29 ± 0.021

Antiradical activities of *H. perforatum* ethanolic and aqueous extracts were detected by their ability to reduce the DPPH radicals. On the fig. 2 shows the radical scavenging activities of the extracts expressed as quercetin equivalents (mg quercetin/ml sample). The obtained quenching activities against DPPH radicals were dose-dependent. From the dose-activity curves concentration of each extract causing radical scavenging on 50% or inhibition concentration (IC_{50}) against 460 μ M DPPH was determined graphically. Both extracts of *H. perforatum* showed high free radical scavenging activities by DPPH assay (fig. 1).

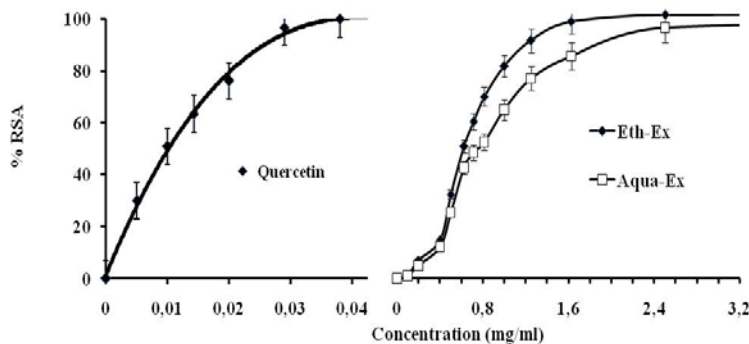


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity (RSA) of quercetin (left) and ethanolic and aqueous extracts of *H. perforatum* (right) (mean $\pm$ SD of five independent experiments, $p < 0.05$).

The major photosensitizing compound in *H. perforatum* extract is HY. Considering the high amount of the latter in ethanolic extracts (tab. 1) further experiments on elucidation of photodynamic properties were conducted with ethanolic extract. It was shown that HY causes RBCs hemolysis upon irradiation, which depends on HY concentration [16]. The comparison of the photodynamic properties of HY with ethanolic extract revealed that RBCs are more resistant in the case of extract with the same amount of HY in it (fig. 2). This fact allows concluding that there are several components within the extract that prevent the photoinduced destruction of RBCs. Flavonoids and quercetin in particular can serve as protectors due to their antioxidative properties [12].

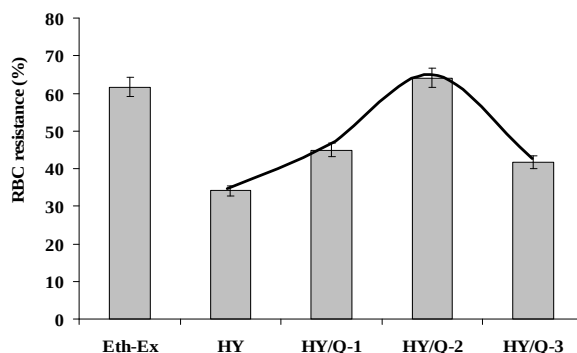


Fig 2. RBC resistance (in %) under the photodynamic (10 min irradiation) influence of *H. perforatum* ethanolic extract and HY (0.46 μ M) alone, as well as under the joint action of HY with quercetin (Q), where HY/Q -1; -2; -3 are the molar ratios of HY and Q of 1/0.1; 1/1 and 1/10, respectively (mean $\pm$ SD of four independent experiments, $p < 0.01$).

To ascertain the input of quercetin in RBCs protection the RBCs were irradiated with HY and quercetin in different concentrations (fig. 2). Results show that in concentrations of 0.05 – 1 μ M quercetin had strong protective effect on photohemolysis, induced by HY with a maximal effect of 64 % in about 0.5 μ M. This effect certifies that quercetin act as antioxidant and quenches the generated ROS, mainly the $^{1}O_2$ that forms during the photosensitization by HY in used concentration. Quercetin itself, despite its concentration and irradiation time, did not lead to RBCs destruction.

H. perforatum plants are reported to have multiple biological activities including vasodilator, anti-inflammatory, anticancer, antiviral, antibacterial etc [4, 5]. Several compounds in *H. perforatum* could be attributed to its wound healing and other pharmacological activities associated with free radicals. Ethanolic extracts of *H. perforatum* are known to contain a number of phenolic compounds, including HY, hyperforin and their derivatives, rutin, hyperoside, quercetin, chlorogenic acid, flavonols, flavones, etc [6].

The results of this study have revealed the antioxidant potential of *H. perforatum* aqueous and ethanolic extracts. DPPH radical scavenging effect of both extracts had dose-dependent character. The calculated IC_{50} values indicate that the antioxidant activity of ethanolic extract of *H. perforatum* is a little higher than its aqueous extract. It is known that the flavonoids content in extracts plays a significant role in their antioxidant capacity [8]. The aqueous extract of *H. perforatum* has a low content of HY and flavonoids that suggests that the expressed antiradical activity is more likely caused by water-soluble non-flavonoid origin antioxidant compounds. The high radical scavenging activity value of ethanolic extracts is likely connected with content of flavonoids and quercetin in particular the content of which was shown to be 8 times more in ethanolic extracts (tab. 1).

The IC₅₀ values give little information about the reaction kinetics, in terms of velocity [2]. Therefore, we used an additional parameter, the reduction index (RI) that measures the velocity of the reaction of DPPH reduction to DPPH-H – characterize the DPPH bleaching rate (tab.1). This parameter gives an idea of the reactivity of tested extracts in bleaching the DPPH free radical. Both extracts induced a moderate decrease in the free DPPH radical (when compared with quercetin reactivity). It was shown that inserted RI values differ significantly for ethanolic and aqueous extracts (3.2 times), but practically similar for ethanolic extract and quercetin. Thus, despite the practically similar IC₅₀ values, the ethanolic extract of *H. perforatum* was more reactive. It is possible that slow velocity of DPPH decolorization by aqueous extract is due to antioxidant compounds of non-flavonoid origin.

It was evidenced that DPPH scavenging could be separated in two parts: a first rapid one and a second in which the radical was being scavenged at a very slow rate. The stoichiometries of the rapid and slow stages are basic elements for explanation of the antiradical activity, as they could reveal the contribution of different functional groups to scavenging reactions. The rapid stage could be possibly attributed to the very reactive o-hydroxyls of B-ring as quercetin. In such case a reaction between the flavonoid and DPPH takes place to produce less active quinone [15]. The high activity of the extract therefore, could be attributed to the presence of phenolic compounds in it. This may also be associated with the presence of soluble alkaloids and phenolic compounds in substantial amounts as observed in the phytochemical screening [1]. Besides, synergism of phenolic compounds in an extract may contribute to the overall antioxidant activity.

The ethanolic extract of *H. perforatum* revealed also photodynamic activity. The mechanism currently thought to be responsible for the phototoxicity of *H. perforatum* extracts and HY in particular involves the production of ¹O₂ and superoxide radicals upon light-activation. The production of ROS by HY upon light activation can cause oxidative damage leading to cell death, inducing apoptosis at lower concentrations of HY and light energy, whereas higher concentrations tend to induce necrotic cell death [13; 7]. The phototoxicity of HY on RBCs model has been shown to be concentration and light dose-dependent [16]. Ethanolic extract of *H. perforatum* exhibited phototoxic effect that is lower in comparison with pure HY. The fewer phototoxic side effects of *H. perforatum* extracts may be due in part to the antioxidant properties of other constituents present within the extract, such as flavonoids, phenolic acids, porphyrins. These constituents may be able to elicit cellular protection by reducing the amount of ROS generated by photo-induced HY, thus decreasing oxidative damage. In model experiments in vitro on RBCs a constituent of flavonoids origin – quercetin when supplemented with HY lowers the phototoxicity of the latter on about 30%, that correlate well with the clinical evidence suggesting that administration of *H. perforatum* extracts containing the photo-activated HY compounds may cause fewer skin photosensitization reactions than administration of pure HY. Based on these studies, it seems as though HY administered via *H. perforatum* extracts may be less toxic than administration of pure HY [14]. This attenuation may have occurred by multiple mechanisms including scavenging the free radicals produced by HY or competing for light energy, reducing the occurrence of triplet state HY. This property of *H. perforatum* extracts allow joint application HY with certain antioxidant components of the extract in photodynamic therapy in more beneficial conditions comparing with pure HY that can prevent side effects, such as RBCs photodestruction. Therapy using free-radical scavenging antioxidants has potential to prevent, delay or ameliorate many of disorders.

Data gathered in this study demonstrated the ability of ethanolic and aqueous extracts of *H. perforatum* to scavenge the DPPH stable radical with near IC₅₀ that varies significantly in their RI. In aqueous extract the DPPH decolorization activity seems to be connected with contribution of soluble components of non-flavonoid origin. The DPPH stable radical scavenging activity correlates with flavonoids content in ethanol extract.

Acknowledgements

This work was funded by the Ministry of Education and Science and the State Committee of Science of RA (grants # 242_N and # 706).

REFERENCES

1. Agostinis P., Vantieghem A., et al. Hypericin in cancer treatment: More light on the way The Int. J. of Biochemistry and Cell Biology. 34, p.221–241, 2002.
2. Barnes J., Anderson L., Phillipson J. St John's Wort (*Hypericum perforatum* L.): a review of its chemistry, pharmacology and clinical properties. J. Pharm. Pharmacol., 53. p.583–600, 2001.
3. Behl C., Mosmann B. Antioxidant neuroprotection in Alzheimer's disease as preventive and therapeutic approach. Free Radical Biology and Medicine. 33, p.182–191, 2002.
4. Bilia A., Gallori S., Vincieri F. St. John's Wort and depression: efficacy, safety and tolerability – an update. Life Sci. 70. p.3077–3096, 2002.
5. Chang C., Yang M., et al. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. J. Food Drug Analysis. 10, p.178–182, 2002.
6. Cseke L., Kirakosyan A., Kaufman P. et al. In "Natural products from plants" 2nd ed. Taylor and Francis Group, Boca Raton, London, New York. p.611, 2006.
7. Gardner P., White T., C., et al. The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. Food Chemistry. 68. p. 471–474, 2000.
8. Khanduja K., Bhardway A. Stable free radical scavenging and antiperoxidative properties of resveratrol compared in vitro with some other bioflavonoids. Ind. J. of Biochemistry and biophysics 2003. V.40. P.416–422.
9. Koleva I., Van Beek T., et al. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. Phytochemical Analysis. 13. p.8–17, 2002.
10. Laakmann G., Jahn G., Schule C. Hypericum perforatum extract in treatment of mild to moderate depression. Clinical and pharmacological aspects. Nervenarzt. 73, p.600–612, 2002.
11. Mensor L., Menezes F., et al. of Brazilian Plant Extracts for Antioxidant. Activity by the use of DPPH Free Radical Method. Phytother. Res. 15. p.127–130, 2001.
12. Middleton E., Kandaswami C., Theoharides T. The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. Pharmacol. Rev. 52,4. p.673–751, 2000.
13. Miskovsky P. Hypericin - A New Antiviral and Antitumor Photosensitizer: Mechanism of Action and Interaction with Biological Macromolecules. Current Drug Targets. 3. p.55–84, 2002.
14. Schmitt L., Liua Y., Murphya P., et al. Reduction in hypericin-induced phototoxicity by Hypericum perforatum extracts and pure compounds. J. Photochem Photobiol B. 85, 2. p.118–130, 2006.
15. Tsimogiannis D., Oreopoulou V. The contribution of flavonoid C-ring on the DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3V,4V-hydroxy substituted members. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 7. p.140–146, 2006.
16. Vardapetyan H., Martirosyan A., Tiratsuyan S., et al. Interaction between hypericin and hemoglobin. J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 101. p. 53–58, 2010.
17. Wills R., Bone K., Morgan M. Nutritional Research Reviews. Herbal products: Active constituents, modes of action and quality control. Nutritional Research Reviews, 13, p.47–77, 2000.

Received 23.07.2011



Biolog. Journal of Armenia, 2 (64), 2012

FLUCTUATING ASYMMETRY IN THE OTOLITH DIMENSIONS OF LUTJANUS BENGALENSIS (LUTJANIDAE) COLLECTED FROM MUSCAT COAST ON THE SEA OF OMAN

L.A. JAWAD

Marine Science and Fisheries Centre, Ministry of Fisheries Wealth,
Sultanate of Oman, P.O. Box 427, Postal Code 100, Muscat, Sultanate of Oman.
laith_jawad@hotmail.com

The otolith length and width of adult teleost *Lutjanus bengalensis* were used to calculate the fluctuating asymmetry in these two characters. The results showed that the level of asymmetry of the otolith width was the highest among the two asymmetry values obtained for the otolith of *Lutjanus bengalensis*. On the other hand, the lowest level of asymmetry in the two otolith characters is at the fish length ranging between 19.0-19.9 mm and the highest at the fish length ranging between 23.0-23.9 mm. The possible cause of the asymmetry in this species has been discussed in relation to different pollutants and their presence in the area. A trend of increase in the asymmetry values with the fish length was noticed for the otolith length and width.

*Bilateral asymmetry – otolith – Lutjanidae – ecological indicator –
Lutjanus bengalensis*

Lutjanus bengalensis հասուն ձկան օթոլիտի մոտ երկարությունն ու լայնքը օգտագործվել են հաշվարկելու այդ երկու պարամետրերի ֆլուկտուացող ասիմետրիան: Արդյունքները ցույց են տալիս, որ օթոլիտ լայնքի ասիմետրիայի մակարդակն ամենամեծն էր *Lutjanus bengalensis* ձկան օթոլիտից ստացված ասիմետրիայի երկու արժեքների միջև: Մյուս կողմից, երկու օթոլիտ պարամետրերի ասիմետրիայի ամենացածր մակարդակը գտնվում է ձկան երկարության՝ 19.0-19.9 մմ սահմաններում, իսկ ամենաբարձրը՝ երկարության 23.0-23.9 մմ սահմաններում: Այդ տեսակների մոտ ասիմետրիայի հնարավոր պատճառը քննարկվում է հաշվի առնելով տարբեր ախտոտվածություններն ու դրանց առկայությունը միջավայրում: Ձկան երկարության հետ ասիմետրիայի արժեքների ավելացման միտումը նկատվում է օթոլիտի երկարության և լայնքի համար:

*Երկկողմանի ասիմետրիա – օթոլիտ – Lutjanidae – էկոլոգիական ցուցիչ –
Lutjanus bengalensis*

Длина и ширина отолита взрослой рыбы *Lutjanus bengalensis* применялись для расчета флуктуирующей асимметрии этих двух параметров. Результаты показали, что уровень асимметрии ширины отолита самый высокий среди двух значений асимметрии отолита, полученного у рыбы *Lutjanus bengalensis*. С другой стороны, самых низкий уровень асимметрии двух параметров отолита находится в пределах длины рыбы 19.0-19.9 мм, а самых высокий – в пределах длины рыбы 23.0-23.9 мм. Возможная причина асимметрии у этих видов обсуждается в связи с разными загрязнениями и их наличием в среде. Для длины и ширины отолита взрослой рыбы наблюдается тенденция увеличения значений асимметрии.

*Двусторонняя асимметрия – отолит – Lutjanidae – экологический показатель –
Lutjanus bengalensis*

Fluctuating asymmetry is the differential development of a bilateral character between the sides of an organism [41, 32, 25]. Fluctuation asymmetry can reflect developmental instability [31, 16], which is the inability of an organism to compensate for disturbances during development [43], and can be affected by stress related to environmental or genetic conditions. Thus, the situation of fish larvae facing unfavourable conditions can be indicated by the study of the high fluctuating asymmetry of several morphological characters. Hence, the bilateral asymmetry measure could show the severe effect on the condition of the organism.

The relationship between fish condition and fluctuating asymmetry has been studied for adult fishes, and a number of measurements have been proposed, including the number of gill rakers, pectoral fin rays, fish body proportions, eye spot area, or otolith size and shape [5, 3, 15, 36, 37, 21, 22, 23, 30, 19].

[17 and 18] have reviewed and determined the effect otoliths asymmetry in fish behaviour. This could affect survival of larvae in terms of misleading them in finding proper settlement grounds.

As fluctuating asymmetry studies were never performed on the otolith dimensions of the species in question in Omani waters or on that of the same species from other localities in Omani waters the present work represents the first study on fish otolith asymmetry of the Sea of Oman.

The present work studied fluctuating asymmetry in the otolith length and width of the teleost fish *Lutjanus bengalensis* collected from the Sea of Oman near Muscat City.

The present study aims to provide information related to the detection of suitable settlement habitats by the larvae of *Lutjanus bengalensis*.

Materials and methods. Description of sampling area. Sultanate of Oman is a fortunate country as it lies on the coasts of three seas, the Arabian Gulf, the Sea of Oman and The Arabian Sea. This country has an extensive coastline of 3,165 km, which includes the Gulf of Oman in the North and the Arabian Sea in the South. Muscat is located in northeast Oman, at 24°00'N 57°00'E 24°N 57°E with the Sea of Oman forms the northern and western periphery of the city.

The climate generally is very hot, with temperatures reaching 54 °C (129.2 °F) in the hot season, from May to September with very little rainfall. Annual rainfall averages in Muscat City is 100 mm, falling mostly in January.

The water along to coast of Muscat runs deep, forming two natural harbors, in Muttrah and Muscat. The Western Al-Hajar Mountains run through the northern coastline of the city.

The marine area in the vicinity of Muscat City is characterized with inshore islands, rocky stacks and mangrove forest. In addition, the coasts can be of several types, alluvial plains, delta, raised gravel terraces, coastal cliffs, sandy and Sabkha [38]. The ecological factors such as water temperature, salinity and PH value showed variation in water column. [38] reported 23.39° - 23.90 °C, 20.0 - 23.72 °C, 36.8 - 38.5 Ppt and 7.7 - 8.9 for surface water temperature, temperature in the water column, salinity and PH value respectively. Recently, [6] gave slightly different values for the above mentioned ecological factors (23.13 - 26.69 °C, 18.04 - 32.74 °C, 35.32 - 41.46 Ppt and 7.03 - 8.98 respectively). It is evident that the main meteorological force, the monsoons affecting the physical-biological in the coastal ecosystem of the Sea of Oman [7]. Monsoons manifest themselves as strong, seasonally reversing winds [42]. There are two types of monsoons, the north east monsoon (NEM) and the south west monsoon (SWM). The NEM shows its effect from November-February, during which sea surface winds over the Sea of Oman are mainly Northeasterly [35]. The SWM takes place from June-mid-September when sea surface winds over the region are predominantly from the southwest [11] and stronger than during the NEM [12]. Coastal upwelling persists during SWM along the coast of Oman impacting mainly the southern part of the coast "Dhofar region" [34]. The effects of upwelling can be detected to about 750 km offshore of Oman and can also be observed in the Sea of Oman when injection of cool water occurs and as a consequence temperatures profiles is effected dramatically during summer. Inflow of the water from the Arabian Gulf and high air temperature has a strong impact on the intrusion of upwelled water into the Sea of Oman. Such effect leads to strong vertical stratification in the coastal water masses.

Sample collection. Fish specimens of *Lutjanus bengalensis* (230) were collected using trawler net from only one location on 15th March 2010 from the coastal waters of Muscat City, Sea

of Oman. Sagittae from both sides of the fish head were dissected out from the sacculus part of the fish inner ear. Otolith length and width were measured to nearest millimetre under dissecting microscope. Asymmetry in the otolith length and width is aimed to be study in the fish species in question. In the present study fluctuating asymmetry was not correlated with sex because asymmetries develop in the early life stages, when larvae sex cannot be recognized. The asymmetries cannot be eliminated by further growth as they are persistent and thus become a stressor for an individual throughout its life.

Statistical analysis. The statistical analysis was based on the squared coefficient of asymmetry variation (CV^2_a) for the two otolith dimensions according to [40]:

$$CV^2_a = (S_{r-l} \times 100 / X_{r+l})^2$$

where S_{r-l} is the standard deviation of signed differences and X_{r+l} is the mean of the character, which is calculated by adding the absolute scores for both sides and dividing by the sample size.

The vicinity of Muscat City was chosen as it represents one of the main fishing grounds for the species in question and asymmetry study for *L. bengalensis* is important to the effect of this phenomenon on the settlement of the larvae of this species in this important fishing ground.

Results and Discussion. Tab. 1 shows the results of asymmetry data analysis of the otolith length and width of *Lutjanus bengalensis* collected from the coastal water around Muscat City, Sea of Oman. In the results, the level of asymmetry of the otolith width was the highest among the two asymmetry values obtained for the otolith of *Lutjanus bengalensis* ranging in length between 19.0-19.9 mm and 23.0-23.9 mm respectively. A tendency of increasing asymmetries in otolith width and length with fish body length can be noticed (tab. 2).

Table 1. Squared coefficient of asymmetry (CV^2_a) value and character means (X_{r+l}) of *Lutjanus bengalensis*

Character	CV^2_a	N	Character mean	% of individuals with asymmetry
Otolith length	5.06	230	9.08	95.7
Otolith width	10.29	230	5.38	100

The percentage of the individuals showing asymmetry in the otolith width character was the highest among the percentages obtained for the two otolith characters (tab.1).

Asymmetry in morphological characters of vast number of animal taxa is usually negatively correlated with the animal fitness (e.g. [27, 28,9]. On the other hand, studies on the possible effect of asymmetry on dispersal and recruitment of individuals are lacking [29, 10].

Table 2. Squared coefficient of asymmetry and character means by size class of *Lutjanus bengalensis*.

Character	CV^2_a	N	Character mean X_{r+l}	% of individuals with asymmetry
<i>Otolith length</i>				
19.0-19.9	23.5	10	9.1	100
20.0-20.9	24.6	30	8.86	100
21.0-21.9	25.6	120	8.95	91.67
22.0-22.9	25.9	60	9.37	100
23.0-23.9	27.8	10	9.13	100
Total		230		
<i>Otolith width</i>				
19.0-19.9	1.37	10	5.30	100
20.0-20.9	1.46	30	5.28	100
21.0-21.9	10.47	120	5.34	100
22.0-22.9	11.59	60	5.52	100
23.0-23.9	12.99	10	5.46	100
Total		230		

The obvious effect of bilateral asymmetry in fish otolith mass is the abnormal swimming activity [20] and interference with correct sound localization resulting in inability of individuals to integrate with the habitat they are living in [26].

The capability of the young individuals of *Lutjanus bengalensis* to find and settle down in a suitable environment can be hindered by the variations in the dimensions of the otolith [17, 18]. Thus, the settlement of the larvae of the species studied in the present work might be affected due to the asymmetry observed in its morphological characters.

Due to the lack of data regarding natural asymmetry in Oman it is impossible to evaluate the level of asymmetry of the two morphological characters of the otolith of *L. bengalensis* and to determine if they are higher or lower than the average.

It is impossible to have a precise indication on the significance of the correlation between asymmetry in the morphology of the fish species in question and different environmental pollutions along a pollution gradient, or from fish taken from polluted and non polluted sites due to unavailability of such data.

However, based on previous studies in this field, it is possible to correlate between environmental stress due to pollution and asymmetry in the morphology of this species. Such environmental factors are present in the Sea of Oman waters in general and the Omani coasts of the Sea of Oman in particular [13, 14, 2, 39, 1, 24].

Several natural events can be listed under the environmental causes, and nutritional deficiencies can be caused by many factors such as various pathogens and various population phenomena [8], and it is highly possible that these factors may be in action in Oman Sea as they seem to be common in the aquatic environment [1, 2, 13, 14].

Fish length and asymmetry in morphological characters have shown to be correlated as indicated by several authors where there was a trend of increase in the asymmetry value with the increase in fish length [5, 3, 4, 21]. The results also show a trend of increase of otolith length and width asymmetry value with fish length.

REFERENCES

1. Abdul Gawad E. A., Lotfy M. M. Environmental Geology. 54, 1091-1102, 2008.
2. Al-Darwish H. A., Abdel-Gawad E. A., Mohammed F. H., Lotfy M. M., Environmental Geology. 48, 531-542, 2005.
3. Al-Hassan L. A. J., Hassan S. S. Pakistan Journal of Zoology. 26, 276-278, 1994.
4. Al-Hassan L. A. J., Shwafi A. A. Pakistan Journal of Zoology. 29, 23-25, 1997.
5. Al-Hassan L. A. J., Al-Doubaikel A. Y., Wahab N. K., Al-Daham N. K. Rivista Idrobiologia. 29, 775-780, 1990.
6. Al-Shaqsi H., Al-Aisar, A., Al-Hajri S., Al-Busaidi S., Al-Harithi H., Al-Mukhani I. Report prepared by Marine Science and Fisheries Centre, Ministry of Fisheries Wealth, Muscat, Sultanate of Oman, pp.131, 2007.
7. Al-Azri A. R., Piontkovski S.A., Hashmi K.A., Goes J.I., Gomes H. R. Aquatic Ecology 44, 449-461, 2010.
8. Bengtsson B.E., Hindberg M. Ambio. 14, 32-35, 1985.
9. Bergstrom C. A., Reimchen T. E. Evolution. 7, 2128-2138, 2003.
10. Breuker C. J., Brakefield P. M., Gibbs M. European Journal of Entomology. 104, 445-452, 2007.
11. Brock J.C., McClain C.R. Journal of Marine Research. 97,733-750, 1992.
12. Burkill P.H., Mantoura R.F.C., Owens N.J.P. Deep-Sea Research. 40, 643-649, 1993.
13. De Mora S., Fowler S. W., Wyse E., Azemard S. Marine Pollution Bulletin. 49, 410-424, 2004.
14. De Mora S., Fowler W., Tolosa I., Illenuve J-P. Marine Pollution Bulletin. 50, 835-849, 2005.
15. Escós J., Alados C. L., Emlen J. M., Aldestein S., Escós J. Transaction of the American Fisheries Society. 124, 943-945, 1995.

16. Fey D. P., Hare J. A. *Journal of Fish Biology* 72: 121-130, 2008.
17. Gagliano M., Mc Cormick M. I. *Marine Ecology Progressive Series* 278, 291–296, 2004.
18. Gagliano M., Depczynski M., Simpson S.D., Moore J.A.Y. *Proceeding of the Royal Society B* 275, 527-534, 2008.
19. Gonçalves D.M., Simões P.C., Chumbinhom A. C., Corrieram M. J., Oliveira R. F. *Journal of Fish Biology*. 60, 810-820, 2002.
20. Helling K., Hausmann S., Clarke A., Scherer H. *Acta Otolaryngologica*. 123, 488–492, 2003.
21. Jawad L. A. *Bolletino Museo regionale di Sciennza naturali Torino*. 18, 251-257, 2001.
22. Jawad L. A. *Oceanological and Hydrobiological Stududies*. 32, 83-88, 2003.
23. Jawad L. A. *Bolletino Museo regionale di Sciennza naturali Torino*. 21, 145-150, 2004.
24. Khan N. Y. [In:] *Protecting the Gulf's Marine Ecosystems from Pollution*, 57-92 pp. Abuzinada A.H., Barth H-J, Krupp F., Boer B., Al-Abdessalaam Z., (eds.). Birkhauser, Basel, 2008.
25. Leary A., Allendorf F.W. *Trend in Evolution*. 4, 214-217, 1989.
26. Lychakov D.V., Rebane Y.T. *Hearing Research* . 201, 55-69, 2005.
27. Moller A.P., Nielsen J.T. *Animal Behavior*. 54, 1545–1551, 1997.
28. Martin J., Lopez P. *Physiological Biochemistry and Zoology*. 74, 619–624, 2001.
29. Matessi G. *Ethology, Ecology and Evolution*. 9, 209–221, 1997.
30. Øxnevad S.A., Heibo E., Vollestad L.A. *Canadian Journal of Zoology*. 80, 120-125, 2002.
31. Palmer A.R. (Markow, T. A., ed.), pp. 335-364. Dordrecht: kluwer, 335-364, 1994.
32. Palmer A., Strobeck C. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 17, 391-421, 1986.
33. Quinn N.J., Johnson D.W. *Coral Reefs*. 15, 214, 1996.
34. Savidge G., Lemon J., Matthews A.J. *Continent Shelf Research*. 10, 259–275, 1990.
35. Schott F., Swallow J.C., Fieux M. *Deep-Sea Research*. 37, 1825–1848, 1990.
36. Somarakis, S., Kostikas, I., Tsimenides, N., *Journal of Fish Biology*. 51, 30-38, 1997a.
37. Somarakis S., Kostikas I., Peristeraki N., Tsimenides N. *Marine Ecology Progress Sereries*. 151, 191-203, 1997b.
38. Thangaraja M. *Marine Science Centre and Fisheries Centre, Report No. 95-1*, Ministry of Agriculture and Fisheries, Sultanate of Oman, pp 153, 1995.
39. Tolosa I., De Mora S.J., Fowler S.W., Villeneuve J.-P., Bartocci, J. Cattini C. *Marine Pollution Bulletin*. 50,1619-1633, 2005.
40. Valentine D. W., Soule M. E., Samollow P. *Fishery Bulletin*. 71, 357-370, 1973.
41. Van Vallen L.V. *Evolution*. 16, 125-142, 1962.
42. Wiggert J.D., Jones B.H., Dickey T.D., Brink K.H., Weller R.A., Marra J., Cadispoli L.A. *Deep-Sea Research*. 47,1353–1386, 2000.
43. Zakharov V.M. *Acta Zoologica Fennic*. 191, 7-30, 1992.

Received 23.07.2011



Биол. журн. Армении, 2 (64), 2012

К ИЗУЧЕНИЮ ПАРАЗИТОФАУНЫ РЫБ РЕКИ РАЗДАН

Р. Л. ОГАНЕСЯН, М. Я. РУХКЯН

Научный центр зоологии и гидроэкологии НАН РА
ruhov37@rambler.ru

Изучали ихтиопаразитофауну реки Раздан. Было обследовано 162 экз. рыб 5-ти видов из сем. Cyprinidae и Salmonidae. Паразитами было инвазировано 89 экз. рыб или 55 %. Выявлено 4 вида паразитов: *Dactylogyrus* sp., *Diplostomum spathaceum*, *Ligula intestinalis*, *Ichthyophthyrus multifillis*. Места их локализации – жабры, хрусталики глаз, полость тела и под эпидермисом рыб. Установлены экстенсивность и интенсивность инвазии рыб паразитами.

Ихтиопаразитофауна – река Раздан – видовой состав – экстенсивность и интенсивность инвазии

Ուսումնասիրվել է Հրազդան գետի ձկների մակաբույծների ֆաունան: Զետա-գոսովել է Cyprinidae և Salmonidae ընտանիքների 5 տեսակ ձկների 162 նմուշ: Մակաբույծներով վարակված էին ձկների 89 նմուշ, կամ 55 %-ը: Հայտնաբերվել է 4 տեսակ մակաբույծ՝ *Dactylogyrus* sp., *Diplostomum spathaceum*, *Ligula intestinalis*, *Ichthyophthyrus multifillis*: Դրանք տեղակայված էին ձկների խոռիկներում, աչքի ռաբակայում, մարմնի խոռոչում և եպիդերմիսի տակ: Որոշվել են ձկների վարակվածության էքստենսիվությունը և ինտենսիվությունը:

Ձկների մակաբույծների ֆաունա ՎՀ Հրազդան գետ ՎՀ տեսակային կազմ ՎՀ վարակվածության էքստենսիվություն և ինտենսիվություն

The fish parasite fauna of Hrazdan River was studied. 162 specimens of the 5 fish species of Cyprinidae and Salmonidae were investigated. 89 specimens (55 %) of fish were invaded by parasites. Four species of parasites were revealed: *Dactylogyrus* sp., *Diplostomum spathaceum*, *Ligula intestinalis*, *Ichthyophthyrus multifillis*. They were localized in the fish gills, crystalline lens, body cavity and under the epidermis. Extensiveness and intensity of invasion by parasites have been revealed.

The fish parasite fauna – Hrazdan River - the species composition – extensiveness and intensity of invasion

Река Раздан – основная водная артерия Армении, имеет важное хозяйственное и рекреационное значение. Она является левобережным крупным притоком реки Аракс. Это единственная река, вытекающая из оз. Севан – крупнейшего пресноводного водоема Кавказского региона, одного из высокогорных олиготрофных озер, лежащего на высоте 1900 м над ур.м.

Ихтиопаразитофауна р. Раздан мало изучена. Кроме того, вследствие антропогенного пресса, за последнее время она претерпела значительные изменения и требует более глубокого исследования.

Целью работы являлся мониторинг видового состава паразитов рыб р. Раздан в современных условиях. В состав ихтиофауны входят армянская быстрянка (многочисленна), серебряный карась, куринский усач, севанская храмуля, а ангорский голец и ручьевая форель – фрагментарно.

Материал и методика. Изучали паразитофауну рыб верхнего течения р. Раздан (Котайкский марз), где видовой состав рыб беднее, чем в нижнем течении. Исследования проводились в 2011 г.

Методом полных паразитологических вскрытий по методике Быховской-Павловской, 1985 было обследовано 162 экз. рыб 2-х сем. – Cyprinidae и Salmonidae, 5-ти видов: серебряный карась (*Carassius auratus gibelio*) – 94 экз., армянская быстрянка (*Alburnoides bipunctatus armeniensis*) – 45 экз., севанская храмуля (*Capoeta capoeta sevangi*) – 8 экз., куринский усач (*Barbus lacerta cyri*) – 7 экз., ручьевая форель (*Salmo trutta fario*) – 8 экз. Фактически были охвачены все виды ихтиофауны верхнего течения реки.

Сбор и камеральную обработку паразитов рыб проводили по общепринятой методике [1], определение – по „Определителю паразитов пресноводных рыб фауны СССР“ [4, 5, 6] и Шигину [7].

Для количественной характеристики популяций гельминтов использовали общепринятые в гельминтологии показатели экстенсивности и интенсивности инвазии.

Результаты и обсуждение. Из обследованных 162 экз. рыб из р. Раздан паразитами было инвазировано 89 экз., или 55%.

У рыб выявлено 4 вида паразитов: моногенеи – *Dactylogyrus sp.*, трематоды – *Diplostomum spathaceum*, цестоды – *Ligula intestinalis*, ресничные инфузории – *Ichthyophthyrus multifillis* (Тип *Ciliophora*: кл. *Hymenostomata*). Они обнаружены на жабрах, в хрусталиках глаз, полости тела и под эпидермисом кожи рыб.

У серебряного карася обнаружено 4 вида паразитов. В хрусталиках глаз обнаружены метацеркарии *Diplostomum spathaceum*. Экстенсивность инвазии равна 6,4 %, ИИ – 1 экз.

В полости тела карасей обнаружены плероцеркоиды цестоды *Ligula intestinalis*. ЭИ = 25,5 %, ИИ ср. – 6 экз. /4-13 экз. / На жабрах обнаружены единичные экз. моногеней *Dactylogyrus sp.* Под эпидермисом обнаружены простейшие (ресничные инфузории) – *Ichthyophthyrus multifillis*. ЭИ = 2 %.

У армянской быстрянки обнаружено 3 вида гельминтов: моногенея – *Dactylogyrus sp.*, трематода – *Diplostomum spathaceum* и цестода – *Ligula intestinalis*. ЭИ моногеней равна 6,7 %, они обнаружены у 3 экз. рыб в единичных экз. ЭИ метацеркариями диплостом составляла 44,4 %, ИИ – 1 экз. ЭИ цестодами *Ligula intestinalis* была равна 8,9 %, ИИ ср. – 4 экз.

У севанской храмули также обнаружено 3 вида гельминтов: моногенея – *Dactylogyrus sp.*, трематода – *Diplostomum spathaceum* и цестода – *Ligula intestinalis*. На жабрах у 2 экз. обнаружены *Dactylogyrus sp.* ИИ – 1 экз. Метацеркариями диплостом заражены 7 из 8 экз. ИИ – 1 экз. В полости тела 3 экз. обнаружены плероцеркоиды цестоды *Ligula intestinalis*, ИИ ср. – 4 экз.

У куринского усача обнаружен 1 вид гельминта – метацеркарии *Diplostomum spathaceum*. Они обнаружены у 2 из 7 усачей, ИИ – 1 экз.

У 6 мальков из 8 исследованных экз. ручьевой форели под эпидермисом обнаружены простейшие *Ichthyophthyrus multifillis*. Судя по данным результатов вскрытий, самые распространенные паразиты рыб р. Раздан – плероцеркоиды ремнеца *Ligula intestinalis*, половозрелая стадия которого паразитирует в кишечнике рыбоядных птиц. Затем следуют метацеркарии диплостом, марины которых также паразитируют в кишечнике рыбоядных птиц. Остальные виды (дактилогирусы и ихтиофтириусы) встречаются редко. Очевидно, что более распространены биогельминты.

При сравнительном анализе состава бентофауны реки 1930-х гг. и 2004-2006 гг. было выявлено, что моллюски сем. *Lymnaeidae*, являющиеся промежуточными хозяевами диплостом, обнаружены в бентофауне реки как в 30-е годы, так и в настоящее время [2]. Однако численность моллюсков значительно уменьшилась. Этим объясняется снижение экстенсивности инвазии рыб метацеркариями диплостом, которая раньше достигала 100 % [3].

Необходимо отметить, что исследования паразитофауны рыб притока р. Раздан – р. Мармарик в 1970-80-е гг. дали следующие результаты. У армянской быстрянки из моногеней были обнаружены *Dactylogyrus sp.*, из трематод – *Diplostomum spathaceum* и *Allocreadium isoporum*, последняя была найдена также у куринаского усача [3]. Итак, при сопоставлении наших данных по видовому составу паразитов рыб р. Раздан с данными исследований прошлых лет [3], он не претерпел больших изменений, отсутствует лишь трематода *Allocreadium isoporum*.

Таким образом, у рыб р. Раздан выявлено 4 вида паразитов: *Dactylogyrus sp.*, *Diplostomum spathaceum*, *Ligula intestinalis*, *Ichthyophthyrus multifillis*.

В фауне паразитов рыб преобладают 3 вида паразитов со сложным жизненным циклом.

3 вида паразитов рыб относятся к генералистам (кроме *Dactylogyrus sp.*). 2 вида паразитов являются аллогенными видами – метацеркарии трематод *Diplostomum spathaceum* и плероцеркоиды ремнеца *Ligula intestinalis*, а 2 вида – автогенными – *Dactylogyrus sp.* и *Ichthyophthyrus multifillis*.

Паразитофауна рыб на обследованном участке р. Раздан обеднена, не отличается богатым разнообразием, как и видовой состав самой ихтиофауны реки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Быховская-Павловская И.Е. Паразиты рыб. Руководство по изучению. Л., Наука, 121 с., 1985.
2. Даллакян М.Р. Изменения донной фауны реки Раздан в условиях антропогенного воздействия. Автореф. канд. дисс., Ереван, 23 с., 2011.
3. Вартанян Л.К. Паразитофауна рыб озера Севан и некоторых других водоемов и водотоков Армении. Автореф. канд. дисс., Ереван, 22 с., 1993.
4. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР. 1, Паразитические простейшие. Л., Наука, 430 с., 1984.
5. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР. 2, Паразитические многоклеточные (Первая часть). Л., Наука, 425 с., 1985.
6. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР. 3, Паразитические многоклеточные (Вторая часть). Л., Наука, 583 с., 1987.
7. Шигин А.А. Трематофы фауны СССР. Род *Diplostomum*. Метацеркарии. М., Наука, 256 с., 1986.

Поступила 25.01.2012