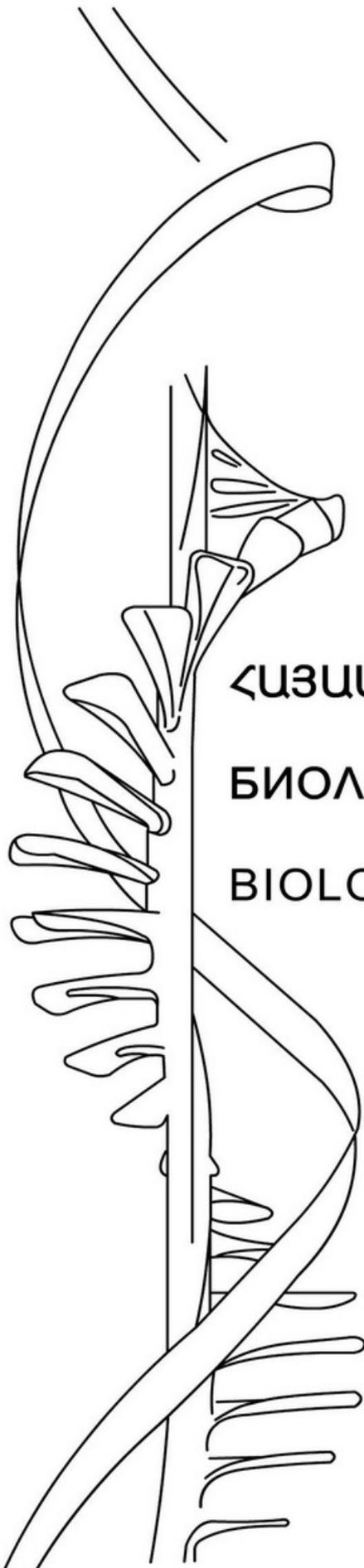




ISSN 0366-5119

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

2015

Լույս է տեսնում 1948 թվականից, հոդվածները հրատարակվում են հայերեն,  
ռուսերեն կամ անգլերեն լեզուներով

Выходит с 1948 года, статьи публикуются на армянском, русском  
или английском языках

Journal is published since 1948, the articles are published in Armenian,  
Russian or English

---

ԽՄԲԱԳՐԱԿԱՆ ԿՈՒԼԵԳԻԱ

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

ԽՄԲԱԳՐԱԿԱՆ ԽՈՐՀՆՈՒՐԴ

Յու.Թ. Ալեքսանյան, Է.Գ. Աֆրիկյան, Մ.Ա. Դավթյան, Ժ.Ի. Հակոբյան, Վ.Պ. Հակոբյան,  
Ս.Հ. Մովսեսյան, Կ.Ս. Պոգոսյան, Գ.Հ. Փանոսյան, Լ.Լ. Օսիպյան

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Յ.Ս. Գևորգյան (*главный редактор*), Ր.Մ. Արությունյան (*заместитель главного редактора*),  
Ա.Ս. Բояджян (*заместитель главного редактора*),  
Ա.Գ. Եсаян (*ответственный секретарь*), Գ. Գ. Գеворкян, Ա.Ա. Թрчунян,  
Լ.Ր. Манвелян, Ս.Х. Майрапетян, Ж.А. Варданян

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Ю.Т. Алексанян, Э.Г., Африкян, М.А. Давтян, Ж.И. Акопян, В.П. Акопян,  
С.О. Мовсесян, К.С. Погосян, Г.А. Паносян, Л.Л. Осипян

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

THE EDITORIAL COUNCIL

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

**•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ •**

*Անտոնյան Ա.Պ.* ԴՆԹ-ի հետ HOECHST 33258-ի կապման տարբեր եղանակները..... 6  
*Միմոնյան Ա.Է.* Քարվաճառի և Կապանի հողի գենաթունայնության գնահատումն անտառային մկան (*Apodemus uralensis*) մոտ ԴՆԹ-կոմետ մեթոդի կիրառմամբ..... 12

*Ներկարարյան Ա.Վ., Միրաբեյան Մ.Ս., Շահինյան Մ.Ա., Վարդանյան Պ.Հ.* Առնետների արյան էրիթրոցիտների մակերևութային լիցքի խտությունը միլիմետրային տիրույթի էլեկտրամագնիսական ճառագայթման ազդեցության ներքո..... 16

*Խաչատրյան Տ.Ս.* Գալարմինի դերը առնետների արյան մեջ թիրեոտրոպ և թիրեոտիդ հորմոնների կոնցենտրացիայի փոփոխության ողնուղեղի կիսահատման ժամանակ..21

*Մայրապետյան Ս.Խ., Կարապետյան Ա.Ս., Ալեքսանյան Ջ.Ս., Ստեփանյան Բ.Թ., Գալստյան Հ.Ս., Թաքուշյան Վ.Գ.* Սնուցման հաճախականության ազդեցությունը *Callisia fragrans*-ի ֆիզիոլոգա-դեղաքիմիական ցուցանիշների և արդյունավետության վրա անհող մշակույթի պայմաններում..... 27

*Բաղդասարյան Բ.Բ.* Գրանուլացված նիտրագինի ստացումը պեմզայի հիմքի վրա և նրա արդյունավետությունը..... 32

*Պողոսյան Լ.Հ., Մկրտչյան Ջ.Ս., Գազարյանց Մ.Գ. Մարգարյան, Ա.Ս., Բաղայան Ռ.Բ., Միմոնյան Ա.Ա., Հակոբյան Ժ.Բ.* Պլաստոքինոնի ածանցյալի (SkQ1) ազդեցությունը բջջի մետաբոլիզմի մի շարք առանցքային ֆերմենտների ակտիվությունների վրա.....37

*Օսիպյան Լ.Լ.* Լեոն Լեոնյան. Ականավոր ֆիտոպատոլոգն ու սնկաբանը (1888-1945).....43

*Խուդավերդյան Ա. Յու., Ենգիբարյան Ա.Ա., Հոբոսյան Մ.Գ.* Շնող գետի (ՀՀ Լոռի մարզ) ավազանի հնագույն բնակչության բնական եւ սոցիալական միջավայրի հիմնական հարմարվողական նշանակության գործոնները..... 47

*Քամայան Ռ.Գ., Խաչատրյան Ն.Խ., Վարդանյան Ա.Գ., Թառոյան Ս.Ք., Երիցյան Լ.Ն.* Գլուտամինի և էթանոլամին-Օ-սուլֆատի ազդեցությունը առնետի օրգանների նյարդաակտիվ ամինաթթուների պարունակության վրա նորմայում և փորձարարական ստրեպտոգոնոցինային դիաբետի դեպքում..... 61

*Թումանյան Վ.Հ., Գովալ Բ.Ն.* Հիպոկլամպի և քունքային կեղևի յուրահատուկ մասնակցությունը և փոխհարաբերությունների բնույթը կենդանու նոր հմտության ձեռք բերման ընթացքում..... 67

*Ներսեսովա Լ.Ս., Պետրոսյան Մ.Ս., Հակոբյան Ժ.Բ.* Օքսիդացիոն սթրեսի ազդեցությունը առնետների կենսական կարևոր օրգանների կրեատինկինազի վրա..... 73

*Վարդանյան Տ.Վ., Բարսեղյան Ն.Է.* Սևանի իշխանի էկոլոգաձևաբանական ցուցանիշների փոփոխման պատճառները..... 80

*Ավետիսյան Լ.Գ. Lycium barbarum*-ի ազդեցությունը ֆրուկտոզով հարստացված սնունդ ստացող առնետների վնասված նստանյարդի վերականգնման գործառույթային ցուցանիշների վրա ..... 85

*Գրիգորյան Ա.Գ. Lactobacillus acidophilus* INMIA9602 Er-2-ի և *Eleuterococcus extract* համատեղ ազդեցությունը չորս ամսական խոճկորների արյան բնական դիմադրողականության ցուցանիշների վրա..... 91

*Մարդյան Ռ.Ռ.* Յորենի Dwarf I գաճաճ հիբրիդի օնոտգենետիկական զարգացման որոշ առանձնահատկությունները..... 95

**• Համառոտ հաղորդումներ •**

*Հայրապետյան Տ.Ա.* Քուչակ գյուղի շրջակայքի դաշտամկների տեսակային բազմազանությունը..... 101

*Պիպոյան Ս.Խ.* Գետային օձաձկան *Anguilla anguilla* հայտնաբերումը Հայաստանի ջրակալներում..... 104

*Պարոնյան Մ.Հ.* Հակաբիոտիկների նկատմամբ կայուն պաթոգենների ֆոտոդինամիկ ինակտիվացումը..... 107

## СОДЕРЖАНИЕ

## • Экспериментальные и теоретические статьи •

Антонян А.Л. Различные способы связывания Hoechst 33258 с ДНК.....	6
Симонян А.Э. Оценка генотоксичности почв Карвачара и Капана с применением метода ДНК-комет у лесной мыши ( <i>Apodemus uralensis</i> ) .....	12
Неркарарян А.В., Микаелян М.С., Шагинян М.А., Вардеванян П.О. Плотность поверхностного заряда эритроцитов крови крыс под влиянием электромагнитного излучения миллиметрового диапазона.....	16
Хачатрян Т.С. Роль галармина в изменении концентрации тиреотропного и тиреоидных гормонов в крови у крыс при гемисекции спинного мозга.....	21
Майрапетян С.Х., Карапетян А.С., Александян Дж.С., Степанян Б.Т., Галстян А.М., Такушян В.Г. Влияние частоты питания на физиолого-фармахимические показатели и продуктивность <i>Callisia fragrans</i> в условиях беспочвенной культуры.....	27
Багдасарян И.Б. Получение гранулированного нитрагина на основе пемзы и его эффективность.....	32
Погосян Л.Г., Мкртчян З.С., Газарянц М.Г., Маргарян А.С., Бадалян Р.Б., Симонян А.А., Акопян Ж.И. Влияние производного пластохинона (SkQ1) на активность некоторых ключевых ферментов клеточного метаболизма .....	37
Осипян Л.Л. Леон Леонян. Выдающийся фитопатолог и миколог (1888-1945).....	43
Худавердян А.Ю., Енгибарян А.А., Обосян С.Г. Основные адаптивно значимые факторы природной и социальной среды у древнего населения бассейна р. Шнох (Лорийская область, Армения) .....	47
Камалян Р. Г., Хачатрян Н.Х., Варданян А. Г., Тароян С. К., Ерицян Л.Н. Влияние глутамина и этаноламин-О-сульфата на содержание нейроактивных аминокислот в органах крысы в норме и при экспериментальном стрептозотоциновом диабете .....	61
Туманян В.А., Коваль И.Н. Особенности участия и характер взаимоотношений гиппокампа и височной коры в процессе формирования у животного нового навыка.....	67
Нерсесова Л.С., Петросян М.С., Акопян Ж.И. Влияние оксидативного стресса на креатинкиназу жизненно важных органов крыс.....	73
Варданян Т.В., Барсегян Н.Э. Причины изменения морфо-экологических параметров севанской форели .....	80
Аветисян Л.Г. Воздействие <i>LYCIUM BARBARUM</i> на показатели функционального восстановления поврежденного седалищного нерва крыс с фруктозо-обогатщенной диетой.....	85
Григорян А.Г. Совместное применение <i>Lactobacillus acidophilus</i> NMIA 9602ER-2 штамма 317/402 и экстракта элеутерококка на показатели естественной резистентности у 4-месячных поросят.....	91
Садоян Р.Р. Некоторые особенности онтогенетического развития гибридного карлика пшеницы Dwarf I.....	95

## • Краткие сообщения •

Айрапетян Т.А. Видовое разнообразие полевок окрестности села Кучак.....	101
Пипоян С.Х. Обнаружение речного угря <i>Anguilla anguilla</i> в водах Армении.....	104
Паронян М.Г. Фотодинамическая инактивация антибиотикоустойчивых патогенов....	107

CONTENTS

• *Experimental and theoretical articles* •

<i>Antonyan A.P.</i> Different modes of binding of Hoechst 33258 with DNA.....	6
<i>Simonyan A.E.</i> Evaluation of soil genotoxicity in Karvachar and Kapan using the comet assay in ural field mouse ( <i>Apodemus uralensis</i> ) .....	12
<i>Nerkararyan A.V., Mikaelyan M.S., Shahinyan M.A., Vardevanyan P.O.</i> Surface charge density of rat blood erythrocytes under the influence of millimeter diapason electromagnetic radiation .....	16
<i>Khachatryan T.S.</i> The role of galarmin in changing of concentration of thyroid-stimulating hormone and thyroid hormones in rats blood under hemisection of spinal cord.....	21
<i>Mairapetyan S.Kh., Karapetyan A.S., Aleksanyan J.S., Stepanyan B.T., Galstyan H.M., Takushyan V.G.</i> Influence of nutrition frequency on productivity and physiological and pharmacological indices of <i>Callisia fragrans</i> in soilless culture conditions.....	27
<i>Baghdasaryan I.B.</i> Production of granulated nitragin on the basis of pumice and its effectiveness. ....	32
<i>Pogosyan L.G., Mkrtchyan Z.S., Gazaryantz M.G., Margaryan A.S., Badalyan R.B., Simonyan A.A., Akorian J.I.</i> Influence of plastoquinone derivative (SkQ1) on the activity of some key enzymes of cellular metabolism.....	37
<i>Osipyan L.L.</i> Leon Leonyan. Outstanding phytopathologist and mycologist (1888-1945) ....	43
<i>Khudaverdyan A.Yu., Yengibaryan A.A., Hobosyan S.G.</i> Basic adaptively significant factors of natural and social environment in the ancient population from the basin R. Shnogh (Lori region, Armenia) .....	47
<i>Kamalyan R.G., Khachatryan N.Kh., Vardanyan A.G., Taroyan S.Q., Eritsyan L.N.</i> The influence of glutamine and ethanolamine-O-sulphate on neuroactive amino acids content in the rat organs in norm and with experimental streptozotocine diabetes.....	61
<i>Tumanyan V.A., Koval I.N.</i> The peculiarities of participation and the character of interrelations of the hippocampus and temporal lobe in the process of forming a new habit of the animal.....	67
<i>Neresova L.S., Petrosyan M.S., Akopian J.I.</i> The influence of oxidative stress on creatine kinase of rats essential organs.....	73
<i>Vardanyan T.V., Barseghyan N.E.</i> Causes of changes morpho-ecological parameters of sevan trout.....	80
<i>Avetisyan L.G.</i> The effect of <i>Lycium barbarum</i> on indices of functional recovery of injured sciatic nerve in rats fed a fructose-rich diet.....	85
<i>Grigoryan A.G.</i> The combined influence of <i>Lactobacillus acidophilus</i> INMIA 9602Er-2 and extract Eleutherococcus on indices of natural resistance in 4- month piglets.....	91
<i>Sadoyan R.R.</i> Some peculiarities of ontogenetic development of dwarf hybrid –type Dwarf I.....	95

• *Short communications* •

<i>Hayrapetyan T.A.</i> Diversity of voles species of surrounding territories of Quchak village....	101
<i>Pipoyan S.H.</i> The discovery of river eel <i>Anguilla anguilla</i> in waters of Armenia.....	104
<i>Paronyan M.H.</i> Photodynamic inactivation of antibiotic-resistant pathogens.....	107



Biolog. Journal of Armenia, 3 (67), 2015

## DIFFERENT MODES OF BINDING OF HOECHST 33258 WITH DNA

A.P. ANTONYAN

Yerevan State University, Department of Biophysics  
apantonyan@gmail.com

Spectrophotometric study of Hoechst 33258 binding to DNA has been investigated. It was shown that this ligand forms at least two types of complexes at 0.002 M and 0.02M ionic strengths of solution. One of them is strong, the other is weak. It was revealed that at 0.02M ionic strength of solution, the binding constant value by strong mode is one order higher than at 0.002M. It was obtained that at both ionic strengths of solution at weak mode of interaction the values of binding constant of Hoechst 33258 to DNA coincide with each other.

*DNA-Hoechst 33258 complexes – intercalation – binding constant – binding site number*

Կատարվել է ԴՆԹ-ի հետ Hoechst 33258-ի կապման սպեկտրաֆոտոմետրիկ ուսումնասիրություն: Ցույց է տրվել, որ այս լիգանդն առաջացնում է երկու տիպի կոմպլեքսներ լուծույթի 0.002 Մ և 0.02 Մ իոնական ուժերում՝ ուժեղ և թույլ: Հայտնաբերվել է, որ լուծույթի 0.02 Մ իոնական ուժում ուժեղ եղանակով կապման հաստատունի արժեքը մեկ կարգով ավելի մեծ է, քան 0.02 մոլ իոնական ուժում: Ցույց է տրվել, որ թույլ եղանակի դեպքում նշված իոնական ուժերով լուծույթներում ԴՆԹ-ի հետ Hoechst 33258-ի կապման հաստատունի արժեքները համընկնում են միմյանց հետ:

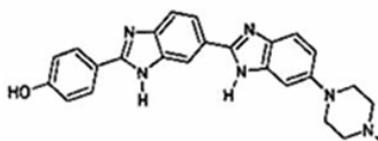
*ԴՆԹ-Hoechst 33258 կոմպլեքսներ – ինտերկալյացիա –կապման հաստատուն – կապման տեղերի թիվ*

Проведено спектрофотометрическое исследование связывания Hoechst 33258 с ДНК. Показано, что лиганд образует по крайней мере два типа комплексов при ионных силах раствора 0.002 М и 0.02 М. Один из них является сильным, другой – слабым. Обнаружено, что при ионной силе раствора 0.02 М значение константы связывания сильным способом на порядок больше, чем при 0.002 М. Показано, что при слабом способе значения констант связывания Hoechst 33258 с ДНК при указанных ионных силах раствора совпадают друг с другом.

*ДНК-Hoechst 33258 комплексы – интеркаляция – константа связывания – число мест связывания*

One of widely investigating ligands immediately binding to DNA is Hoechst 33258 which is applied as a fluorescent dye of chromosomes. This ligand penetrates through cellular and nuclear membranes, and binding to chromosomes shows a high biological activity. The molecule of Hoechst 33258 consists of piperazine, two bisbenzimidazole and one phenol group (fig. 1) and at physiological conditions it preferably binds to AT-sequences in DNA minor groove [1, 10, 17, 18].

DNA complexes with Hoechst 33258 are stabilized by electrostatic, Van-der-Waals and hydrophobic interactions and hydrogen bonds between ligand molecule and nucleotides in minor groove. Formed hydrogen bonds between ligand molecules and DNA azotic bases substitute earlier existing hydrogen bonds between solvent and DNA molecules in minor grooves [1,18]. It was revealed that the minor groove of DNA-Hoechst 33258 complexes is more hydrophobic and has  $\epsilon \approx 20$  dielectric constant compared to water dielectric constant equal to 80D. The decreasing of dielectric permeability of the minor groove at DNA complex-formation with Hoechst 33258 enhances resistance of hydrogen bonds compared to that of these bonds between DNA and water which results in additional deposit of enthalpy at the binding [10].



**Fig. 1.** Structure of groove binding compound – Hoechst 33258.

NMR investigations of Hoechst 33258 complexes with DNA showed that this ligand binds in the minor groove with nucleotides with 1:1 stoichiometry, moreover each benzimidazole interacts with two AT-pairs by forked hydrogen bond across helix and takes a region corresponding to approximately 1.5 base pairs [17]. Sequence selectivity and high affinity to AT regions are connected to both negative electrostatic potential inside of minor groove and decreasing of its width in AT-rich areas. It is conditioned by the fact that at interaction with DNA one of ends of Hoechst molecule is subjected to some changes. These structural changes in ligand molecule result in DNA minor groove width alterations [17]. Numerous investigations indicate that high affinity of H33258 to DNA AT-sequences is conditioned by ligand molecule form which is in geometric correspondence to this groove form [3-5, 12, 19]. Despite H33258 high specificity to AT-sequences of DNA it was shown that guanine exocyclic amino-group interacts with ligand molecule.

Thermodynamic investigations revealed that H33258 interacts with DNA at least by two modes – strong and weak [13]. Strong binding mode does not depend on solution ionic strength; moreover it depends on type of base pairs, while weak mode has mainly electrostatic nature and does not depend on DNA sequence in binding region [20].

The aim of this work is to reveal Hoechst 33258 binding mechanism to DNA by strong mode at low ionic strengths and to determine binding constant  $K$  value and number of bases  $n$  per one binding site.

**Materials and methods.** Calf thymus DNA (ultrapure) “Sigma” (USA), H33258 “Sigma” (USA), NaCl, Na-citrate (ultrapure), EDTA (ethylenediaminetetraacetate) were used in this work. All preparations were used without further purification. Concentrations of used preparations were determined by absorption spectroscopy method, using the following extinction coefficients:  $\epsilon_{260} = 6600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  for DNA,  $\epsilon_{343} = 42000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  for H33258. The investigations were carried out at 0.002 M and 0.02 M ionic strengths of the solution,  $t = 25^\circ\text{C}$  –  $\text{pH} = 6.95$  at 0.002 M and  $\text{pH} = 7.02$  at 0.02 M.

Spectroscopic measurements were carried out on PYE Unicam-SP8-100 (England) spectrophotometer. Huge number of theoretical [25] and experimental [8, 15, 21] studies are devoted to interaction of ligands with macromolecules (DNA, RNA). For analysis of experimental data of ligand adsorption on macromolecules it is important to achieve a state, when all binding sites on macromolecule are entirely occupied by ligands, though binding curves of ligands with DNA in Scatchard's coordinates are constructed via an equation obtained in [8]:

$$r / C_f = K(1 - nr) \left[ \frac{1 - nr}{1 - (n-1)r} \right]^{n-1} \quad (1)$$

In that case when ligand binds to DNA by two different modes, the binding curve is obtained in non-linear way [16]: that is why for linearization of this curve in [2] the equation (1) is modified by following way:

$$\frac{r}{C_f} = K(1 - (2n-1)r) \quad (2)$$

where  $r$  is number of ligands per one binding site,  $C_f$  – concentration of ligands in solution,  $K$  – binding constant. Comparing formula (2) with experimental data the values of  $K$  and  $n$  may be determined. For obtaining of  $r/C_f$  and  $r$  from absorption spectra of DNA-ligand complexes the concentration of non-bound ligands –  $C_f$  was determined by the following equation:

$$\frac{C_f}{C_0} = \frac{A - A_\infty}{A_0 - A_\infty} \quad (3)$$

where  $A$  is complex absorption at given ligand concentration,  $A_0$  and  $A_\infty$  – absorptions of thoroughly free and bound ligands respectively, where  $C_0 = C_f + C_b$  – total concentration of H33258 in solution;  $r = C_b/C_p$ ;  $C_b$  – bound ligand concentration,  $C_p$  – concentration of nucleotide phosphate groups.

**Results and Discussion.** Despite the fact that Hoechst 33258 is a typical representative of groove binding ligands to DNA and shows a pronounced specificity to AT sequences of it, the studies of last years have shown that this ligand may bind to GC sequences as well. Moreover it is assumed that ligand molecules form stacking contacts with DNA GC-sequences [14]. To reveal H33258 binding mechanisms with DNA we have carried out a spectrophotometric titration of this ligand solutions by DNA solution at 0.002 M and 0.02 M ionic strengths.

Absorption spectra of pure H33258 (curve 1) and its complexes with DNA (curves 2-7) at 0.02 M ionic strength,  $t=25^\circ\text{C}$  and  $\text{pH}=7.02$  (analogous absorption spectra have been obtained at 0.002 M, because of it they are not shown) are presented in fig. 2. It is obvious from fig. 2 that absorption spectra of complexes are shifted to longer wavelength region with DNA concentration enhancement in solution, because the concentration of ligand free molecules decreases during titration. Absorption maximum of thoroughly bound ligand molecules corresponds to  $\lambda=350$  nm, while absorption maximum of free H33258 molecules corresponds to  $\lambda=343$  nm. Based on obtained absorption spectra the binding curves in Scatchard's coordinates are obtained that are presented in fig. 3 (A and B). As it is clear from presented figure the binding curves constructed on the basis of absorption spectra are non-linear. It is known that non-linearity of binding curves of low-molecular compounds with macromolecules indicates that an anti-cooperative interaction takes place or ligand binds by more than one mode [21].

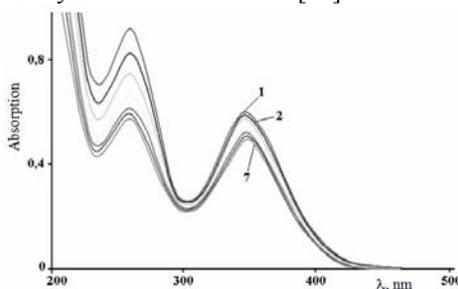
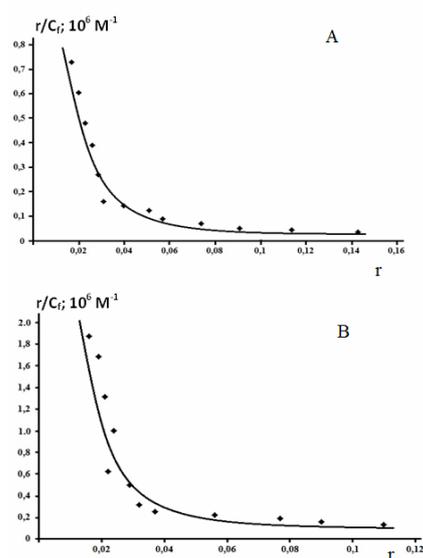


Fig. 2. Absorption spectra of pure H33258 (curve 1) and its complexes (curves 2-7) with DNA

In the statement [22] it was shown that H33258 interacts with DNA at least by two modes – strong, specific (with AT-sequences) and weak, electrostatic (with DNA phosphate groups). Based on this the obtained binding curves were analyzed taking into consideration that two interaction modes exist: one of them has a big slope and corresponds to strong binding mode, the other – to weaker mode. From adsorption curves by equation (2) the values of binding parameters were determined –  $K$  and  $n$ , and it was revealed that  $K_{st}=3 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1}$  which corresponds to strong binding mode of H33258 with DNA at 0.02 M ionic strength of solution and is in two orders higher than at weak binding mode –  $K_w=2.25 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}$ . At 0.002 M ionic strength of solution  $K_{st}=3 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$ ,  $K_w=5 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}$ . Apparently a decrease of solution ionic strength by an order results in significant lowering of value of  $K_{st}$  at H33258 strong binding to DNA and approximately two-times increasing of value of  $K_w$  at weak binding mode. This experimental result may be a consequence of higher degree dependence of H33258 strong binding mode with DNA on solution ionic strength than in the case of weak binding mode. On the face of it this fact is unexpected, because at 0.02 M solution ionic strength the strong mode corresponds to specific binding of this ligand molecule with AT-sequences in DNA minor groove. Moreover, an electronegative potential of DNA minor groove in AT-rich regions plays a determining role in complex-formation [7, 12, 23]. From this point of view at H33258 specific binding to DNA AT-sequences the decrease of ionic strength should not influence on binding constant value, at weak electrostatic mode – it should. The fact that at strong binding mode  $K_{st}$  values differ by one order, most probably, indicate the qualitative change of H33258 binding mechanism with DNA, which is coordinated with data obtained in [23]. On the other hand, the fact that at weak binding mode the values of  $K_w$  differ twice is maintenance of this mode correspondence to interaction electrostatic mechanism of H33258 molecules with DNA phosphate groups. This is indicated by the fact that at weak binding mode the number of base pairs per one binding site (value of  $n$ ) does not depend on solution ionic strength –  $n_w \approx 3-4$ . In the case of strong binding mode values of  $n_{st}$  differ, because at 0.02 M  $n_{st} \approx 16-17$ , at 0.002 M  $n_{st} \approx 14-15$ .



**Fig. 3.** Binding curves of H33258 with DNA at 0.002 M (A) and 0.02 M (B) ionic strengths of solution

Obtained experimental data indicate that H33258 specificity to DNA AT-sequences is expressed at relatively high ionic strengths of solution, consequently, at salt low concentrations this specificity disappears and this ligand besides electrostatic one binds also by other mode(s). In the literature a possibility of H33258 binding intercalation mode with DNA is discussed. Particularly, in [9, 11, 16, 24] it was shown that H33258 may bind with DNA GC-sequences by intercalation mode. Moreover, a classical intercalation in the case of this ligand is not observed. Usually, classical intercalators, particularly, ethidium bromide and acridine dyes contain a group of aromatic rings that are inserted into the plane between DNA base pairs and form stacking contacts with them [23]. From this point of view for stacking contact formation with DNA base pairs (intercalation), most probably, H33258 piperazine rings are appropriate. At the same time the group of aromatic rings of intercalators forms a flat structure which contributes to intercalation as well. H33258 molecule has semi-moon-like structure and geometrical coincidence with DNA minor groove [17]. As a consequence of such structure this ligand shows a high specificity to DNA AT-sequences in minor groove. On the other hand, this ligand shows a conformational lability in solution [17]. It is not excluded that at low ionic strengths of solution H33258 becomes more flexible, in consequence of which it may intercalate into DNA GC-rich regions.

Thus, from spectrophotometric measurements it is revealed that H33258 forms at least two types of complexes with DNA. One of them is the strong mode and characterized by high value of  $K$  ( $\approx 3 \cdot 10^8$  M<sup>-1</sup>) and  $n$  ( $\approx 16-17$ ) at relatively high ionic strengths of solution ( $\approx 0.02$  M): this type of binding corresponds to specific interaction of ligand with AT-sequences in DNA minor groove [22]. The other mode is weaker and has an electrostatic nature with following binding parameters:  $K=2.25 \cdot 10^6$  M<sup>-1</sup> and  $n \approx 3-4$ . At low ionic strengths of solution  $\approx 0.002$  M H33258 binds to DNA by at least two modes: strong ( $K \approx 3 \cdot 10^7$  M<sup>-1</sup> and  $n \approx 14-15$ ) and weak ( $K \approx 5 \cdot 10^6$  M<sup>-1</sup> and  $n \approx 3-4$ ). These results are in correspondence to literature data based on which we assume that at low ionic strengths the strong mode respects to intercalation, the weak mode – to electrostatic mechanism of interaction [9, 11, 16, 24].

## REFERENCES

1. *Abu-Dayā A., Philip M.B., Fox K.R.* DNA sequence preferences of several AT-selective minor groove binding ligands. *Nucleic Acids Res.*, 23, p. 3385-3392, 1995.
2. *Arakelyan V.B., Babayan Yu.S., Potikyan G.* Determination of constant rates of adsorption of ligand on DNA: Analysis of correlation functions. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 18, 2, p. 231-235, 2000.
3. *Bostock-Smith C.E., Laughton C.A., Searle M.S.* Solution structure and dynamics of the A-T tract DNA decamer duplex d(GGTAATTACC)<sub>2</sub>: implications for recognition by minor groove binding drugs. *Biochem. J.*, 342, p. 125-132, 1999.
4. *Breusegem S.Y., Clegg R.M., Looitens F.G.* Base-sequence specificity of Hoechst 33258 and DAPI binding to five (A/T)<sub>4</sub> DNA sites with kinetic evidence for more than one high-affinity Hoechst 33258-AATT complex. *J. Mol. Biol.*, 315, p. 1049-1061, 2002.
5. *Bunkenberg J., Behrens C., Jacobsen J.P.* NMR Characterization of the DNA Binding Properties of a Novel Hoechst 33258 Analogue Peptide Building Block. *Bioconjugate Chem.*, 13, p. 927-936, 2002.
6. *Cantor Ch., Shimmel P.* Biophysical chemistry, 3, Moscow, Mir, 534 p., 1985.
7. *Chaires J.B.* Energetics of drug-DNA interactions. *Biopolymers*, 44, p. 201-215, 1998.
8. *Crothers D.M.* Calculation of binding isotherms for heterogeneous polymers. *Biopolymers*, 6, p. 575-584, 1968.
9. *Gorner H.* Direct and sensitized photoprocesses of bisbenzimidazole dyes and the effects of surfactants and DNA. *Photochemistry and Photobiology*, 73, 4, p. 339-348, 2001.

10. Han F., Taulier N., Chalikian T. Association of the Minor Groove Binding Drug Hoechst 33258 with d(CGCGAATTCGCG)<sub>2</sub>: Volumetric, Calorimetric and Spectroscopic Characterizations. *Biochemistry*, 44, p. 9785-9794, 2005.
11. Ismail M.A., Rodger P.M., Rodger A. Drug self-assembly on DNA: sequence effects with trans-bis-(4-N-methylpyridinium)diphenylporphyrin and Hoechst 33258. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 11, p. 335-348, 2000.
12. Lane A.N., Jenkins T.C. Thermodynamics of nucleic acids and their interactions with ligands. *Q. Rev. Biophys.*, 33, 3, p. 255-306, 2000.
13. Latt S.A., Wohlleb J.C. Optical studies of the interaction of 33258 Hoechst with DNA, chromatin, and metaphase chromosomes. *Chromosoma*. 52, p. 297-316, 1975.
14. Loontjens F.G., McLaughlin L.W., Diekmann S., Clegg R.M. Binding of Hoechst 33258 and 4',6'-diamidino-2-phenylindole to self-complementary decadeoxynucleotides with modified exocyclic base substituents. *Biochemistry*. 30, p. 182-189, 1991.
15. McGee J.D., von Hippel P.H. Theoretical aspects of DNA-protein interactions: cooperative and non-cooperative binding of large ligands to a one-dimensional homogeneous lattice. *J. Mol. Biol.*, 86, p. 469-489, 1974.
16. Miskovic K., Bujak M., BausLoncar M., Glavas-Obrovac L. Antineoplastic DNA-Binding Compounds: Intercalating and Minor Groove Binding Drugs. *Arh. Hig. RadaToksikol.*, 64, p. 593-602, 2013.
17. Parkinson J.A., Barber J., Douglas K., Rosamond J., Sharples D. Minor-groove recognition of the self-complementary duplex d(CGCGAATTCGCG)<sub>2</sub> by Hoechst 33258: a high-field NMR study. *Biochemistry*. 29, p. 10181-10190, 1990.
18. Pjura P.E., Grzeskowiak K., Dickerson R.E. Binding of Hoechst 33258 to the minor groove of B-DNA. *J. Mol. Biol.* 197, p. 257-271, 1987.
19. Rosu F., Gabelica V., Houssier C., De Pauw E. Determination of affinity, stoichiometry and sequence selectivity of minor groove binder complexes with double-stranded oligodeoxynucleotides by electrospray ionization mass spectrometry. *Nucleic Acids Research*. 30, 16, e82., 2002.
20. Stokke T, Steen H.B. Multiple binding modes for Hoechst 33258 to DNA. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 33, p. 333-338, 1985.
21. Vardevanyan P.O., Antonyan A.P., Parsadanyan M.A., Davtyan H.G., Karapetyan A.T. The Binding of ethidium bromide with DNA: Interaction with single- and double-stranded structures. *Exp. and Mol. Medicine*. 35, 6, p. 527-533, 2003.
22. Vardevanyan P.O., Antonyan A.P., Parsadanyan M.A., Pirumyan K.V., Boyajyan Z.R., Karapetian A.T. Ionic strength effect on Hoechst 33258 interaction with DNA. *Vestnik MANEB*, (In Russian). 10, 5, p. 145-150, 2005.
23. Vardevanyan P.O., Antonyan A.P., Hambarzumyan L.A., Shahinyan M.A., Karapetian A.T. Thermodynamic analysis of DNA complexes with methylene blue, ethidium bromide and Hoechst 33258. *Biopolymers and cell*. 29, 6, p. 515-520, 2013.
24. Vekshin N. Binding of Hoechst with nucleic acids using fluorescence spectroscopy. *Journal of Biophysical Chemistry*. 2, 4, p. 443-447, 2011.
25. Zasedatelev A.S., Gurskii G.V., Volkenshtain M.V. Theory of one-dimensional adsorption. Adsorption of small molecules on homopolymer. *Mol. Biol.*, (In Russian), 5, 2, p. 245-251, 1971.

Received on 20.02.2015



Biolog. Journal of Armenia, 3 (67), 2015

## EVALUATION OF SOIL GENOTOXICITY IN KARVACHAR AND KAPAN USING THE COMET ASSAY IN URAL FIELD MOUSE (*APODEMUS URALENSIS*)

A.E. SIMONYAN

*Yerevan State University, Department of Genetics and Cytology  
genetanatgc@yahoo.com*

The aim of the present study was evaluation of soil genotoxicity from Karvachar (Nagorno-Karabakh Republic) and Kapan (Republic of Armenia) using the single cell gel electrophoresis (comet assay) on peripheral blood leukocytes of the local Ural field mouse (*Apodemus uralensis*). DNA damage in mice leukocytes from Karvachar was significantly higher compared to Kapan. It is worth to mention, that in the soil samples from Karvachar the content of Fe, Mg and Ca was significantly higher compared to Kapan indicating potential genotoxic influence. The obtained results confirm that the assessing of genotoxicity by the Comet assay in free-living mice is valuable test in monitoring of environmental pollution.

*Comet assay – Ural field mouse – leukocytes – biomonitoring*

Աշխատանքի նպատակն էր Քարվաճառի (Լեռնային Ղարաբաղի Հանրապետություն) և Կապանի (Հայաստանի Հանրապետություն) հողի զենաթունայնության գնահատումը փոքր անտառային մկան (*Apodemus uralensis*) ծայրամասային արյան լեյկոցիտներում եզակի բջիջների ժել-էլեկտրաֆորեզի (ԴՆԹ-կոմետ մեթոդ) կիրառմամբ: Քարվաճառի անտառային մկների լեյկոցիտներում ԴՆԹ-ի վնասվածքները հավաստիորեն ավելի բարձր են, համեմատած Կապանի մկների հետ: Հարկ է նշել, որ Քարվաճառի հողի նմուշներում Fe, Mg և Ca պարունակությունը զգալիորեն ավելի բարձր է, համեմատած Կապանի հետ, ինչը վկայում է հնարավոր զենաթունային ազդեցության մասին: ԴՆԹ-կոմետ մեթոդի կիրառումը փոքր անտառային մկան ծայրամասային արյան լեյկոցիտներում արդյունավետ մոտեցում է հողի զենաթունայնության գնահատման համար:

*ԴՆԹ-կոմետ մեթոդ – փոքր անտառային մուկ – լեյկոցիտներ – կենսավշտադիտարկում*

Целью настоящего исследования являлась оценка генотоксичности почв Карвачара (Нагорно-Карабахская Республика) и Капана (Республика Армения), с применением метода гель-электрофореза единичных клеток (метод ДНК-комет) в лейкоцитах периферической крови у малой лесной мыши (*Apodemus uralensis*). Уровни повреждений ДНК в лейкоцитах мышей из Карвачара были значительно выше по сравнению с мышами из Капана. Стоит отметить, что в пробах почвы из Карвачара содержание Fe, Mg и Ca было значительно выше по сравнению с образцами почв из Капана, что указывает на потенциальное генотоксическое влияние. Полученные результаты подтверждают, что оценка генотоксичности почв с применением метода ДНК-комет у малой лесной мыши является эффективным подходом для мониторинга окружающей среды.

*Метод ДНК-комет – малая лесная мышь – лейкоциты – биомониторинг*

Environmental pollution causes a variety of effects, including increasing level of DNA damage. For the evaluation of environmental genotoxicity chemical analysis of pollutants should be combined with the analysis of DNA damage in testing species.

Rodents are routinely used as bioindicators of environmental contamination due to their ubiquitous distribution, high relative abundance, ease of trapping and

handling, and close association with the soil [8]. Earlier mice from the genus *Apodemus* have been successfully applied as pollution bioindicators using micronuclei test [7] and chromosomal aberrations [12].

The Comet assay, also known as a “single cell gel electrophoresis”, has become an important tool for assessing DNA damage and repair in single cells [4]. This method is established as a valuable tool in genetic ecotoxicology in wild animal populations [13], including free living mice [6].

In the present study the Comet assay was applied on the peripheral blood leukocytes of Ural field mouse (*Apodemus uralensis*) sampled from two areas with different levels of contamination: Kapan, the center of the Syunik Province, Republic of Armenia and Karvachar or Kalbajar, Nagorno-Karabakh Republic (NKR) for detection of soil genotoxicity.

**Materials and methods.** Soil chemical analysis was realized in Institute of Chemical Physics of NAS RA, according to APHA [1]. Levels of Ca, Mg, Mn, Fe, Co, Cr, Cu, Zn, Mo, Pb, Cd, P and V were measured in soil samples from Kapan and Karvachar in 2014.

In total, 26 mice were caught in 2014 using live traps and transported to the laboratory: 11 (10 males: 1 female) from Kapan and 15 (10 males: 5 females) from Karvachar. To avoid interindividual differences related to age, only adult specimens were examined. Blood samples were collected from each mouse by cardiac puncture, placed in vials with heparin as an anticoagulant.

Alkaline Comet assay was applied with some modifications [11]. A mixture of 20  $\mu$ l of whole blood sample with 80  $\mu$ L low melting point agarose (0.5%) (Sigma) was pipetted onto a microscope slide precoated with 1% normal melting agarose (Sigma). After the solidification of gel layer the slides were immersed in lysis solution (2.5 M NaCl, 100 mM Na<sub>2</sub>EDTA, 10 mM Tris and 1% Triton X-100, pH 10.0) for 24 hour at 4°C. Subsequently, the slides were incubated in freshly made alkaline buffer (300 mM NaOH and 1mM Na<sub>2</sub>EDTA, pH>13) for 20 min for DNA unwinding, and electrophoresed in the same buffer for 15 min at 300 mA and 25 V. Slides were washed with neutralization buffer (0.4 M Tris, pH 7.5) for 10 min and stained with 20  $\mu$ g/mL ethidium bromide (Sigma). The images were evaluated by fluorescence microscope (ZEISS, Germany) in conjunction with a digital camera. DNA damage was assessed using a Comet Assay IV imaging system (Perceptive Instruments, UK). 150 cells scored from each mouse. To characterize DNA damage the parameters % DNA in tail, Tail moment and Tail length was used.

Statistical analysis of obtained data was performed using nonparametric Mann–Whitney U test and Chi-Square ( $\chi^2$ ) test by StatgraphicsCenturion 16.2 (StatPoint Technologies, Inc. USA; Warrenton, VA) program.

**Results and Discussion.** The chemical composition of soil from two sampling sites is shown in and data of data of maximum allowable concentration (MAC) [9] for soils of Armenia are shown in tab. 1.

Chemical analyses of soil samples demonstrated differences in concentrations of pollutants between sites. In soil samples from Karvachar the content of Fe, Mg and Ca was significantly higher compared to Kapan.

DNA damage values assessed by the Comet assay in leukocytes of mice sampled in Kapan and Karvachar are shown in tab. 2. Data are presented pooling together the sexes, since the preliminary analysis did not show significant differences between female and male animals within the same group. This result coincides with literature data [8].

Nonparametric Mann–Whitney U test showed that the comet parameters (% of DNA in the tail and tail moment) in mice leukocytes from Karvachar were significantly higher compared to Kapan ( $p < 0.05$ ). Significant difference between two sites by the tail length was not revealed (tab. 2). This can be explained by the fact that the tail length does not linearly related to DNA break frequency [4].

**Table 1.** Concentrations of chemical elements (mg/kg) in the soil samples from Kapan and Karvachar and MAC – “maximum allowable concentrations of chemical elements” for soils of Armenia.

Chemical elements	Kapan	Karvachar	MAC
Ca	0.35	96.26*	No data
Mg	0.05	92.82*	No data
Mn	0.30	1.10	<1500
Fe	19.62	58.72*	No data
Co	0.01	0.03	No data
Cr	0.02	0.49	<90
Cu	0.31	0.04	<132
Zn	0.19	0.10	<220
Mo	0.03	0.00	<132
Pb	0.04	0.01	<65
Cd	0.00	0.00	<2
P	0.60	1.59	No data
V	0.20	0.06	<150

\* – denotes significant difference compared to Kapan ( $p < 0.001$ )

Increased level of DNA damage in mice from Karvachar compare with Kapan could be related with higher content of Fe, Mg and Ca. Earlier the genotoxicity Fe, Mg and Ca was shown [2, 5, 10]. Chemical composition assays of environmental habitat give important information on the extent of its contamination. However, they do not show the real effect on biological systems, because the combination of different factors acts simultaneously and reveals a summary biological effect. For this reason, biological assays of genotoxicity evaluation have been elaborated [3].

Thus, the assessment of DNA damage by Comet assay in leukocytes of mice *Apodemus uralensis* can be used as a valuable tool for assessment of genotoxic hazards of environmental pollution.

**Table 2.** DNA damage in leukocytes of mice *Apodemus uralensis* collected from Kapan and Karvachar

Sampling site	Number of mice	% DNA in tail		Tail moment		Tail length	
		Mean $\pm$ SE	Median	Mean $\pm$ SE	Median	Mean $\pm$ SE	Median
Kapan	11	6.64 $\pm$ 0.22	2.84	0.99 $\pm$ 0.03	0.43	31.74 $\pm$ 0.21	30.49
Karvachar	15	7.59 $\pm$ 0.19	4.25*	1.19 $\pm$ 0.03	0.68*	31.04 $\pm$ 0.17	29.17

\* – denotes significant difference compared to Kapan ( $p < 0.001$ )

The present study showed that DNA damage in mice leukocytes from Karvachar was significantly higher compared to Kapan. It was also found that soil samples from Karvachar more polluted with Fe, Mg and Ca. Thus, soil chemical analysis data agreed with the data of the analysis of DNA damage.

The results obtained demonstrate the sensitivity of free living mice *Apodemus uralensis* as biomarkers of environmental genotoxic pollution.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

*I would like to express my gratitude to Dr. M. Arakelyan, Dr. A. Ghazaryan, Dr. G. Papov and T. Hayrapetyan (YSU, Department of Zoology) for support during*

*conduction of experiments on mice and Dr. S. Minasyan (Institute of Chemical Physics of NAS RA) for data of chemical analysis of soil samples.*

## REFERENCES

1. American Public Health Association – APHA, in: L.S. Clesceri, A.E. Greenberg, A.D. Eaton (Eds.), *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, Washington, DC, USA, 20<sup>th</sup> edition, 1998.
2. *Bentle, M.S., Reinicke, K.E., Bey, E.A., Spitz, D.R. & Boothman D.A.* Calcium-dependent modulation of poly(ADP-ribose) polymerase-1 alters cellular metabolism and DNA repair. *J. Biol. Chem.* *281*, 33684-33696, 2006.
3. Cesniene T., Kleizaite V., Ursache R., Zvingila D., Razdevicius A., Rancelis V. Relation between soil contamination with metals in military training grounds and genotoxicity revealed by Tradescantia assays, *Biologija* *53*, 6-11, 2007.
4. *Collins A.R.* The Comet Assay for DNA Damage and Repair, principles, applications, and limitations. *Molecular Biotechnology*, *26*, 3, 249-261, 2004.
5. *Di Virgilio A, Reigosa M, de Mele M.* Biocompatibility of magnesium particles evaluated by in vitro cytotoxicity and genotoxicity assays. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* *99*, 111-119, 2011.
6. *Festa F., Cristaldi M., Ieradi L.A., Moreno S., Cozzi R.* The Comet assay for the detection of DNA damage in *Mus spretus* from Doñana National Park. *Environ Res.* *91*, 1, 54-61, 2003.
7. *Ieardi, L.A., J.Zima, F. Allegra.* Evaluation of genotoxic damage in wild rodents from a polluted area in Czech Republic. *Folia Zoologica*, *52*, 57-66, 2003.
8. *Mitkovska V., Chassovnikarova T., Atanassov N., Dimitrov H.* Environmental genotoxicity evaluation using a micronucleus test and frequency of chromosome aberrations in free-living small rodents *J. BioSci. Biotech* *1*, 1, 67-71, 2012.
9. RA Government Resolution № 92-N of 25 January 2005 “About approval of the order of assessment of the economic activities – induced impact on soil resources. Yerevan, 2005. <http://www.arlis.am/#> (in Armenian).
10. *Sanders T, Liu Y.M., Tchounwou P.B.* Cytotoxic, genotoxic, and neurotoxic effects of Mg, Pb, and Fe on pheochromocytoma (PC-12) cells. *Environ Toxicol*, 2014.
11. *Singh N.P., McCoy M.T., R.R Tice, Schneider E.L.* A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research*, *175*, 184-191, 1988.
12. *Topashka-Ancheva M., R. Metcheva, S. Teodorova.* A comparative analysis of the heavy metal loading of small mammals in different regions of Bulgaria II: Chromosomal aberrations and blood pathology. *Ecotoxicology and Environmental Safety* *54*, 2, 176-187, 2003.
13. *Visvardis, E.E., Haveles, K.S., Patarias, T.A., Margaritis, L.H., Sophianopoulou, V., Sideris, E.G.* Diversity of peripheral blood mononuclear cells as revealed by a novel multiple microgel “Comet assay”. *Environ. Mol. Mutagen.* *36*, 32-39, 2000.

*Received on 26.03.2015*



Biol. Journal of Armenia, 3 (67), 2015

## SURFACE CHARGE DENSITY OF RAT BLOOD ERYTHROCYTES UNDER THE INFLUENCE OF MILLIMETER DIAPASON ELECTROMAGNETIC RADIATION

A.V. NERKARARYAN, M.S. MIKAELYAN, M.A. SHAHINYAN, P.O. VARDEVANYAN

Yerevan State University, Department of Biophysics, Yerevan, Armenia  
biophys\_dep@mail.ru

In present work the effect of millimeter electromagnetic radiation on the surface charge density of rat blood erythrocytes has been studied. The experiments were carried out irradiating suspension of erythrocytes of rat blood by different frequencies. It was shown that in the case of the irradiation by water non-resonant as well as resonant frequencies the value of studying parameter decreases compared to control samples. In the case of the irradiation by water resonant frequency the decrease of the value of studying parameter is more pronounced. In both cases a reliable changes of the surface charge density value of rat blood erythrocytes take place.

*Irradiation – rat blood erythrocytes – surface charge density – water resonant frequency – water non-resonant frequency*

Ուսումնասիրվել է միլիմետրային էլեկտրամագնիսական ճառագայթման ազդեցությունը առնետների արյան էրիթրոցիտների մակերևութային լիցքի խտության վրա: Ուսումնասիրություններն կատարվել են առնետների արյան էրիթրոցիտների կախությամբ ճառագայթելով տարբեր հաճախություններով: Ցույց է տրվել, որ ջրի համար ոչ ռեզոնանսային և ռեզոնանսային հաճախություններով ճառագայթահարման դեպքում ուսումնասիրվող պարամետրի արժեքը նվազում է ստուգիչ նմուշների համեմատ: Ջրի համար ռեզոնանսային հաճախությամբ ճառագայթահարելու դեպքում այդ պարամետրի արժեքի նվազումն ավելի վառ է արտահայտված: Երկու դեպքում էլ տեղի են ունենում առնետների արյան էրիթրոցիտների մակերևութային լիցքի խտության արժեքի էական փոփոխություններ:

*Ճառագայթահարում – առնետների արյան էրիթրոցիտներ – մակերևութային լիցքի խտություն – ջրի համար ռեզոնանսային հաճախություն – ջրի համար ոչ ռեզոնանսային հաճախություն*

Исследовалось влияние миллиметрового электромагнитного излучения на плотность поверхностного заряда крови эритроцитов крыс. Эксперименты осуществлялись облучением суспензии эритроцитов крови крыс разными частотами. Показано, что в случае облучения не резонансными и резонансными для воды частотами значение исследуемого параметра уменьшается по сравнению с контролем. В случае облучения резонансной для воды частотой уменьшение значения исследуемого параметра выражено более ярко. В обоих случаях имеют место достоверные изменения значения плотности поверхностного заряда эритроцитов крови крыс.

*Облучение – эритроциты крови крыс – плотность поверхностного заряда – резонансная для воды частота – частота не резонансная для воды*

Millimeter electromagnetic radiation (MM EMR) composes the background of surrounding medium and intensively effects on living material [7, 11, 19]. It has been shown that the effect of MM EMR results in changing of different parameters of the blood: influencing on the plasma surface tension, the electrokinetic potential of erythrocytes as well as the resistance of erythrocytes etc., [7]. The surface charge created by the equilibrium between cell membrane components and medium components is an important parameter of erythrocyte membrane [5]. The surface charge is created by polar heads of phospholipids, glycoproteins (essentially by carboxylic groups of sialic acid and amino-acidic residues), as well as glycolipids. Due to the compounds the membrane surface is charged negatively. Sialic glycoproteins consisting of membranes of blood erythrocytes create the negative surface charge (60%) which provides the repulsion between the cells, excluding an interaction between them, particularly, aggregation of erythrocytes that has a big biological importance [1, 6]. Taking into account that sialic glycoproteins play a crucial role in the modulation of erythrocyte-erythrocyte interaction as well as erythrocyte interactions with other blood corpuscles and endothelium [13, 18] it may be insisted that the surface charge of erythrocytes plays a leading role in aggregation and disaggregation of erythrocytes [10]. Decreasing of negative surface charge density of erythrocytes may result in destabilization of suspension of blood corpuscles [14] and, as a consequence, in disturbance of blood functions. The goal of the present work is to study the effect of MM EMR on the surface charge density of membranes of erythrocytes of rat blood.

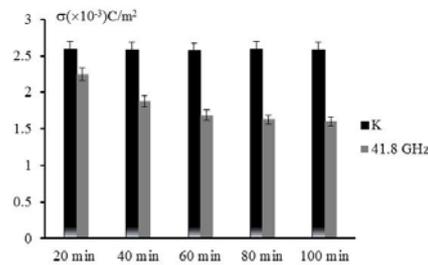
**Materials and methods.** White outbred rats with 80-100g mass were used in experiments (*Rattus norvegicus*, “vistar”). Animals were pickled and the blood was gathered into glass, where previously 1-2 ml 5% Na-citrate solution was added. The latter was prepared on the basis of physiological solution. From each animal the blood with almost 3-3.5 ml volume was taken. Animal blood was centrifuged during 10 min with 1500g acceleration (Electronic Centrifuge Capacity). Erythrocytes were separated from supernatant liquid. Physiological solution was added to the sediment of erythrocytes. The last was suspended. The obtained erythrocytes were suspended in the physiological solution for obtaining of a suspension with an optical density equal to 0.7. The obtained suspension was irradiated at  $\lambda=670$  nm wavelength. Optic density measurement was carried out by photoelectrocolorimeter (KFK-2). Non-irradiated suspension of erythrocytes was used as a control sample. In each group – control and experimental 6 rats were used, the experiment was repeated three-times, and then obtained data were averaged. Animals were in the same-type conditions and fed by combined food. Suspension of blood erythrocytes was irradiated with the following frequencies: 41.8 GHz, 42.2 GHz, 50.3 GHz and 51.8 GHz during 20 min, 40 min, 60 min, 80 min, 100 min. MM EMR was produced with Russian-made “Istok” (Model G4-141) generator (Istok, Fryazino, Russia) with working interval of frequencies 37.5-53.5 GHz. The power flux density on the sample was equal to  $64 \mu\text{Wt/cm}^2$ . Electromagnetic field was homogeneous, distance between sample and waveguide was equal to 180 mm. The choice of these frequencies is conditioned by the fact that 50.3 GHz and 51.8 GHz are water resonant frequencies and 41.8 GHz and 42.2 GHz frequencies have a biological application [9, 17]. The suspension of erythrocytes was used to determine surface charge density of erythrocyte membrane. It was judged about the surface charge density value of erythrocyte membrane by their mobility in electric field. The mobility of erythrocytes was determined in constant electric field. The surface charge density was calculated by the following formula [2, 8]:

$$\sigma = \frac{\omega \eta}{k + r} \quad (1)$$

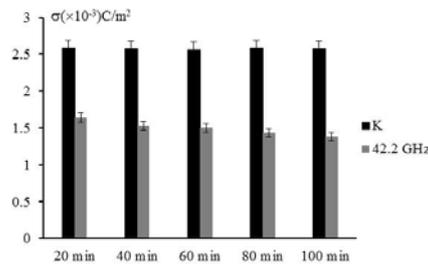
where  $\sigma$  is the surface charge density of erythrocytes ( $\text{C/m}^2$ ),  $\omega$  – electrophoretic mobility of particle, i.e. relation of erythrocyte linear rate to electric field potential gradient,  $\eta$  – disperse medium viscosity,  $k$  – width of double electric layer ( $\text{\AA}$ ),  $r$  – radius of anti-ion. Taking into account that at ionic strength of buffer – 0.15M/l,  $k$  is approximately equal to 7.74  $\text{\AA}$ , the radius of anti-ion may be neglected. Further calculations were carried out by this consideration. The statistic treatment was carried out.

**Results and Discussion.** The effect of EMR with 41.8 GHz, 42.2 GHz, 50.3 GHz and 51.8 GHz on the surface charge density of membrane of rat blood erythrocytes was investigated.

The values of surface charge density changes of erythrocyte membrane of blood of irradiated rats by EMR with 41.8 GHz are presented on figure 1. It is obvious from figure 1 that after each irradiation the value of  $\sigma$  of erythrocyte membranes decreases compared with control. It should be mentioned that the degree of the change of surface charge density value differs from each other at different durations of irradiation: thus at suspension irradiation with 20 min duration the value of  $\sigma$  decreases by 13% compared to control, while at irradiation with 100 min duration – by 38%. The irradiation of rats by 42.2 GHz induces a bigger response of biological system to external physical effect (figure 2). In this case a decrease of the value of  $\sigma$  is also observed compared to control and fluctuations after each irradiation with respective duration are significant: from 37% at 20 min duration up to 46.5% at 100 min duration.

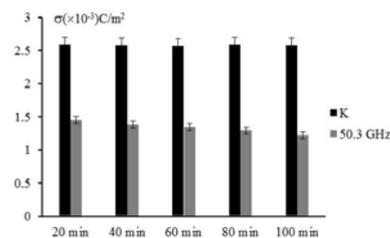


**Fig. 1.** Change of the surface charge density of membranes of erythrocytes at EMI EHF irradiation by 41.8 GHz.



**Fig. 2.** Change of the surface charge density of membranes of erythrocytes at EMI EHF irradiation by 42.2 GHz.

It is interesting that at irradiation of rat blood erythrocyte suspension with 50.3 GHz and 51.8 GHz frequencies the same regularity is observed: the value of  $\sigma$  decreases with enhancement of irradiation duration. In the case of irradiation of suspension of rat blood erythrocytes with 50.3 GHz frequency induced changes of surface density charge value alter from 44% up to 53% (fig. 3).



**Fig. 3.** Change of the surface charge density of membranes of erythrocytes at EMI EHF irradiation by 50.3 GHz.

In the case of irradiation of rats by 51.8 GHz frequency, the induced changes of the surface charge density value are in the interval from 53% to 60% (fig. 4).

Therefore generalizing the above obtained data it may be noticed that the effect of EMI EHF when the suspension of erythrocytes is irradiated, causes a decrease of surface charge density value of rat blood erythrocytes which may be conditioned by the influence of irradiation on membrane proteins and plasma. On the other hand it is obvious that in the cases of irradiation with 50.3 GHz and 51.8 GHz frequencies the decrease of this value is bigger compared to the cases with 41.8 GHz and 42.2 GHz frequencies. It may be assumed that at the irradiation by 50.3 GHz and 51.8 GHz frequencies, as a consequence of water structure changes in the plasma, the concentration of protons increases which may change water buffer properties and a width of double electric layer. In its turn it changes the membrane physicochemical properties of erythrocytes, particularly, the values of surface charge density and electrokinetic potential.

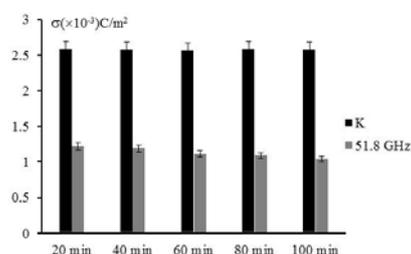


Fig. 4. Change of the surface charge density of membranes of erythrocytes at EMI EHF irradiation by 51.8 GHz.

The change of structure of membrane proteins may change a density of molecule twisting in membranes which results in disorders of physicochemical properties of erythrocytes. The change of protein composition of blood plasma in its turn influences on erythrocyte membrane. It was shown that the stability of erythrocyte membrane increases with the negative charge decreasing on membrane external surface [3]. It was revealed that the stability of erythrocyte membrane decreases with the surface charge increasing on internal side of membrane [4]. It is peculiar for membranes a pronounced electrostriction: with transmembrane difference enhancement of potentials the membrane is condensed which results in thinning of hydrophobic zone and increasing of cellular membrane capacity [16]. The width of double electric layer increases and the electrokinetic potential enhances. The enhancement of electrokinetic potential is accompanied by cell surface charge increasing. The increasing of erythrocyte surface charge, conditioned by membrane structure change, results in enhancement of its permeability, reduction of erythrocyte resistance to hemolysis agent as well as acceleration of hemolysis. The obtained data indicate that MM EMR effect on suspension of erythrocytes in common results in changes of the surface charge density of membranes of blood erythrocytes of rats. The surface charge of erythrocytes is an important parameter for aggregation and disaggregation of erythrocytes. The aggregation of erythrocytes, conditioned by  $\square$  decreasing, leads to the increase of ESR [10]. In the statement [12] it is informed about reliable increasing of ESR

at blood irradiation by low intensity MM EMR. It was also shown that the irradiation of blood by 60 GHz frequency with 30 min duration results in ESR increasing more than twice which is considered to be a consequence of erythrocyte aggregation degree enhancement [15].

Therefore the irradiation of suspension of erythrocytes of rat blood by electromagnetic waves with extremely high frequencies induces a change of different blood criteria including erythrocyte properties. In consequence of multiple irradiations of rats by 41.8GHz, 42.2 GHz, 50.3 GHz and 51.8 GHz frequencies the surface charge density of erythrocytes changes. The multiple irradiations of animals by 41.8 GHz and 42.2 GHz frequencies result in decreasing of erythrocyte

surface charge density compared with control. Changes of the surface charge density value of erythrocytes induced by suspension

irradiation with 50.3 GHz and 51.8 GHz frequency which is resonant frequency for water are more pronounced. Water structure changes in its turn induce alterations of physicochemical properties of plasma and erythrocyte membrane of irradiated blood suspension. The observed changes are stable in the suspension and do not subjected to correction of protective regulatory mechanisms realizing by organism.

## REFERENCES

1. *Abbas A.K., Lichtman A.H.* Immunologia celular e molecula, 5th ed. Saunders Elsevier, Rio de Janeiro, 2005.
2. *Bockris J.* Modern electrochemistry: Ionic, 1, 2nd ed., Springer Verlag GMBH, 1998.
3. *Cortez Maghelly C., Bisch P.M.* The effect of ionic strength and outer surface charges on the mechanical stability of the erythrocyte membranes: A linear hydrodynamics analysis, *J. Theor. Biology*, 176, p. 325-339, 1995.
4. *Cortez Maghelly C., Bisch P.M.* Inner surface charge and membrane mechanical stability, *Braz J of Physics*, 26, p. 604-610, 1996.
5. *Dobrzynska I., Szachowicz-Petelska B., Skrzydlewska E., Figaszewski Z.A.* Changes in electric charge and phospholipids composition in erythrocyte membrane of ethanol – poisoned rats after administration of teas, *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research*, 61, p. 483-487, 2004.
6. *Fernandes H.P., Cesar C.L., Barjas-Castro M.L.* Electrical properties of the red blood cell membrane and immunohematological investigation, *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.*, 33, p. 297-301, 2011.
7. *Gapeev A.B., Chemeris N.K.* Effect of persistent and modulated EMR EHF on animal cells. Part III. Biological effects of persistent EMR EHF, *Bulletin of new medicine technologies*, 7, p. 20-25, 2000a.
8. *Ghonyan S.A., Tiratsuyan S.G., Vardevanyan P.O.* Surface charge of isolated nuclei of hepatocytes at their functional activity change, *Biophysics*, 38, p. 887-888, 1993.
9. *Grundler W., Kaiser F.* Experimental evidence for coherent excitations correlated with cell growth, *Nanobiology*, 1, p. 163-176, 1992.
10. *Jan K.-M., Chien S.* Influence of the ionic composition of fluid media on red cell aggregation, *J General Phys*, 61, p. 655-668, 1973.
11. *Kalantaryan V.P., Babayan Y.S., Gevorgyan E.S., Hakobyan S.N., Antonyan A.P., Vardevanyan P.O.* Influence of low intensity coherent electromagnetic millimeter radiation (EMR) on aqua solution of DNA, *Progress in Electromagnetics Research Letters*, 13, p. 1-9, 2010.
12. *Loginov V.V., Rusyaev V.F., Tumanyants Y.N.* Effect of electromagnetic radiation EHF on human erythrocytes (in vitro), *Millimeter waves in biology and medicine*, 1, 13, p. 1721-1725, 1999.
13. *de Oliveira S., Saldanha C.* An overview about erythrocyte membrane, *Clinical hemorheology and microcirculation*, 44, p. 63-74, 2010.
14. *Pakhrova O.A., Grineva M.R., Ivanov S.K.* Methodology and clinical value of investigations of blood rheological properties, *Bulletin of Ivanovo medical academy*, 13, p. 89-100, 2008.
15. *Rybalko S.Y., Katsev A.I., Bisyuk Y.A.* Low intensity EMR EHF accelerates ESR and changes aggregation of human erythrocytes, *Tavric medical bulletin*, 5, p. 124-127, 2002.
16. *Samoylov V.O.* Medical biophysics, SpecLit, St. Petersburg, 2007.
17. *Shckorbatov Y.G., Grigoryeva N.M., Shakhbazov V.G., Grabina V.A., Bogoslavsky A.M.* Microwave irradiation influences on the state of human cell nuclei, *Bioelectromagnetics*, 19, p. 414-419, 1998.
18. *Telen M.J.* Erythrocyte adhesion receptors: blood group antigens and related molecules, *Transfusion Medicine Reviews*, 19, p. 32-44, 2005.
19. *Vardevanyan P.O., Nerkararyan A.N., Shahinyan M.A.* Influence of low intensity coherent electromagnetic millimeter waves on growth and peroxidase total activity of wheat germs, *J. of Exp. Biol. and Agricult. Sci.*, 1, 1, p. 39-44, 2013.

Received on 20.10.2014



•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ •Экспериментальные и теоретические статьи•  
•Experimental and theoretical articles•

Биолог. журн. Армении, 3 (67), 2015

## РОЛЬ ГАЛАРМИНА В ИЗМЕНЕНИИ КОНЦЕНТРАЦИИ ТИРЕОТРОПНОГО И ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ В КРОВИ У КРЫС ПРИ ГЕМИСЕКЦИИ СПИННОГО МОЗГА

Т.С. ХАЧАТРЯН

*Институт прикладных проблем физики НАН РА  
pharmatica@mail.ru*

Исследовались концентрации тиреотропного гормона гипофиза и тиреоидных гормонов в крови у крыс при латеральной гемисекции спинного мозга до и после воздействия сверхмалых доз гипоталамического нейропептида галармина. Исследования показали, что в условиях гемисекции спинного мозга у крыс наблюдалось резкое увеличение уровня концентрации тиреотропного гормона гипофиза и резкое снижение такового в крови. После воздействия сверхмалых доз галармина в крови у крыс наблюдалось резкое снижение уровня тиреотропного гормона гипофиза и повышение уровня тиреоидных гормонов в крови, с достижением такового у интактных животных.

*Тиреотропный гормон гипофиза – тироксин – трийодтиронин – галармин – гемисекция спинного мозга*

Սույն ուսումնասիրության նպատակն էր՝ հետազոտել հիպոֆիզի թիրեոտրոպ հորմոնի և վահանագեղձի հորմոնների կոնցենտրացիայի փոփոխությունը առնետների արյան մեջ, ողնուղեղի լատերալ կիսահատման պայմաններում, հիպոթալամիկ նեյրոպեպտիդ գալարմինի գերցածր չափաբաժինների կիրառումից առաջ և հետո: Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ առնետների ողնուղեղի կիսահատման պայմաններում նկատվել է արյան մեջ հիպոֆիզի թիրեոտրոպ հորմոնի կոնցենտրացիայի կտրուկ աճ և վահանագեղձի հորմոնների կոնցենտրացիայի կտրուկ նվազում: Գալարմինի գերցածր չափաբաժինների ազդեցության տակ կենդանիների արյան մեջ տեղի էր ունենում հիպոֆիզի թիրեոտրոպ հորմոնի կոնցենտրացիայի կտրուկ նվազում և վահանագեղձի հորմոնների մակարդակի կտրուկ աճ, որը բնորոշ է նորմալ կենդանիներին:

*Հիպոֆիզի թիրեոտրոպ հորմոն – թիրոքսին – տրիյոդթիրոնին – գալարմին – ողնուղեղի կիսահատում*

The aim of this study was to investigate the changes of thyroid-stimulating hormone and thyroid hormones concentrations in blood of rats with lateral hemisection of spinal cord before and after injection of ultra-low doses of hypothalamic neuropeptide galarmin. Studies showed a sharp increase of thyroid-stimulating hormone level in rats with hemisection of spinal cord and an appreciable drop in the level of thyroid hormones in blood. The action of ultra-low doses of galarmin decreased the concentration of thyroid-stimulating hormone and simultaneously increased the level of thyroid hormones which is typical for the intact animals.

*Thyroid-stimulating hormone – thyroxin – triiodothyronine – galarmin – hemisection*

Известно, что поражения спинного мозга (СМ) являются самой тяжёлой травмой, нередко сопровождающейся шоковым состоянием, требующим помещения больного в отделение реанимации, противошоковую палату или палату интенсивной терапии. По этиологии поражения СМ делятся на следующие группы: 1) травматические поражения (частичный разрыв СМ, кровоизлияние в него – гематомия, полный поперечный перерыв); 2) заболевания после перенесенных воспалительных процессов (миелит, арахномиелит и др.); 3) состояние после оперативных вмешательств (удаление опухоли и межпозвоночных дисков) [8]. Нейродегенеративные соматические заболевания СМ, а также его травматическая болезнь, возникающая вследствие повреждения позвоночника, относятся к важнейшим нерешенным проблемам современной медицины. Эти заболевания расцениваются как одни из самых прогностически неблагоприятных ввиду тяжести последствий, недостаточной эффективности существующих методов лечения и отсутствия этиотропных лекарственных средств [14]. Для лечения как дегенеративных, так и травматической болезни СМ различными авторами было исследовано действие ряда препаратов самых различных фармакологических групп: блокаторов альфа-адренергических рецепторов, стимуляторов и блокаторов бета-адренорецепторов, барбитуратов, антифибринолитических средств, антикоагулянтов, низкомолекулярных декстранов, опиатных антагонистов, тиреотропного гормона, иммунодепрессантов, липидных антиоксидантов, эуфиллина, диметилсульфоксида, нестероидных противовоспалительных препаратов, мышечных релаксантов. Результаты экспериментов, не всегда обнадеживающие, все же позволяют говорить о том, что терапевтический нигилизм в отношении заболеваний СМ не оправдан [7, 11, 13].

В настоящее время одним из наиболее распространённых спинальных повреждений является синдром половинного поражения СМ (латеральная гемисекция СМ, синдром Броун-Секара (ЛГМС)), возникающий при его ранениях, экстрадуральных опухолях и ишемии, вследствие нарушения кровообращения по передней бороздчатой артерии (ветвь передней спинномозговой артерии). Эта артерия снабжает кровью почти всю боковую половину поперечника СМ, за исключением задних канатиков, поэтому в данном случае при ишемии синдром Броун-Секара будет неполный, так как будут отсутствовать проводниковые расстройства эпикритической чувствительности на стороне поражения [12].

Для познания центральных нейрогуморальных механизмов регуляции всей иммунной системы большое значение имеют новые иммуномодуляторы мозга – пролином богатые пептиды (ПБП), продуцируемые нейросекреторными клетками гипоталамуса. Регуляторные пептиды и сопряжённые с их функцией ферменты следует рассматривать как сложную адаптивную систему организма, организующую реализацию приспособительных реакций на всех уровнях его интеграции. К подобной группе жизненно важных пептидов с невыясненным до конца молекулярным механизмом действия относятся и богатые пролином пептиды, выделенные А. Галояном и сотр. из нейросекреторных ядер гипоталамуса (N. Paraventricularis и N. supraoticus) крупного рогатого скота. Впоследствии была выяснена первичная структура этих пептидов, что позволило синтезировать их [9]. Из выделенных пептидов наиболее изучен галармин (ГАЛ), состоящий из 15 аминокислот со следующей первичной структурой: Ala-Gly-Ala-Pro-Glu-Pro-Ala-Glu-Pro-Ala-Gln-Pro-Gly-Val-Tyr [10]. ГАЛ обладает свойствами цитокина и является регулятором гуморального и клеточного иммунитета [2].

Вместе с тем в проводимых в настоящее время исследованиях по вышеперечисленной проблеме продолжают отсутствовать сведения относительно изолированного применения сверхмалых доз (СМД)  $10^{-13}$ – $10^{-17}$  М ГАЛ в изучении процес-

сов изменения концентрации тиреотропного гормона гипофиза (ТТГ), свободного трийодтиронина (Т3), свободного тироксина (Т4) в сыворотке крови у крыс при ЛГМС.

**Материал и методика.** Исследования проведены на 80 двенадцатимесечных крысах-самцах линии Вистар в условиях полухронического эксперимента, разделенных на 6 подопытных групп:

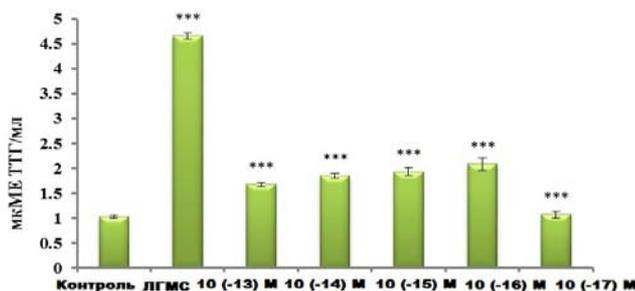
1. контрольные животные – 30 экз.;
2. животные с ЛГМС, получавшие в течение 14 послеоперационных дней СМД  $10^{-13}$  М ГАЛ – 10 экз.;
3. животные, получавшие СМД  $10^{-14}$  М ГАЛ – 10 экз.;
4. животные, получавшие СМД  $10^{-15}$  М ГАЛ – 10 экз.;
5. животные, получавшие СМД  $10^{-16}$  М ГАЛ – 10 экз.;
6. животные, получавшие СМД  $10^{-17}$  М ГАЛ – 10 экз..

В данных сериях экспериментальных исследований использовалась хирургическая модель ЛГМС. Животные оперировались в стерильных условиях под внутривенным нембутало-хлоралозовым наркозом. Под брюхо наркотизированного животного подкладывался небольшой валик и передние лапы подтягивались к задним. В грудной части спины выстригали и выбривали шерсть, затем смазывали кожу йодом. Операционное поле обкладывалось стерильными салфетками, после чего производили разрез по линии остистых отростков на уровне грудного отдела позвоночника. Мышцы по сторонам отростков отслаивались в стороны до самых дужек позвонков. Маленькими костными щипцами резецировались остистые отростки двух позвонков, специальными крючками раздвигались дужки позвонков. С помощью утонченного катарактального скальпеля перерезали СМ и его оболочки по окружности на уровне Т8–Т9. После этого полностью перерезки проверяли осторожным приподнятием концов мозга и обследованием их при орошении операционного поля слабой струей физиологического раствора, а также натяжением хвоста животного. Затем приостанавливали кровотечение с помощью местного кровоостанавливающего средства с последующим тщательным орошением физиологическим раствором. После этого узловыми швами сшивали мышцы и кожу.

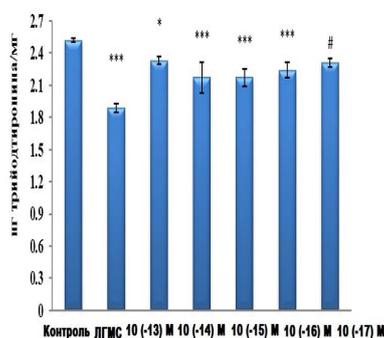
СМД ГАЛ были получены многостаканным методом С. Ганемана с соблюдением технологических правил, изложенных в руководствах по гомеопатии [4, 6]. После ЛГМС и окончания инъекций в местоповреждения СМД  $10^{-13}$ – $10^{-17}$  М ГАЛ в течение 14 послеоперационных дней у исследуемых животных была проведена декапитация и осуществлен сбор крови. В сыворотке с помощью метода иммуноферментного анализа (ИФА) определялась концентрация ТТГ, свободного Т3 и свободного Т4 посредством иммуноферментного анализатора RISER 8793 с набором “Elisa деоксиниваленола (W81115)”.

Достоверность различий оценивали на основе параметрического однофакторного дисперсионного анализа (one-way Anova) и постдисперсионного анализа Холм – Сидака с помощью пакета программ Sigma Plot 12 for Windows.

**Результаты и обсуждение.** В представленной серии исследований нами было изучено дозозависимое влияние СМД  $10^{-13}$  М– $10^{-17}$  М ГАЛ на изменение уровня концентрации ТТГ в сыворотке крови двенадцатимесечных белых крыс-самцов при ЛГМС (рис. 1). Установлено, что у спинальных крыс наблюдается резкое повышение уровня концентрации ТТГ в сыворотке крови на 477, 6 % по сравнению с контрольными животными. После воздействия СМД  $10^{-13}$  ГАЛ наблюдалось резкое снижение уровня концентрации ТТГ в сыворотке крови у крыс с ЛГМС, составляющее 157, 1 %, после воздействия СМД  $10^{-14}$  ГАЛ – 167, 2 %.

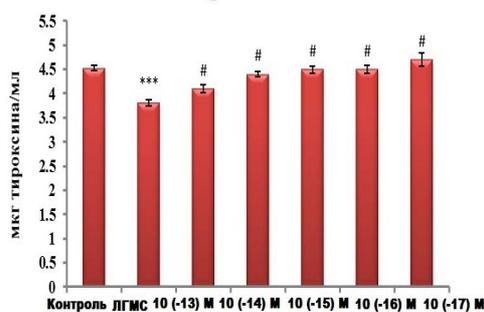


**Рис. 1.** Дозозависимое влияние галармина на содержание тиреотропного гормона в сыворотке крови двенадцатимесячных белых крыс-самцов при латеральной гемисекции спинного мозга. Постдисперсионный анализ Холм-Сидака при сравнении всех групп:  $F=84.25$ ,  $p < 0.001$ .



**Рис. 2.** Дозозависимое влияние галармина на содержание свободного трийодтиронина в сыворотке крови двенадцатимесячных белых крыс-самцов при латеральной гемисекции спинного мозга. Постдисперсионный анализ Холм-Сидака при сравнении всех групп:  $F=19.8$ ,  $p < 0.001$ .

### Тироксин



**Рис. 3.** Дозозависимое влияние галармина на концентрацию свободного тироксина в сыворотке крови двенадцатимесячных белых крыс-самцов при латеральной гемисекции спинного мозга. Постдисперсионный анализ Холм-Сидака при сравнении всех групп:  $F=9.54$ ,  $p < 0.001$ .

После применения СМД ГАЛ  $10^{-15}$  снижение уровня концентрации ТТГ в сыворотке крови у спинальных крыс составило 173, 7 %, а в случае СМД  $10^{-16}$  М – 191, 5 %. При исследовании воздействия СМД ГАЛ  $10^{-17}$  у крыс с ЛГМС получено снижение уровня концентрации ТТГ на 110, 3 %.

Подводя итоги данной серии исследований, можно сделать вывод о том, что все использованные СМД ГАЛ проявляют протекторное действие в отношении из-

менения референсных диапазонов концентрации ТТГ в сыворотке крови у крыс с ЛГМС, в особенности СМД ХЭД  $10^{-17}$  М.

В следующей серии исследований нами было изучено дозозависимое влияние ГАЛ на концентрацию свободного Т3 в сыворотке крови двенадцатимесячных белых крыс-самцов при ЛГМС (рис. 2). В проведенных исследованиях наблюдалось стойкое плавное снижение уровня концентрации свободного Т3 в сыворотке крови у спинальных крыс на 13,7 % по сравнению с контрольными животными. После воздействия СМД  $10^{-13}$  М ГАЛ отмечено плавное повышение уровня концентрации свободного Т3 в сыворотке крови у крыс с ЛГМС на 11,9 %. После воздействия СМД  $10^{-14}$  М ГАЛ – 9,2 %. После применения СМД ГАЛ  $10^{-15}$  М повышение уровня концентрации свободного Т3 в сыворотке крови составляло 9,0 %, а в случае СМД  $10^{-16}$  М – 11,4 %. При исследовании воздействия СМД ХЭД  $10^{-17}$  М у двенадцатимесячных крыс с ЛГМС получено повышение уровня концентрации свободного Т3 на 12,3 %.

Подводя итоги данной серии исследований, можно сделать вывод о том, что все использованные СМД ГАЛ проявляют протекторное действие в отношении изменения референсных диапазонов концентрации свободного Т3 в сыворотке крови у крыс с ЛГМС, в особенности СМД ХЭД  $10^{-17}$  М, как и в случае исследования воздействия СМД ГАЛ в отношении референсных диапазонов концентрации сывороточного ТТГ.

В следующей серии исследований нами было изучено дозозависимое влияние ГАЛ на концентрацию свободного Т4 в сыворотке крови двенадцатимесячных белых крыс-самцов при ЛГМС (рис. 3). Наблюдалось стойкое снижение уровня концентрации свободного Т4 в сыворотке крови у спинальных крыс на 9,1 % по сравнению с контрольными животными. После воздействия СМД  $10^{-13}$  М ГАЛ зафиксировано плавное повышение уровня концентрации свободного Т3, составляющее 8,4 %. После воздействия СМД  $10^{-14}$  М ГАЛ плавное повышение уровня концентрации свободного Т4 составляло 8,7 %. После применения СМД ГАЛ  $10^{-15}$  М повышение уровня концентрации свободного Т4 составляло 8,9 %, а в случае СМД  $10^{-16}$  М – 8,7 %. При исследовании воздействия СМД ГАЛ  $10^{-17}$  М у двенадцатимесячных крыс с ЛГМС выявлено повышение уровня концентрации свободного Т4 на 9,0 %.

Подводя итоги данной серии исследований, можно сделать вывод о том, что у спинальных крыс все использованные СМД ГАЛ проявляют протекторное действие в отношении изменения референсных диапазонов концентрации свободного Т4 в сыворотке крови у крыс с ЛГМС, в особенности СМД ХЭД  $10^{-17}$  М.

Медикаментозное лечение острых травм позвоночника остается спорным вопросом. Основными его звеньями являются противоотечная, дегидратационная терапия и препараты, улучшающие оксигенацию СМ. Применяют кортикостероиды, основываясь на теоретических выводах о том, что они стабилизируют клеточные и сосудистые мембраны и предотвращают отёк аксонов, однако основательной информации в пользу их эффективности нет. В настоящее время на практике терапевтическое лечение нейродегенеративных соматических заболеваний и травматической болезни СМ, как правило, ограничивается назначением общеукрепляющих и поддерживающих лекарственных средств: витаминов группы В, Е, АТФ, метионина, глутаминовой кислоты и пр. [1, 5].

Данные настоящего исследования свидетельствуют о протекторном действии гипоталамического нейропептида ГАЛ в СМД  $10^{-13}$ – $10^{-17}$  М в отношении нормализации процессов концентрации ТТГ и ТГ в сыворотке крови у крыс с ЛГМС. На основании результатов проведенных исследований можно сделать вывод о целесообразности применения гипоталамического нейропептида ГАЛ при органичес-

ких повреждениях СМ типа ЛГМС в отношении показателей ТТГ и ТГ в крови у крыс, что иллюстрируется полученными данными. Нашими предыдущими исследованиями также установлена протекторная роль ГАЛ при острой нейродегенерации мотонейронов спинного мозга, вызванной змеиными ядами [3].

### ЛИТЕРАТУРА

1. *Андреасян А.С., Киприян Т.К., Матинян Л.А., Нагапетян Х.О.* Особенности пластичности повреждённой нервной системы и значение некоторых факторов. Научные труды I съезда физиологов СНГ. Сочи, Дагомыс, 19-23 сент., 2, с. 161, 2005.
2. *Априкян В.С., Галоян А.А.* Иммунокорригирующие свойства нового гипоталамического полипептида при макрофаг ассоциированных бактериальных дисфункциях. Мед. наука Армении НАН РА, XXXIX, 4, с.29-36, 1999, а.
3. *Киприян Т.К., Хачатрян Т.С.* Протекция гипоталамическим нейрогормоном острой нейродегенерации мотонейронов спинного мозга, вызванной змеиными ядами. Ж. Информационные технологии и управление, 5, с. 68-75, 2007.
4. *Неи Е.Б.* Ведущие симптомы в гомеопатии. Харьков: Прогресс-ЛТД, 224 с., 1993.
5. *Розен В.Б.* Основы эндокринологии. М., Изд. МГУ, с. 1-55, 1994.
6. *Стоукс Дж.* Гомеопатия. М., ФАИР-ПРЕСС, 272 с., 2000.
7. *Buchner H., Tscherne H.* Paralysis by transverse lesion in multiple injuries. Arch. Orthop. Unfallchir., 62, 1, pp. 60-63, 1967.
8. *Fawcett J.V.* Bridging spinal cord injuries. Rehabil. Med., 9, 40, pp. 780-782, 2008.
9. *Galoyan A.A.* Neurochemistry of brain neuroendocrine immune system: signal molecules. J. Neurochem. Res., 25, pp. 1343-1355, 2000, a.
10. *Galoyan A.A., Terio T., Berg M., Marks N.* Effects of proline-rich peptide derived from Neurexyn-II on caspases of murine neuroblastoma: evidences for caspase-2 and -6 activation. J. Neurochemistry (RAS and NAS RA), 17, pp. 185-188, 2000, b.
11. *Kiwerski J., Weiss M., Pasniczek R.* Stimulation of the spinal cord following its traumatic lesion. J. Chir. Narzadow. Ruchu. Ortop. Pol., 43, 1, pp. 23-28, 1978.
12. *Matinyan L. A., Allaverdyan A. G., Nahapetyan Kh. H., Andreassian A. S., Chavushian V. A., Kipriyan T. K.* To plasticity mechanisms in injures of the spinal cord. 37<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the International Medical Society of Paraplegia, pp. 18-2, Brazil, 1998.
13. *Noguera E.M., Sic R., Solis F.* Intramedullary spinal cord neurocysticercosis presenting as brown-sequard syndrome. J. BMC Neurol., 15, pp. 1-11, 2015.
14. *Street D.M.* Traumatic paraplegia treated by vertebral resection, excision of spinal cord lesion, suture of the spinal cord, and interbody fusion. Proc. Annu. Clin. Spinal Cord Inj. Conf., Sep 27, 16, pp. 92-103, 1967.

Поступила 20.01.2015



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 3(67), 2015

**ՄՆՈՒՑՄԱՆ ՀԱՃԱԽԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ *CALLISIA FRAGRANS*-Ի ՖԻԶԻՈԼՈԳԱ-ԴԵՂԱՔԻՄԻԱԿԱՆ ՑՈՒՑԱՆԻՇՆԵՐԻ ԵՎ ԱՐԴՑՈՒՆԱՎԵՏՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ ԱՆՀՈՂ ՄՇԱԿՈՒՑԹԻ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ**

**Ս.Խ. ՄԱՅՐԱՊԵՏՅԱՆ, Ա.Ս. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ, Զ.Ս. ԱԼԵՔՍԱՆՅԱՆ,  
Բ.Թ. ՄՏԵՓԱՆՅԱՆ, Հ.Ս. ԳԱԼՍՅԱՆ, Վ.Գ. ԹԱՔՈՒՇՅԱՆ**

ՀՀ ԳԱԱ Գ.Ս. Դավթյանի անվան հիդրոպոնիկայի պրոբլեմների ինստիտուտ  
*hydrop@netsys.am*

Արարատյան դաշտի անհող մշակույթի պայմաններում առաջին անգամ ուսումնասիրվել է սնուցման հաճախականության ազդեցությունը արժեքավոր դեղաբույս բուրավետ կալիգիայի արդյունավետության և ֆիզիոլոգիա-դեղաքիմիական առանձնա-հատկությունների վրա:

Պարզվել է, որ դեղաբույսի համար առավելագույն արդյունավետությունն ապահովել է սնուցման օրական 2 անգամյա հաճախականությունը: Այս պայմաններում, ի հաշիվ կենսազանգվածի ավելացման, տերևներում և ընձյուղներում էքստրակտիվ նյութերի ելը, փորձարկված մյուս տարբերակների համեմատությամբ, ավելացել է, համապատասխանաբար, 1,1-4,2 և 1,2-4,7 անգամ: Սնուցման հաճախականությունն ազդել է տերևների ֆիզիոլոգիական ցուցանիշների վրա: Ընդ որում, սնուցման հաճախականության մեծացմանը զուգընթաց դիտվել է ջրի ավելի շարժուն ֆրակցիայի մեծացում, այն ժամանակ, երբ կապված ջրի և օսմոտիկ ճնշման դեպքում գրանցվել է հակառակ օրինաչափություն:

*Հիդրոպոնիկա - Callisia fragrans – արդյունավետություն – սնուցման հաճախականություն*

Впервые в условиях беспочвенной культуры Араратской долины изучено влияние частоты питания на продуктивность и физиолого-фармахимические особенности ценного лекарственного растения каллизии душистой.

Выявлено, что максимальная продуктивность для лекарственного растения обеспечила 2-кратная частота питания. В этих условиях за счет увеличения биомассы выход экстрактивных веществ в листьях и побегах, по сравнению с остальными испытанными вариантами, увеличивался в 1,1-4,2 и 1,2-4,7 раза соответственно. Частота питания повлияла на физиологические показатели в листьях. При этом параллельно с увеличением частоты питания наблюдалось увеличение более мобильной фракции воды, а в случаях связанной воды и осмотического давления наблюдалась обратная закономерность.

*Гидропоника – Callisia fragrans – продуктивность – частота питания*

The influence of nutrition frequency on productivity and physiological and pharmacological peculiarities of valuable medicinal plant *Callisia fragrans* has been studied for the first time in soil-less culture conditions of the Ararat Valley.

The maximum productivity was provided if the medicinal plant was nourished twice a day. In these conditions the output of extractive substances in the leaves and sprouts compared to the other tested variants increased 1,1-4,2 and 1,2-4,7 times, correspondingly due to biomass increase. Nutrition frequency affected physiological indices of the leaves. Moreover, parallel to the increase of nutrition frequency, an increase of more mobile water fraction was observed, while in case of bound water and osmotic pressure the opposite phenomenon was registered.

*Hydroponics – Callisia Fragrans – productivity – nutrition frequency*

Բժշկության մեջ կիրառվող դեղաբույսերի բուժական նշանակությունը կախված է դրանցում առկա կենսաբանական ակտիվ նյութերի պարունակությունից, որոնք մարդու օրգանիզմ թափանցելով՝ ունենում են որոշակի ֆիզիոլոգիական ազդեցություն: Շնորհիվ

կենսաբանական բարձրակտիվ նյութերի (էքստրակտիվ նյութեր, դաբաղանյութեր, ֆլավոնոիդներ, էթերայուղեր, ալկալոիդներ և այլն) պարունակության, դեղաբույսերը հումք են հանդիսանում առավել արդյունավետ և դիֆերենցված ազդեցություն ունեցող դեղանյութերի ստացման համար, որոնք զուրկ են սինթետիկ պատրաստուկների բնորոշ ալերգիկ ռեակցիաներից և այլ անցանկալի հետևանքներից [2, 7, 8]: Ուստի, թանկարժեք դեղաբույսերի ներմուծումը անհող մշակույթ և դրանց արդյունաբերական ցանքատարածքների հիմնումը, ինչպես նաև կենսատեխնոլոգիական նոր եղանակներով էկոլոգիապես անվտանգ և որակյալ բուսահումքի արտադրությունը, լուրջ նախադրյալ կարող է հանդիսանալ մեծ պահանջարկ ունեցող դեղաբույսերի կենսաբազմազանությունը պահպանելու առումով: Այս տեսանկյունից որպես հետազոտման օբյեկտ է ընտրվել արժեքավոր դեղաբույս բուրավետ կալիզիան, որը մեծ կիրառություն ունի ժողովրդական բժշկության մեջ [3,10]:

Չնայած հողային մշակույթի պայմաններում մի շարք հետազոտություններ են անցկացվել բույսի քիմիական կազմի, դրա բուժիչ հատկությունների բացահայտման ուղղությամբ [11-13], սակայն Արարատյան դաշտի բացօթյա հիդրոպոնիկայի պայմաններում այս արժեքավոր դեղաբույսի առաջին հետազոտությունները սկսվել են վերջին տարիներին մեր կողմից [1, 15]:

Ելնելով մեր առջև դրված խնդրից (բացօթյա հիդրոպոնիկայի պայմաններում *Callisia fragrans*-ի աճեցման կենսատեխնոլոգիայի մշակում) նպատակադրվել ենք հիդրոպոնիկայի պայմաններում օպտիմալացնել սնուցման հաճախականությունը, ուսումնասիրել դեղաբույսի արդյունավետությունը և բացահայտել ֆիզիոլոգա-դեղաքիմիական առանձնահատկությունները: Աշխատանքի նպատակն է նաև սնուցման հաճախականության օպտիմալացման արդյունքում հասնել օգտագործվող սննդատարրերի արդյունավետ քանակի որոշմանը:

Բուրավետ կալիզիան (*Callisia fragrans* (Lindl.) Woodson), կոմելինազգիների (Comelinaceae) ընտանիքին պատկանող բազմամյա սուկուլենտ բույս է: Դեղաբույսից ստացված հյութի քիմիական կազմի ուսումնասիրության արդյունքում պարզվել է, որ այն պարունակում է ածխաջրեր, ասկորբինաթթու, ամինաթթուներ, ֆենոլաթթուներ, ֆլավոնոիդներ, կումարիններ, անտրա-խինոններ, տրիտերպենային միացություններ, ալկալոիդներ և խոլին [11]: Շնորհիվ դրանում առկա կենսաբանորեն ակտիվ նյութերի պարունակության՝ բույսն օժտված է հակաօքսիդանտային, հակահիպոսպիկ, հակամուտագեն և այլ բուժիչ հատկություններով [11, 12, 13]: *Callisia fragrans*-ի քսուլները որպես դեղամիջոց թողարկվում են „ЗОЛОТОЙ УС И САБЕЛЬНИК“, „ЗОЛОТОЙ УС С ПЧЕЛИНЫМ ЯДОМ“, „ЗОЛОТОЙ УС С МУРАВЬИНЫМ СПИРТОМ“ և այլ անուններով:

**Նյութ և մեթոդ:** Որպես լցանյութ կիրառվել է 3-15 մմ մասնիկների տրամագծով գլաքարի և հրաբխային կարմիր խարամի 1:1 ծավալային հարաբերությամբ խառնուրդը: Բույսերը տնկարկվել են 0,16 մ<sup>2</sup> սնման մակերես ունեցող հիդրոպոնիկական վեգետացիոն անոթներում 12 բույս/մ<sup>2</sup> խտությամբ: Սնուցումը կատարվել է Դավթյանի 0,5 Ն սննդամուծույթով [6], որը բույսերին տրվել է տարբեր ռեժիմներով՝ օրական մեկ, երկու, երեք և երկու օրը մեկ անգամ: Լցանյութերի աղակալումից խուսափելու համար պարբերաբար (8-10 օրը մեկ անգամ) կատարվել են ելային ջրով լվացումներ (2-3 օր տևողությամբ): Գիտափորձերում ստուգիչ է հանդիսացել հողային մշակույթը, որտեղ պահպանվել են ընդունված ագրոտեխնիկական կանոնները (փխրեցում, մոլախոտերի մաքրում, պարարտացում և այլն): Վեգետացիայի ավարտին բույսերը ենթարկվել են նախնական մշակման. առանձնացվել են տերևները, ընձյուղները և ցողունները, կշռվել, մանրացվել և չորացվել օդափոխվող սենյակում՝ 20-30°C ջերմաստիճանի պայմաններում: Ստացված տվյալներն ենթարկվել են մաթեմատիկական մշակման GraphPad Prism 6 համակարգչային ծրագրով: Կատարվել են հետևյալ ֆիզիոլոգա-դեղաքիմիական վերլուծությունները. տերևներում ուսումնասիրվել են ջրային ռեժիմի ցուցանիշները՝ ըստ Գուսևի [5], ֆոտոսինթետիկ գունանյութերի (քլորոֆիլ, կարոտինոիդներ) պարունակությունը՝ ըստ Վետշտայնի [16], տերևներում և ընձյուղներում դաբաղանյութերի և էքստրակտիվ նյութերի պարունակությունը՝ ըստ Գրինկելի [14] և ՊԴ XI [4]:

**Արդյունքներ և քննարկում:** Հետազոտվող բույսի աճի առանձնահատկություններն ու արդյունավետության ցուցանիշներն անհող և հողային մշակույթի պայմաններում էականորեն տարբեր են, ինչն արդյունք է հիդրոպոնիկական մշակույթում բույսերի բուռն աճը, զարգացումը և արդյունավետությունն ապահովող մի շարք գործոնների առկայության:

Անհող մշակույթի պայմաններում ստացված բուսահումքը (վերգետնյա զանգված) թարմ և չոր քաշով գերազանցում է հողային մշակույթին համապատասխանաբար 3,7-5,1

և 3,1-4,5 անգամ: Միաժամանակ ակնհայտ է սնուցման հաճախականության օրական 2 անգամ տարբերակի առավելությունը 2 օրը 1 անգամի համեմատությամբ, որի դեպքում վերգետնյա զանգվածի թարմ և չոր քաշերը ավելացել են համապատասխանաբար, 1,4 և 1,5 անգամ (Աղ. 1, նկ. 2):

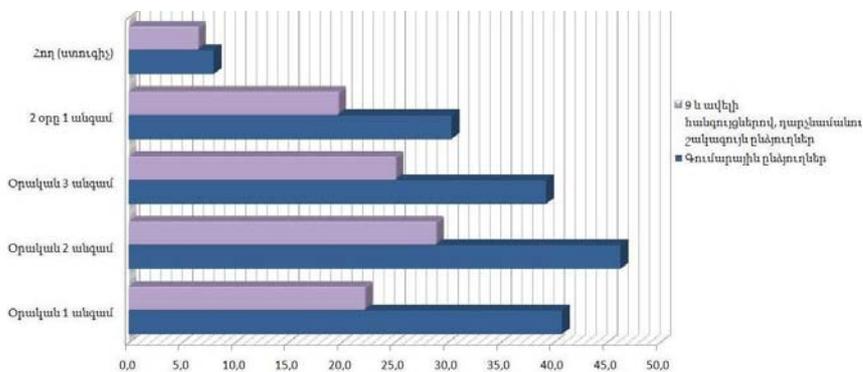


Նկ.1. *Callisia fragrans*-ը բացօթյա հիդրոպոնիկայի պայմաններում

Աղյուսակ 1. Սնուցման հաճախականության ազդեցությունը *Callisia fragrans*-ի արմատների, վերգետնյա թարմ և չոր զանգվածի վրա, գ/բույս

Սնուցման հաճախականություն	Արմատ		Տերև		Ցողուն		Ընձյուղ		Վերգետնյա զանգված	
	թարմ	չոր	թարմ	չոր	թարմ	չոր	թարմ	չոր	թարմ	չոր
Օրը 1 անգամ	25,3	2,0	721,3 <sup>a</sup>	42,7 <sup>ab</sup>	140,0	5,9	807,3 <sup>ab</sup>	40,8 <sup>ab</sup>	1668,5 <sup>ab</sup>	89,4 <sup>ab</sup>
Օրը 2 անգամ	27,5	2,7	824,8 <sup>a</sup>	49,9 <sup>a</sup>	141,7	6,2	925,8 <sup>a</sup>	46,3 <sup>a</sup>	1892,3 <sup>a</sup>	102,4 <sup>a</sup>
Օրը 3 անգամ	23,8	1,8	764,5 <sup>a</sup>	43,0 <sup>ab</sup>	136,3	5,9	816,3 <sup>ab</sup>	39,3 <sup>ab</sup>	1717,0 <sup>ab</sup>	88,1 <sup>ab</sup>
2 օրը 1 անգամ	24,0	1,7	624,3 <sup>a</sup>	34,8 <sup>b</sup>	115,0	4,8	634,0 <sup>b</sup>	30,4 <sup>b</sup>	1373,3 <sup>b</sup>	70,0 <sup>b</sup>
Հող (ստուգիչ)	11,4	1,4	176,8 <sup>b</sup>	12,5 <sup>c</sup>	48,6	2,5	143,0 <sup>c</sup>	8,0 <sup>c</sup>	368,4 <sup>c</sup>	22,9 <sup>c</sup>

<sup>abc</sup> Tukey's Multiple Comparison Test ( $P < 0.05$ )



Նկ. 2. *Callisia fragrans*-ի օդաչոր ընձյուղների բերքը անհող և հողային մշակույթի պայմաններում

Սնուցման հաճախականությունը ազդել է տերևներում ջրային ռեժիմի ցուցանիշների վրա: Ըստ բերված տվյալների, փորձի բոլոր տարբերակներում, հիմնականում, ընդհանուր ջրի պարունակության առումով էական տարբերություններ չեն գրանցվել: Մինչդեռ հիդրոպոնիկական բույսերը հողային բույսերի համեմատությամբ բոլոր դեպքերում պարունակում են ավելի շատ ազատ (3,7-26,5%-ով), քան կապված ջուր (8,2-31,3%-ով): Ընդ որում, սնուցման հաճախականության մեծացմանն զուգընթաց դիտվել է ջրի ավելի շարժուն ֆրակցիայի մեծացում, այն ժամանակ, երբ կապված ջրի դեպքում գրանցվել է

հակառակ օրինաչափություն: Մնուցման տարբեր հաճախականությունների դեպքում տերևներում ջրի ազատ և կապված ձևերի հարաբերության փոփոխությունները զուգակցվել են բջջահյութի օսմոտիկ ճնշման փոփոխությունների հետ: Գիտափորձերում սնուցման հաճախականության կրճատմանը զուգընթաց օսմոտիկ ճնշման արժեքները մեծացել են 1,3-1,6 անգամ: Տվյալները հիմք են տալիս ենթադրելու, որ բջջահյութի օսմոտիկ ճնշման բարձրացումն ունի իր ֆիզիոլոգա-կենսաքիմիական հիմքը, որն, ամենայն հավանականությամբ, արտահայտվում է օսմոտիկորեն ակտիվ միացությունների կուտակմամբ [9]: Մնուցման հաճախականությունը ազդեցություն չի ունեցել տերևներում ֆոտոսինթետիկ գունանյութերի սինթեզի վրա (աղ. 2):

**Աղյուսակ 2.** Մնուցման հաճախականության ազդեցությունը *Callisia fragrans*-ի ֆիզիոլոգա-կենսաքիմիական ցուցանիշների վրա

Ցուցանիշներ	Մնուցման հաճախականություն				
	Օրը 1 անգամ	Օրը 2 անգամ	Օրը 3 անգամ	2 օրը 1 անգամ	Հող (ստուգիչ)
Ընդհանուր ջրի պարունակությունը, %	93,7	94,2	95,6	92,3	93,4
Ազատ ջրի պարունակությունը, %	60,8	63,8	68,8	56,4	54,4
Կապված ջրի պարունակությունը, %	32,9	30,5	26,8	35,8	39,0
Ազատ ջուր/կապված ջուր	1,9	2,1	2,6	1,6	1,4
Բջջահյութի օսմոտիկ ճնշում, մթն.	1,8	1,6	1,4	2,3	2,7
Քլորոֆիլ (a), մգ%	21,2	20,4	23,8	24,7	22,7
Քլորոֆիլ (b), մգ%	9,3	9,2	10,7	10,9	10,1
Քլորոֆիլ (a+b), մգ%	30,5	29,6	34,5	35,6	32,8
Կարոտինոիդներ, մգ%	10,2	11,2	9,3	11,3	11,9

Դեղաքիմիական վերլուծությունների համար ընտրվել են դարչնամանուշակագույն երանգավորմամբ 9 և ավելի հանգույցներ ունեցող ընձյուղներ [10]: Դեղաքիմիական արժեքը բնութագրող ցուցանիշների վերլուծությունից պարզվել է, որ սնուցման հաճախականությունը էական ազդեցություն չի ունեցել բուսահումքի տերևներում դաբաղանյութերի պարունակության վրա: Մինչդեռ ընձյուղներում դաբաղանյութերի բարձր պարունակություն դիտվել է բույսերը օրական 1 անգամ սնուցելու դեպքում, որը գերազանցել է հիդրոպոնիկ մյուս տարբերակներին 1,2-1,7 անգամ: Տերևներում և ընձյուղներում դաբաղանյութերի ելով օրական մեկ, երկու և երեք անգամ սնուցված տարբերակները գերազանցել են երկու օրը մեկ անգամ սնուցված տարբերակին համապատասխանաբար 1,3 և 1,5-2,0 անգամ: Էքստրակտիվ նյութերի բարձր պարունակություն տերևներում գրանցվել է օրական երեք, իսկ ընձյուղներում՝ երկու անգամ բույսերը սնուցելու պայմաններում: Օրական երկու անգամ սնուցվող տարբերակում, ի հաշիվ կենսազանգվածի ավելացման, նշված միացությունների ելը 1 բույսի հաշվով մյուս տարբերակների համեմատությամբ ավելացել է տերևներում և ընձյուղներում համապատասխանաբար, 1,1-4,2 և 1,2-4,7 անգամ: Թեև վերոնշյալ կենսակտիվ նյութերի պարունակությամբ հողային մշակությունում աճեցված բույսերը չեն զիջել, իսկ որոշ դեպքերում նույնիսկ գերազանցել են հիդրոպոնիկ տարբերակներին, սակայն կենսազանգվածի ցածր արդյունավետության հաշվին ստուգիչ տարբերակում գրանցվել է էլի զգալի նվազում (աղ. 3):

**Աղյուսակ 3.** Մնուցման հաճախականության ազդեցությունը *Callisia fragrans*-ի տերևներում և ընձյուղներում, երկրորդային ծագման նյութերի պարունակության և էլի վրա

Մնուցման հաճախականություն	Էքստրակտիվ նյութեր				Դաբաղանյութեր			
	տերև		ընձյուղ		տերև		ընձյուղ	
	%	գ/բույս	%	գ/բույս	%	գ/բույս	%	գ/բույս
Օրը 1 անգամ	28,7	12,3	32,7	7,3	1,1	0,5	1,7	0,4
Օրը 2 անգամ	31,8	15,9	33,8	9,8	1,0	0,5	1,4	0,4
Օրը 3 անգամ	34,4	14,8	31,5	7,9	1,2	0,5	1,3	0,3
2 օրը 1 անգամ	30,5	10,6	28,7	5,7	1,2	0,4	1,0	0,2
Հող (ստուգիչ)	30,6	3,8	31,2	2,1	1,4	0,2	1,6	0,1

Այսպիսով, գիտափորձերի արդյունքների հիման վրա կարելի է հանգել հետևյալ եզրակացության. Արարատյան դաշտի բացօթյա հիդրոպոնիկայի պայմաններում բույսի վերգետնյա զանգվածի առավելագույն կուտակում է ապահովել Դավթյանի լուծույթով սնուցման օրական 2 անգամ հաճախականությունը: Վերջինս ապահովել է տերևներում և ընձյուղներում էքստրակտիվ նյութերի (1,1-4,2 և 1,2-4,7 անգամ) առավելագույն էլ:

Տերևներում և ընձյուղներում դաբադանյութերի ելով օրական մեկ, երկու և երեք անգամ սնուցված տարբերակները գերազանցել են երկու օրը մեկ անգամ սնուցված տարբերակին համապատասխանաբար 1,3 և 1,5-2,0 անգամ: Միաժամանակ սնուցման հաճախականության մեծացմանը զուգընթաց՝ դիտվել է ջրի ավելի շարժուն ֆրակցիայի մեծացում, այն ժամանակ, երբ կապված ջրի և օսմոտիկ ճնշման դեպքում գրանցվել է հակառակ օրինաչափություն:

*Աշխատանքը կատարվել է ՀՀ ԿԳՆ ԳՊԿ-ի կողմից տրամադրվող ֆինանսական աջակցության շնորհիվ՝ 13-IF063 գիտական թեմայի շրջանակներում:*

## ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Շարապետյան Ա.Ս. Callisia fragrans* (Lindl.) Woodson-ի անհող մշակույթ ներմուծման հնարավորությունը և արդյունավետությունը, Հայաստանի կենսաբանական հանդես, 66, 1, էջ 124-126, 2014:
2. *Մայրապետյան Ա.Խ., Թաղոսյան Ա.Հ., Ալեքսանյան Ջ.Ս., Ստեփանյան Բ.Թ., Բունիպետյան Ռ.Շ., Թովմասյան Ա.Հ.* Եռաբաժան կատվալեզվի անհող աճեցման հնարավորությունը, ֆիզիոլոգա-կենսաքիմիական և դեղաքիմիական առանձնահատկությունները, ՀՊԻ Հաղորդումներ, 30, էջ 7-14, 2005:
3. Большая энциклопедия. Лекарственные растения в народной медицине. М., с. 360-363, 2007.
4. Государственная фармакопея СССР, XI изд., вып. 2, М., Медицина, 1990, [www.fito.nnov.ru/pharmacopaea](http://www.fito.nnov.ru/pharmacopaea)
5. *Гусев Н.А.* Методы исследования водообмена растений. Казань, изд-во Казанского ун-та, с. 7-12, 1982.
6. *Давтян Г.С.* Гидропоника. В кн.: Справочная книга по химизации сельского хозяйства. М., Колос, с.382-385, 1980.
7. *Котуков Г.Н.* Культивируемые и дикорастущие растения (справочник), Киев: Наукова думка, с. 173, 1975.
8. *Лавренов В.К.* Современная энциклопедия лекарственных растений, М., с. 272, 2011.
9. *Майрапетян С.Х., Алексанян Дж.С.* Водный режим растений в условиях открытой гидропоники. Ереван, 168 с., 1991.
10. *Огарков В.* Все о золотом усе. М., ООО «АСС-Центр», 112 с., 2004.
11. *Оленников Д.Н., Зилфикаров И.И., Торопова А.А., Ибрагимов Т.А.* Химический состав сока каллизии душистой (*Callisia fragrans* Wood.) и его антиоксидантная активность (in vitro). Химия растительного сырья, 4, с. 95-100, 2008.
12. *Раднаева Д.Б.* Антигипоксическая активность сока из побегов *Callisia fragrans* L. Материалы научно-практической конференции «Состояние и перспективы развития специализированной медицинской помощи в условиях модернизации здравоохранения Республики Бурятия», Улан-Уде, с. 155, 2007.
13. *Фатыхова Д.Г., Хилинская Я.В., Карамова Н.С., Абдрахимова Й.Р., Ильинская О.Н.* Анти-мутагенные эффекты экстрактов лекарственных растений. Труды Томского государственного университета, 275, с. 325-326, 2010.
14. Химический анализ лекарственных растений (под ред. Гринкевича Н.И.), М., «Высшая школа», с.170-171, 1983.
15. *Mairapetyan S.Kh., Karapetyan A.S., Alexanyan J.S., Galstyan H.M., Stepanyan B.T.* The influence of different nutrient solutions on the productivity of *Callisia fragrans* in open-air hydroponic conditions. Biological Journal of Armenia, 66, 3, pp. 65-69, 2014.
16. *Wettstein D.* Chlorophyll lefle und der submicrobische formishce der Plastiden. Exp.Cell Research, 12, p. 427, 1957.

*Ստացվել է 20.02.2015*



Биолог. журн. Армении, 3 (67), 2015

## ПОЛУЧЕНИЕ ГРАНУЛИРОВАННОГО НИТРАГИНА НА ОСНОВЕ ПЕМЗЫ И ЕГО ЭФФЕКТИВНОСТЬ

И.Б. БАГДАСАРЯН

НПЦ “Армбиотехнология” НАН РА,  
armbiotech@gmail.com

Разработан способ получения гранулированного нитрагина клубеньковых бактерий гороха на основе пемзы.

Исследования в условиях вегетационных и полевых опытов показали, что полученные препараты нитрагина стимулируют рост растений и в среднем на 30% повышают их урожайность.

*Гранулированный нитрагин – клубеньковые бактерии – пемза – симбиоз*

Մշակվել է պեմզայի հիմքով ոլորի պալարաբակտերիաների գրանուլացված նիտրագինի ստացման եղանակ:

Հետազոտությունները վեգետացիոն և դաշտային փորձերի պայմաններում ցույց են տվել, որ ստացված նիտրագինի պատրաստուկները խթանում են բույսի աճը և միջինը 30%-ով բարձրացնում են նրանց բերքատվությունը:

*Հատիկավորված նիտրագին – պալարաբակտերիաներ – պեմզա – սիմբիոզ*

A method for producing granulated nitragin of nodule bacteria of pea based on pumice has been developed.

Studies of vegetation and field experiments showed that obtained nitragin preparations stimulated plants growth and 30% increased their yield.

*Granulated nitragin – nodule bacteria – pumice – symbiosis*

В последние годы проводятся исследования с целью повышения эффективности симбиоза азотфиксирующих микроорганизмов. Известен ряд способов получения бактериальных препаратов симбиотических азотфиксирующих микроорганизмов: сухой, торфяной, органо-минеральный и др. Однако указанные бактериальные препараты имеют ряд недостатков. При инокуляции семян бобовых культур этими препаратами не учтены влияние высокой температуры верхнего слоя почвы на бактериальную культуру, неравномерность перемешивания компонентов в объеме слоя, высокая конечная влажность продукта, ведущая к значительной гибели бактериальных клеток, что приводит к получению некачественного конечного продукта [4, 7, 9].

Учитывая сказанное, целью настоящих исследований являлась разработка способа получения нового эффективного гранулированного нитрагина клубеньковых бактерий на основе пемзы.

**Материал и методика.** В качестве носителя для получения гранулированного препарата на основании физико-механических свойств (пористость – 76,4%, водопоглощаемость – 66,0%) и химического состава была отобрана пемза. Пемза содержит вещества,

оказывающие существенное влияние на симбиотическую фиксацию азота, а также необходимые для роста растений – калий, магний, натрий, железо, кальций, марганец [3, 6].

Предварительно изучена микрофлора пемзы, заранее измельченной до размера частиц 3-3,5 мм.

С целью изучения микрофлоры нестерильной пемзы проводили рассев суспензии пемзы на различных питательных средах (Чапек, МПА, сусло-агар, МПБ+сусло агар, крахмал аммиачный, Эшби).

В результате проведенных исследований в нестерильной пемзе выявлено наличие разных видов грибов, актиномицетов, споровых и неспоровых микроорганизмов.

Чтобы исключить наличие посторонней микрофлоры, пемзу стерилизовали (в автоклаве 2 ати, 30 мин), с предварительным выдерживанием ее при температуре 37<sup>0</sup>С в течение 2-3 сут. Эта процедура повторялась до полного исчезновения посторонней микрофлоры. После стерилизации гранулированную стерильную пемзу инокулировали суспензией выделенных нами штаммов: *Rhizobium leguminosarum* (горох) штаммы 123, 144.

Титр клеток клубеньковых бактерий определяли чашечным методом Коха на бобовом агаре [5].

Эффективность и вирулентность гранулированного препарата изучалась в вегетационных опытах на растениях гороха, выращенных на стерильном песке в сосудах, обогащенных питательной средой Прянишникова. Препарат вносили в песок совместно с семенами растений.

Вирулентность определяли по интенсивности образования клубеньков на корнях растений, эффективность – по способности клубеньковых бактерий повышать урожайность бобовых культур. Выживаемость клеток клубеньковых бактерий в гранулах определяли методом последовательных разведений.

Исследования эффективности и вирулентности этого препарата проводились в период развития растений: 5-6- листьев, бутонизация и цветение, в течение 3-х лет, в трехкратной повторности.

**Результаты и обсуждение.** Через сутки после смешивания клубеньковых бактерий гороха (шт.123) с пемзой определяли титр клеток клубеньковых бактерий готового препарата.

Исследования выживаемости клеток клубеньковых бактерий в гранулах пемзы определяли в течение 4, 9, 34, 60 и 130 дней (табл.1).

**Таблица 1.** Выживаемость клеток клубеньковых бактерий гороха в разные сроки хранения

<i>Rh.leguminosarum</i> (горох) Штамм 123	Сроки хранения				
	через сутки	9 дней	34 дня	60 дней	130 дней
	Количество клеток на одну гранулу				
	5·10 <sup>6</sup>	5,67·10 <sup>6</sup>	7,3·10 <sup>5</sup>	2,7·10 <sup>5</sup>	8·10 <sup>4</sup>

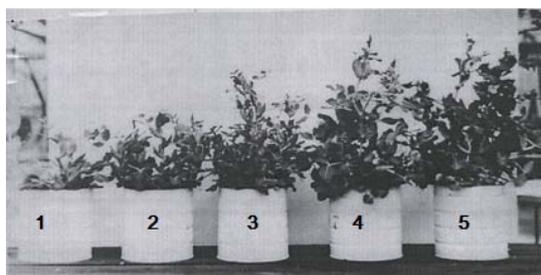
Сравнительные данные показали, что выживаемость клеток клубеньковых бактерий гороха с увеличением срока хранения снижается. Но, как показывают в дальнейшем результаты вегетационных и полевых опытов, клубеньковые бактерии, хранившиеся в пемзе, сохраняют свою вирулентность и азотфиксирующую активность.

В результате проведенных исследований вегетационных опытов (табл.2) выявлено, что обработка гранулированным нитрагином значительно повышает вирулентность бактерий и стимулирует рост растений, по сравнению с контролем без пемзы и с вариантом инокулированной чистой культурой.

**Таблица 2.** Эффективность и вирулентность гранулированного нитрагина с клубеньковыми бактериями гороха в зависимости от сроков хранения

Варианты опыта	Фазы развития растений								
	5-6 листьев			Бутонизация			Цветение		
	надземная часть	корни	клубеньки	надземная часть	корни	клубеньки	надземная часть	корни	клубеньки
<i>Rh. leguminosarum</i> (горох) Штамм 123									
Контроль-семена гороха без инокуляции	24	21	-	41.700	31.200	-	96	40	-
Контроль-неинокулированные семена со стерильной пемзой	27	24.5	-	54	44	-	126	46	-
Чистая культура – семена, инокулированные клуб. бакт. гороха	26.700	26	0,900	80	70	1.100	100	53	4.0
Семена + гранулы пемзы, инок. клубеньковыми бактериями гороха (4-х днев. хранения)	41.400	29.200	1.100	80	65	4.900	147	71	5.600
Семена + гранулы пемзы, инокул. клуб. бакт. гороха шт. 123 (34-х дневного хранения)	42.200	30.100	1.700	101	75	5.200	152	90	6.100
	вес в граммах								

Кроме того, надо заметить, что растения, инокулированные клубеньковыми бактериями гороха с гранулированной пемзой, имели крупные клубеньки и пышную зеленую массу (рис. 1-5)



**Рис.1.** Динамика роста растений гороха, инокулированных клубеньковыми бактериями с гранулированной пемзой

1. Контроль-семена без инокуляции,
2. Контроль-неинокулированные семена со стерильной пемзой,
3. Чистая культура,
4. 4-днев. хранения,
5. 34-днев. хранения.



Рис.2. Контроль-семена гороха без инокуляции



Рис.3. Чистая культура-семена, инокулированные клуб.бакт.гороха шт.123



Рис.4. Семена + гранулы пемзы инокулированные клуб.бакт.гороха шт.123 (4-днев.хранения)

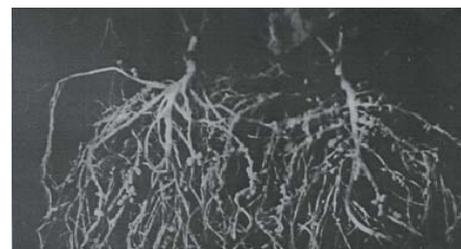


Рис.5. Семена + гранулы пемзы, инокулированные клуб. бакт.гороха шт.123(34-днев.хранения)

Вероятнее всего, это обусловлено тем, что сама пемза тоже способствует росту растений, благодаря своему химическому составу и поддержанию влаги.

Аналогичная закономерность результатов обнаружена со штаммом 144 клубеньковых бактерий гороха (табл. 3).

**Таблица 3.** Эффективность и вирулентность гранулированного нитрагина со штаммом 144 клубеньковых бактерий гороха (вегетационный опыт)

Варианты опыта	Фазы развития растений гороха					
	Бутонизация			Цветение		
	надземная часть	корни	увеличение надземной части, %	надземная часть	корни	увеличение надземной части, %
Контроль-семена без инокуляции	11,400	9	100	16	33,100	100
Контроль-неинокулированные семена со стерильной пемзой	12,500	10	109	16,800	34,300	106
Чистая культура семян, инокулированные шт. 144	14,300	14,700	125	19,500	36,500	121
Семена + гранулы пемзы, инокулированные шт. 144 (7-суточное хранение)	16,200	14,400	142	20,700	38,100	129
Семена + гранулы пемзы, инокулированные шт. 144 (60 - суточное хранение)	16,300	18,600	142	21	37,900	131
вес в граммах						

С целью практического применения гранулированного нитрагина на основе пемзы со шт. 123 клубеньковых бактерий гороха проведены также исследования в полевых условиях в период цветения растений гороха (табл.4)..

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в полевых условиях гранулированный нитрагин также значительно стимулирует рост растений по сравнению с вариантами чистой культуры и торфа.

**Таблица 4.** Эффективность и вирулентность гранулированного нитрагина со штаммом 123 клубеньковых бактерий гороха в полевом опыте

Варианты опыта	Надземная часть		Корни		Клубеньки	
	свежие	сухие	свежие	сухие	свежие	сухие
<i>Rh. leguminosarum</i> (горох) Штамм 123						
Контроль- семена без инокуляции	194	29.200	12	1.920	1.750	0.310
Контроль- неинокулированные семена со стерильной пемзой	231	37	16.500	2.600	1.850	0.340
Чистая культура – семена, инокулированные шт. 123 клубеньковых бактерий гороха	185	28	13	2.200	1.800	0.320
Семена + гранулы пемзы, инокулированные шт. 123 (4-х дневного хранения)	312	48	21	3.150	4.150	0.690
Торф – инокул. шт. 123 клуб. бактерий гороха	147	25	11,5	2.05	0.480	0.140
	вес в граммах					

Таким образом, на основании проведенных исследований получен высокоэффективный препарат нитрагина на основе пемзы с клубеньковыми бактериями гороха- штаммы 123 и 144. Предлагаемый препарат защищает клубеньковые бактерии от влияния некоторых внешних факторов, обеспечивает вирулентность и длительное хранение клубеньковых бактерий.

Эти препараты в полевых и вегетационных опытах увеличивают урожайность бобовых растений в среднем на 30%, что свидетельствует о перспективности применения его в практике сельского хозяйства.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Аветисова Г.Е., Саргсян А.О., Чахалян А.Х., Мелконян Л.О., Чил-Акопян Л.А., Геворкян Р.Г. “Азоцеовит – 1”- новое эффективное комплексное биоудобрение. Международная конференция, Цахкадзор, РА, 28 сентября – 02 октября с. 201, 2008.
2. Матавов П.Я., Миропольская И.М. Способ обработки почвы. Авторское свидетельство СССР. № 865158, кл.3 А 01, 1981.
3. Мишустин Е.Н., Шильникова В.К. Биологическая фиксация атмосферного азота. М., 1968.
4. Позднякова А.И., Хотянович А.В., Борисович В.А., Амстердамская Н.Ю., Зайцев А.В., Чиканова В.М. Способ получения инокулянта для семян бобовых культур. Авторское свидетельство СССР. № 922104, А 01Р 11/08, 1982.
5. “Руководство к практическим занятиям по микробиологии, под редакцией проф. Н.С.Егорова, М., с.137, 1983.
6. Сагателян К. Сборник по строительным материалам (в 4-х томах), 1987.
7. Тутова Э.Г., Куц П.С., Кабалдин Г.С., Богданов В.М., Войтович Г.И. Способ получения торфяного бактериального препарата. Авторское свидетельство СССР. № 477150, кл. С05Р 11/08, 1975.
8. Франсис Г. Субстрат для выращивания культур на основе металлургических шлаков. Франция. Заявка № 2480275, С 05 О 3/04, 1981.
9. Черемухин И.К., Чекакина Е.В., Корнгауз Е.А., Кудрин В.Л., Комарова В.Н., Хотянович А.В., Позднякова А.И., Амстердамская Н.Ю., Войтович Г.И. Способ получения торфяного бактериального удобрения. Авторское свидетельство СССР. № 592807, кл. С05Р 11/08, 1978.

Поступила 16.04.2013



•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ •Экспериментальные и теоретические статьи•  
•Experimental and theoretical articles•

Биолог. журн. Армении, 3 (67), 2015

## ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНОГО ПЛАСТОХИНОНА (SkQ1) НА АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ КЛЮЧЕВЫХ ФЕРМЕНТОВ КЛЕТОЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА

Л.Г. ПОГОСЯН, З.С. МКРТЧЯН, М.Г. ГАЗАРЯНЦ, А.С. МАРГАРЯН\*,  
Р.Б. БАДАЛЯН\*, А.А. СИМОНЯН\*, Ж.И. АКОПЯН

*Институт молекулярной биологии НАН РА  
\*Институт биохимии им. Г.Буниятына НАН РА  
lina-edu@mail.ru*

Показано, что в митохондриях сердца, мозга, печени и селезенки белых крыс, при эпилептиформных припадках, индуцированных пентилентетразолом (коразол), фактор антиоксидантного действия – производное пластохинона SkQ1, и совместное введение SkQ1 и коразола оказывают значительное влияние на активность креатинкиназы, пуриноклеозидфосфорилазы и аланинаминотрансферазы.

*Ферменты – SkQ1 – митохондрии – активность – эпилептиформные судороги*

Հետազոտության նախնական տվյալները ցույց են տվել, որ պենտիլենտետրազոլով (կորազոլ) ինդուկցված էպիլեպսիաների ընթացքում, հակաօքսիդանտային գործոն հանդիսացող պլաստոքինոնի ածանցյալ SkQ1-ի և կորազոլի համատեղ ներարկումը բերում է մի շարք օրգանների միտոքոնդրիոնների կրեատինկինազի և պուրինոկլեոզիդֆոսֆորիլազի ակտիվության մակարդակի զգալի տեղաշարժերի:

*Ֆերմենտներ – SkQ1 – միտոքոնդրիոններ – ակտիվություն – էպիլեպսիաներ*

The results showed that during the epileptiform convulsions in rats induced by pentylenetetrazole (corazolium) separately as well as together with the derivative of plastoquinone SkQ1, the significant changes in activities of some key metabolic enzymes were revealed.

*Enzymes – SkQ1 – mitochondria – activities – epileptiform convulsions*

В современных условиях, когда человеку постоянно приходится сталкиваться с негативным воздействием огромного количества агрессивных факторов внешней среды (экология, несбалансированное питание, постоянные стрессы и т.д.), риск развития оксидативного стресса крайне велик. Деятельность свободных радикалов способствует развитию более 100 различных заболеваний. Патологическое действие свободных радикалов связано, прежде всего, с их влиянием на клеточные

мембраны [9]. Активные формы кислорода (АФК), образующиеся в митохондриях, могут играть важную роль в процессах неопластической трансформации и канцерогенезе [1]. Поиск эффективных соединений – антиоксидантов, способных селективно регулировать продукцию АФК митохондриями, привел к необходимости разработки акад. В.П. Скулачевым и коллегами в Институте физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ нового типа антиоксидантов, названных SkQ. Они являются производными пластохинона, конъюгированного с липофильными катионами, что позволяет им свободно проникать через бислоиные липидные мембраны митохондрий [11]. Было показано, что соединения типа SkQ накапливаются в митохондриях клеток и защищают их от апоптоза и некроза, вызванных АФК [10].

Эпилепсия – одна из распространенных болезней нервной системы. Эта патология характеризуется стойкой склонностью к возникновению эпилептических припадков [2]. Проблема эпилепсии сложна и многогранна.

Исследовано действие SkQ1 на энергетические реакции в митохондриях белых крыс при экспериментальных припадках, индуцированных пентилентетразолом (ПТЗ или коразол). В работах [6-8] было показано, что введение животным SkQ1 в наномолярных концентрациях нивелирует выявленные отклонения активности  $Mg^{2+}$ - и  $Ca^{2+}$ -зависимых фосфогидролаз в митохондриях разных органов белых крыс и увеличивает выживаемость животных.

Литературные данные относительно влияния этих препаратов на исследуемые нами ферменты практически отсутствуют.

В представленной работе, в опытах *in vivo*, мы исследовали влияние антиоксидантного фактора SkQ1 на уровни активности креатинкиназы (КК), пуриннуклеозидфосфорилазы (ПНФ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) при эпилептиформных припадках, индуцированных пентилентетразолом (коразол): КК – важнейший фермент энергетического обмена клетки, отличающийся высокой чувствительностью к окислительному стрессу; ПНФ – важнейший фермент пуринового метаболизма, который служит прижизненным маркером заболеваний, связанных с иммунодефицитным состоянием организма; АЛТ – общепринятый маркер гепатотоксичности.

**Материал и методика.** Препарат SkQ1 был любезно предоставлен Центром митохондриологии МГУ.

Опыты проводили на 20-ти беспородных крысах-самцах массой 180-200 г, содержащихся в условиях вивария при естественном освещении и свободном доступе к воде и пище. Эпилептиформные припадки вызывались одноразовым введением ПТЗ внутримышечно из расчета 8 мг на 100 г массы животного. Подопытные животные были разделены по следующим группам:

- I. животным (контрольная группа) вводили 1мл физраствора;
- II. животным один раз в день, 2 дня подряд вводили SkQ1 (в расчете 37 нм SkQ1 в 1мл воды);
- III. животным вводили 8 мг ПТЗ на 100 г массы животного в 1мл воды;
- IV. животным вводили SkQ1 + ПТЗ.

Судорожное поведение наблюдалось в течение 20 мин после инъекции ПТЗ. Стадии судорог определяли по модифицированной шкале Racine [12].

Животных декапитировали после полного проявления генерализованных тонико-клонических судорог. После декапитации соответствующие ткани извлекали, промывали в охлажденном растворе 0.25 М сахарозы- 0.02 М трис-НСl буфера (рН 7.4).

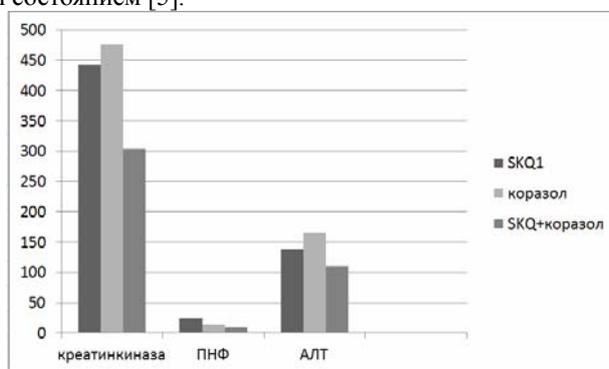
Измельченные ткани гомогенизировали в том же буфере, ядерную фракцию из гомогената различных тканей выделяли центрифугированием при 600-800 g, а митохондрии мозга – при 18000 g, сердца и селезенки – 12000 g, печени – 9000 g в течение 15 мин. Осадок митохондрий суспендировали в 0.25 М сахарозы – 0.02 М трис НСl буфере и повторно центрифугировали.

Активность КК определяли по накоплению креатина [3]; ПНФ – по накоплению гуанина [3]; АЛТ – на основе измерения убыли НАДН в сопряженных реакциях с лактатдегидрогеназой [4].

Построение гистограмм выполнено с помощью программы Microsoft Excel.

**Результаты и обсуждение.** Предварительные экспериментальные результаты указывают на определенные изменения активности исследуемых ферментов в сыворотке крови, в экстрактах и мембранах митохондрий мозга, сердца, печени и селезенки под воздействием SkQ1, коразола (при эпилептиформных судорогах), а также при совместном введении обоих соединений.

Известно, что ПНФ катализирует обратимую реакцию фосфоролиза пуриновых (дезоксир)ибонуклеотидов с образованием (d)Rib-1-P и соответствующих оснований, которые являются основным источником синтеза пуринов в клетке. ПНФ служит специфическим диагностическим тестом при ряде заболеваний, связанных с иммунодефицитным состоянием [5].



**Рис.1.** Изменения уровней активности КК, ПНФ, АЛТ в сыворотке крови крыс под воздействием SkQ1, коразола, SkQ1+коразол. Здесь, как и на следующих рисунках, данные контроля после обработки принимаются за 100%

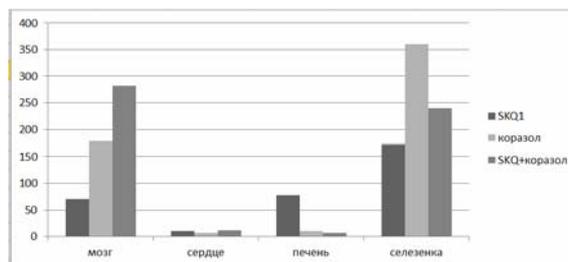
Из рис.1 следует, что активность ПНФ в сыворотке крови резко подавляется у животных, которым был введен только препарат SkQ1, а в 2-х других группах, где вводили только коразол и SkQ1+коразол, активность подавлена полностью. Поскольку наиболее высокая активность ПНФ наблюдается в эритроцитах и гепатоцитах печени и почках[5], можно предположить, что подавление активности ПНФ связано с тем, что мишенью действия SkQ1 и коразола являются форменные элементы крови.

Что касается КК, то как видно из рис.1, значительное повышение активности КК в сыворотке крови в группах животных с введением только SkQ1 или коразола, по сравнению с контролем, по-видимому, связано с повреждением клеточных мембран мозга, сердца, печени и селезенки, что приводит к выходу фермента в сыворотку крови. При смешанном же воздействии SkQ1+коразола происходит небольшое повышение активности фермента.

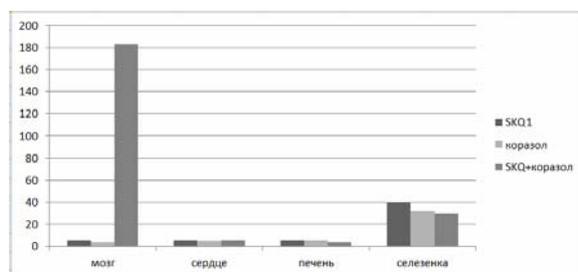
Далее, рассмотрим влияние SkQ1 и коразола на уровни активности исследуемых ферментов в экстрактах и мембранах митохондрий мозга, сердца, печени и селезенки белых крыс. Оценку действия исследуемых соединений проводили на основании сравнения уровня активности фермента в органах животных опытных групп по сравнению с контрольной (интактной) группой.

Изменения активности ПНФ в экстракте митохондрий, представленные на рис. 2, указывают на то, что в мозге и селезенке наблюдается резкое повышение уровня активности ПНФ в опытных группах. При этом пик активности фермента в

мозге приходится на группу с совместным действием SkQ1+коразол, а в селезенке – на группу с действием только коразола, но тем не менее в группе с совместным введением SkQ1+коразол активность ПНФ в селезенке, также как и в мозге, почти в три раза выше активности ПНФ интактной группы животных.



**Рис.2.** Динамика изменений активности ПНФ в экстракте митохондрий различных органов крыс



**Рис.3.** Динамика изменений активности ПНФ в мембранах митохондрий различных органов крыс

Особый интерес вызывает действие SkQ1 и коразола на печень, которая характеризуется достаточно высокой активностью ПНФ и резистентностью к различного рода воздействиям [4]. На рис. 2 и 3 наглядно видно ингибирующее действие SkQ1 и коразола на ПНФ-азную активность печеночной ткани как в экстракте, так и в мембранах митохондрий. В экстракте митохондрий активность ПНФ контрольной группы достаточно высока. Однако если в группе животных с введением только SkQ1 активность фермента значительно падает, а в других группах отсутствует, то в мембранах митохондрий активность ПНФ в контрольной группе, будучи изначально достаточно низкой, во всех остальных группах также отсутствует.

На рис. 4 показано, что в экстракте митохондрий мозга наблюдается выраженное (2.5 раза) повышение активности КК при смешанном воздействии SkQ1 и коразола, в то время как в мембранной фракции (рис.5) происходит понижение активности (1.5-2 раза). В экстракте митохондрий селезенки КК-активность отсутствует, а в мембранной фракции – наблюдается резкое, почти 3х-кратное повышение ее в группе SkQ1. Предполагается, что повышение активности может быть результатом диссоциации мембранно-связанной КК, приводящей к повышению активности фермента [4].

В сыворотке крови экспериментальных животных, а также в тканях исследуемых органов определялся уровень активности АЛТ, однако при воздействии препаратов SkQ1 и коразола каких-либо информативно достоверных изменений активности аминотрансфераз, являющихся биохимическими маркерами функционального состояния гепатоцитов, не наблюдалось.

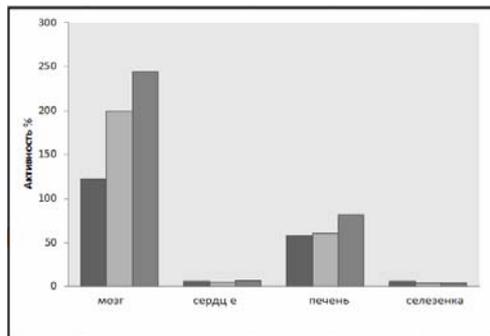


Рис.4. Динамика изменений активности КК в экстракте митохондрий различных органов крыс

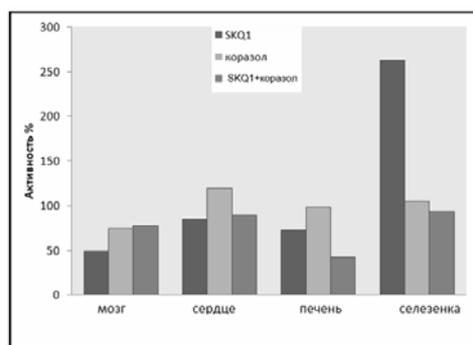


Рис.5. Динамика изменений активности КК в мембранах митохондрий различных органов крыс

Обобщая полученные результаты, можно заключить о некотором влиянии антиоксиданта SkQ1 в экстрактах и в мембранах митохондрий различных органов белых крыс на ферментную активность КК и ПНФ при эпилептиформных судорогах, вызванных коразолом.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Антоненко Ю.Н., Аветисян А.В., Бакеева Л.Е., Северина И.И., Симомян Р.А., Скулачев В.П. Производные пластохинона, адресованные в митохондрии, как средство, прерывающее программу старения. Биохимия. 73, 12, с.1589-1606, 2008.
2. Дзяк Л.А., Зенков Л.Р., Кириченко А.Г. Эпилепсия. К.: Книга-плюс, с.168, 2001.
3. Нерсесова Л.С., Газарянц М.Г., Мкртчян З.С., Погосян Л.Г., Акопян Ж.И. Влияние ионизирующей радиации на ферментные активности и состояние ядерно-ядрышкового аппарата гепатоцитов крыс. Радиационная биология. Радиоэкология. 53, 1, с.55-62, 2013.
4. Нерсесова Л.С., Газарянц М.Г., Мкртчян З.С., Погосян Л.Г., Акопян Ж.И. Действие низкоинтенсивного электромагнитного излучения с частотой 900 МГц на ферментные активности печени и сыворотки крови крыс. Радиационная биология. Радиоэкология. 54, 5, с.1-9, 2014.
5. Погосян Л.Г., Акопян Ж.И. Пуриннуклеозидфосфорилаза. Биомедицинская химия, 59, 5, с.483-497, 2013.
6. Симомян Л.А., Симомян А.А., Бадалян Р.Б., Карагезян К.Г. АТФ-фосфогидролазная активность в мозге крыс при эпилептиформных припадках, индуцированных коразолом. Биолог. журн. Армении, 56, 3-4, с.226-231, 2004.
7. Симомян А.А., Симомян Р.А., Маргарян А.С., Симомян Л.А., Бадалян Р.Б., Гуроглян М.М. Изменения активности  $Ca^{2+}$ -зависимой АТФ-фосфогидролазы и влияние антиоксиданта SkQ1 в митохондриях тканей белых крыс при экспериментальных эпилептиформных судорогах. Биолог. журн. Армении. Приложение 1, 66, с.78-82, 2014.

8. *Симонян А.А., Симонян Р.А., Маргарян А.С.* Изменение активности АТФ-фосфогидролазы в митохондриях органов белых крыс под влиянием фактора антиоксидантного действия SkQ1 при эпилептиформных припадках, индуцированных пентилентетразолом. Доклады НАН РА. *114*, 2, с. 136-142, 2014.
9. *Скулачев В.П.* Попытка биохимиков атаковать проблему старения: "Мегапроект" по проникающим ионам. Первые итоги и перспективы. *Биохимия*. 72, 12, с.1385-1396, 2007.
10. *Скулачев М.В. и др.* Митохондриально-ориентированные производные пластохинона. Влияние на старение и острые возрастные патологии. *Curr Drug Targets*. 12(6). С.800-826. 2011.
11. *Черкашина Д.В., Скулачев В.П.* Производное пластохинона SkQ1, адресованное в митохондрии, снижает ишемически-реперфузионные повреждения печени при гипотермическом хранении для трансплантации. *Биохимия*. 76, 19, с.1254-1263, 2011.
12. *Racine R.I.* Modification of seizure activity by electrical stimulation. Motor seizures. *Electroencephal.Clin.Neurophysiol*. 32. P.281-294. 1972.

*Поступила 24.06.2015*



•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ •*Экспериментальные и теоретические статьи*  
•*Experimental and theoretical articles*•

Биолог. журн. Армении, 3 (67), 2015

**ЛЕОН ЛЕОНЫАН.  
ВЫДАЮЩИЙСЯ ФИТОПАТОЛОГ И МИКОЛОГ  
(1888-1945)**

**Л.Л. ОСИПЯН**

*Ереванский госуниверситет, кафедра ботаники и микологии,  
losipyanyan@ysu.am*

В статье приведены биографические данные известного американского ученого Леона Леоняна, работавшего в области грибных болезней растений, физиологии грибов и селекции растений. Он один из первых экспериментально доказал большую морфологическую, физиологическую и биохимическую изменчивость грибов и ее причины, потребность грибов в ростовых веществах и способность самостоятельно синтезировать ауксиноподобные вещества, возникновение мутаций и миксохимер и причины этого явления. Леонян исследовал условия формирования органов размножения грибов, гетероталлизм их мицелия. Он основал школу физиологов грибов. Хорошо известны его классические труды по фузариозу и фитотрофу. Леонян предсказал возможность и перспективность культивирования одноклеточных водорослей. Он путем гибридизации вывел знаменитый сорт дельфиниума “Лайонден Гарден”.

*Грибы – болезни растений – физиология грибов – селекция растений*

Հողվածում բերված են կենսագրական տվյալներ ամերիկացի հայտնի գիտնական Լեոն Լեոնյանի մասին, ով աշխատում էր բույսերի սնկային հիվանդությունների, նրանց ֆիզիոլոգիայի, բույսերի սելեկցիայի բնագավառներում: Նա առաջիններից էր, ով փորձնականորեն ապացուցեց սնկերի մորֆոլոգիական, ֆիզիոլոգիական և կենսաքիմիական փոփոխությունները և դրանց պատճառները, աճման խթանիչների նկատմամբ սնկերի պահանջները, նրանց ընդունակությունը ինքնուրույն սինթեզել աուքսինանման նյութեր, սնկերի մուտացիաների և միքսոքիմերների առաջացումը և այդ երևույթի պատճառները: Լեոնյանը ուսումնասիրել է սնկերի բազմացման օրգանների առաջացման պայմանները, նրանց միցելիումի հետերոթայիզմը: Նա հիմնադրել է սնկերի ֆիզիոլոգների դպրոց: Լավ հայտնի են նրա դասական աշխատանքները ֆուզարիոզի և ֆիտոֆտորոզի վերաբերյալ: Լեոնյանը կանխատեսել է միաբջիջ ջրիմուռների արհեստական աճեցման հնարավորությունները և հեռանկարները: Նա հիբրիդիզացման միջոցով ստացել է դելֆինիումի «Լայոնդեն Գարդեն» հայտնի սորտը:

*Սնկեր – բույսերի հիվանդություններ – սնկերի ֆիզիոլոգիա – բույսերի սելեկցիա*

The article contains biographical information about the renowned American scientist Leon Leonyan, who worked on the fungal diseases of plants and physiology of fungi, as well as in the area of plant selection. He was one of the first who experimentally established the morphological, physiological and biochemical changes of fungi and their causes, the need of fungi for growth substances, their ability to synthesize auxin-like substances, the mutation of fungi and development of myxo-chimers, as well as the causes for these phenomena. Leonyan studied the conditions for the

development of reproductive organs in fungi and the heterothallism of their mycelium. He was first in the line of fungal physiologists. His classic works on Fusariosis and *Phytophthora* are well known.

Leonyan had predicted the potential and perspectives for the artificial cultivation of unicellular algae. He cultivated the famous “Lionden Garden” variety of *Delphinium* through hybridization.

*Fungi – diseases of plants – physiology of fungi – plant selection*

В этом году исполнилось 70 лет со дня смерти выдающегося американского ученого – фитопатолога и миколога Леона Леоняна, снискавшего международную известность, благодаря передовым для своего времени фундаментальным трудам в области теоретической микологии, физиологии грибов и фитопатологии.



Леон Леонян родился 27-го февраля 1888-го года в Ване (Западная Армения, Турция) в семье Хачика и Анны Леонян. Там же получил среднее образование, после чего совершил поездки по ряду стран (Россия, Египет, Греция) и в возрасте 20 лет добрался до США. Поработав несколько лет в Нью-Йорке и Детройте, он поступил в университет в Кентукки, где в 1916 году получил степень бакалавра, а через год в университете штата Мичиган – степень магистра. Затем он работал некоторое время ассистентом по исследованиям в области декоративного садоводства в Клемсонском колледже и ассистентом профессора ботаники и патологии растений колледжа и опытной станции в штате Нью-Мексико. Позже Леонян вернулся в Мичиганский университет, где продолжил работу по микологии под руководством известного профессора Калвина Кауффмана (Calvin Henry Kauffman). В 1922 году он получил ученую степень доктора философских наук и в том же году стал работать в университете Западной Вирджинии ассистентом фитопатологии в колледже сельского хозяйства и опытной станции. В 1936 году Леонян получил должность профессора микологии и миколога опытной станции.

Международная известность Леоняна связана с тремя научными направлениями – грибные болезни растений, физиология грибов и селекция растений. Начав научную деятельность фитопатологом, Леонян вскоре заявил о себе как один из первых исследователей грибных организмов – возбудителей опасных болезней растений. Его первые работы были посвящены изучению развития растительных патогенов, особенно ложной мучнистой росы, фузариальному увяданию, фитофторозу, а в дальнейшем и многих других грибных болезнях полезных растений. Эти исследования привели к признанию изменчивости грибов под воздействием среды обитания, которую Леонян рассматривал как совокупность факторов, регулирующих их жизненный цикл, рост и размножение. Леонян был одним из первых мико

логов, экспериментально доказавших большую изменчивость грибов. При этом он имел в виду не только изменчивость морфологических и культуральных признаков, но и патогенности грибов, их биохимических особенностей, пигментообразования, потребности в витаминах и способности их синтеза. Формирование общего облика колоний Леонян связывал с условиями питания гриба и технологией его выращивания. “Как показал Леонян – отмечали Лилли и Барнетт, – морфологические особенности строения вегетативного мицелия и спораносцев у многих видов рода *Phytophthora* определяются составом питательной среды. Образование мицелиальных форм на агаровых средах облегчает определение многих видов грибов, а в погруженных культурах при непрерывном перемешивании жидкой среды форма колоний грибов может быть изменена до неузнаваемости” [2].

Проведенные исследования подвели Леоняна к необходимости шире и глубже изучить физиологические процессы у грибов. Он придавал исключительное значение работе с живыми организмами, их росту, размножению и метаболизму [6]. Целью его исследований было выявить как можно больше потенциальных возможностей у изучаемых организмов. Работами Леоняна была доказана потребность многих грибов в ростовых веществах и их способность самостоятельно синтезировать ауксиноподобные вещества.

Весьма интересны работы Леоняна, посвященные формированию органов бесполого и полового размножения у грибов и условиям, способствующим их образованию. Эти вопросы были детально исследованы у возбудителя рака коры яблони – сумчатого гриба *Valsa leucostoma*, *Phytophthora coctorum*, у зигомиецетов и др.

Леонян много занимался исследованием гетероталлизма мицелия у грибов и одним из первых микологов наблюдал появление мутаций и миксохимер, выявляя причины их возникновения. Любое исследование он проводил на огромном материале, включающем сотни штаммов грибов из разных систематических групп, на большом наборе питательных сред, при разных показателях температуры, pH и других факторах [4].

Феноменальное трудолюбие Леоняна поражало его современников, тем более что эти работы проводились им лично и лишь в последние 8 лет жизни в них был вовлечен его ученик доктор В. Лилли, ставший в дальнейшем известным физиологом грибов. Впоследствии В. Лилли с Г. Барнеттом опубликовали фундаментальный труд “Физиология грибов”, который в английском издании с признательностью посвящался памяти Леона Леоняна [7]. В предисловии к русскому изданию книги профессор МГУ Л.И. Курсанов писал “Предлагаемая читателю в русском переводе монография по физиологии грибов американских авторов Лилли и Барнетта представляет собой сводку новейшей иностранной литературы в этой области, в которой авторы, принадлежащие школе недавно умершего крупного миколога-фитопатолога Леоняна, много работали лично” [2].

Многие труды Леоняна стали классическим примером исследований в микологии. К ним следует отнести фундаментальные работы по фузариозам, которым был посвящен почти весь 9-й номер 19-го тома авторитетного международного журнала “Phytopathology”, и серию работ по роду *Phytophthora*. Эти исследования легли в основу последующих работ многих микологов мира.

В 1923 году Леонян создал свой рецепт питательной среды для культивирования грибов порядка Sphaeropsidales и других систематических групп. Эта питательная среда была признана одной из общепринятых в экспериментальной микологии [3].

Научные интересы Леоняна отличались широтой охвата разнообразных вопросов. В годы второй мировой войны он исследовал грибы промышленного значения, в том числе дрожжевые грибы. Не будучи альгологом, он один из первых пред

сказал возможность и перспективность культивирования одноклеточных зеленых водорослей и изучил условия накопления сухого вещества у *Chlorella vulgaris* [1].

Будучи творчески одаренным ученым, Леонян многое сделал и для ботаники в области цветоводства, в выведении новых сортов цветов. Возможно, эта любовь к цветоводству зародилась у него в далекие годы детства под магическим воздействием изумительной природы родного края – Вана, а впоследствии стала реализовываться, когда после окончания университета он год работал ассистентом в области декоративного садоводства в Клемсонском колледже. Леонян занимался селекцией путем гибридизации дельфиниумов, дневной лилии и восточных маков. Созданный им сорт “Лайонден Гарден” заслуженно получил международное признание [6]. В 1935 году вышла его книга “Как выращивать дельфиниумы”. Блестящий оратор и селекционер он был очень популярен в обществах цветочных клубов и был избран спикером общества садоводов [5]. Многие годы Леонян издавал “Ежегодник дельфиниумов”.

Леонян был очень популярен среди студентов, он понимал их проблемы и активно помогал им. После смерти Леоняна в память о нем его друзьями и соратниками был учрежден фонд материальной поддержки студентов.

Находясь вдали от родины и родных (два брата и сестра жили в Армении), Леонян стремился быть полезным молодой Советской Армении и по мере возможности содействовал развитию там научных исследований. Уже в 20-ые годы, когда в Армении еще не было дипломированных специалистов микологов и фитопатологов, Леонян стал посылать в Ереванский университет уникальную, ценнейшую и для настоящего времени, специальную научную литературу, которая включала комплекты научных журналов по микологии, фитопатологии, ботанике, монографии по отдельным систематическим группам грибов Северной Америки и пятитомник С.А.А. Oudemans-a, в котором дана мировая сводка об описанных к тому времени грибах. Эти книги стали настольными для нескольких поколений микологов Армении.

Леон Леонян ушел из жизни в 1945 году в расцвете своих творческих сил и возможностей. Даже будучи тяжело больным, в течение последних полутора лет жизни он продолжал активно работать почти до своих последних дней. Его огромное научное наследие стало заметным вкладом в развитие научных основ микологии и фитопатологии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Бабаян А.А.* Леон Леонян (к двадцатилетию со дня смерти). Известия АН Армении, 18, 12, с. 110-114, 1965.
2. *Лилли В., Барнетт Г.* Физиология грибов. Перевод с английского, предисловие профессора Л.И. Курсанова. М., 532 с., 1953.
3. *Наумов Н.А.* Методы микологических и фитопатологических исследований. М.-Л., Сельхозгиз, 272 с., 1937.
4. *Фостер Г.* Химическая деятельность грибов. Перевод с английского. М., Ин. лит., 651 с., 1950.
5. *Orton C.R.* Leon Hatchig Leonian, 1988-1945. Science, 102, 2637, p. 25-26, 1945.
6. *Orton C.R.* Leon Hatchig Leonian, 1988-1945. Phytopathology, 36, 4, p. 1941-1944, 1946.
7. *V. Lilly, H. Barnett.* Physiology of the Fungi. NY, McGraw-Hill, 464 p., 1951.

Поступила 18.05.2015



•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ •Экспериментальные и теоретические статьи•  
•Experimental and theoretical articles•

Биолог. журн. Армении, 3 (67), 2015

## ОСНОВНЫЕ АДАПТИВНО ЗНАЧИМЫЕ ФАКТОРЫ ПРИРОДНОЙ И СОЦИАЛЬНОЙ СРЕДЫ У ДРЕВНЕГО НАСЕЛЕНИЯ БАССЕЙНА Р. ШНОХ (ЛОРИЙСКАЯ ОБЛАСТЬ, АРМЕНИЯ)

А. Ю. ХУДАВЕРДЯН<sup>1</sup>, А.А. ЕНГИБАРЯН<sup>2</sup>, С.Г. ОБОСЯН<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт археологии и этнографии НАН РА

<sup>2</sup>ЕрГМУ, кафедра медицинской биологии  
akhudaverdyan@mail.ru

Проведен комплексный анализ антропологических материалов эпохи поздней бронзы и раннего железного века. На территории Лорийской области бассейна р. Шнох почти 1500 га занимают десятки поселений, крепостей бронзового века и другие памятники. Рассматриваются результаты анализа основных прямых и косвенных воздействий окружающей среды на палеопопуляции. Для демографической характеристики использован перечень из 111 половозрастных определений. На краниологическом материале эпохи поздней бронзы и раннего железного века выявлен комплекс морфологических признаков, характерных для древнего населения, проживавшего на территории Лорийской области. В зубной системе максимально выражены элементы западного подтипа южного грацильного типа.

*Армения – демография – краниологические, одонтологические признаки – адаптация – стресс маркеры*

Կատարված է ուշ բրոնզե և վաղ երկաթե դարաշրջանների մարդաբանական նյութի համալիր ուսումնասիրություն: ՀՀ Լոռու մարզի Շնող գետի ավազանի շուրջ 1500 հա տարածքում կան տասնյակ դամբարանադաշտեր, բրոնզեդարյան ամրոցներ և այլ հուշարձաններ: Քննարկվում են հնագույն մարդկային խմբերի վրա միջավայրի տեղի ունեցած հիմնական ուղղակի և անուղղակի ազդեցության գործոնները: Ժողովրդագրական բնութագրման համար օգտագործվել են 111 սեռատարիքային հատկանիշներ: Ուշ բրոնզե և վաղ երկաթե դարաշրջանների գանգաբանական նյութերի վրա հայտնաբերված է ձևաբանական հատկանիշների մի համալիր, որը բնորոշում է Լոռու մարզի տարածքներում ապրող հնադարյան բնակչությանը: Ատամնային համակարգում առավելագույն կերպով արտահայտված են հարավային գրաջիլ տիպի արևմտյան ենթատիպի տարրերը:

*Հայաստան – ժողովրդագրություն – գանգաբանական, ատամնաբանական հատկանիշներ – հարմարվողականություն – սթրես մարկերներ*

A comprehensive analysis of anthropological material of the late Bronze and early Iron Age was carried out. There are tens of settlements, the fortresses of the Bronze Age on 1500 ha of territory in Lori region basin r. Shnogh. The analysis of some direct and indirect effects of the environment on the paleopopulations was discussed. The complex of morphological signs, characteristic for the ancient people, living in the territory of the Lori region was revealed on the base of the craniological data. The elements of the western subtype of the southern gracile type were expressed at most in the dental system.

*Armenia – demography – craniological, odontological featurey – adaptation – stress markers*

Изучение процессов адаптации в среде древних обитателей бассейна р. Шнох является одним из приоритетных направлений антропологии северо-восточных территорий нашей страны. Приспособления биологического и социального порядка в жизни популяций настолько тесно переплетены и взаимосвязаны, что невозможно изучать их обособленно. Под адаптацией понимают совокупность биосоциальных особенностей и свойств организма, обеспечивающих его устойчивое существование в определенной среде обитания. Приспособительные реакции человека на внешнесредовые воздействия могут осуществляться на уровне акклиматизаций, генетически определяемых нормой реакции и на уровне эволюционных адаптаций, обусловленных действием естественного отбора.

С точки зрения исследования фундаментальных закономерностей адаптации современного человеческого вида представляется важным выделить из всей группы факторов, оказывающих неблагоприятное воздействие на организм человека, наиболее значимые. Именно наиболее неблагоприятные природные факторы должны были лимитировать численность населения и вызывать наиболее яркие адаптивные реакции. Частью адаптации носителей культуры эпохи поздней бронзы и раннего железного века являлась экономика, ориентированная на земледелие и животноводство. Известно, что малоподвижные земледельческие группы отличались относительно плохим здоровьем по сравнению с населением, практиковавшим более подвижный образ жизни (т.е. охотой, собирательством) [14-16, 21, 25]. Для того чтобы оценить влияние культурной адаптации на биологию человека в период XIII-XI вв. до н.э., мы используем остеологические маркеры, указывающие на физиологический стресс, который мог проявляться у популяций, ведущих малоподвижный образ жизни. Моделируются результаты и причины физиологического стресса, возникающего под воздействием этих факторов [21, 22]. Удалось проанализировать три группы маркеров: кумулятивные и генерализованные (отражающие длительное воздействие стресса); маркеры эпизодического стресса (отражающие воздействие на определенном этапе развития организма, как правило, в детском возрасте) и группа маркеров, связанных с различными специфическими реакциями организма (отражающими то или иное заболевание) [21, 22, 32]. В качестве маркеров кумулятивного и генерализованного стресса используют дифференцированные по полу и возрасту показатели смертности. Смертность как кумулятивный показатель демонстрирует суммированное влияние длительного стресса на протяжении большого периода жизни индивида в популяции, в отличие от показателей эпизодического стресса, более точно и четко фиксирующих время появления и характер влияния стрессового фактора.

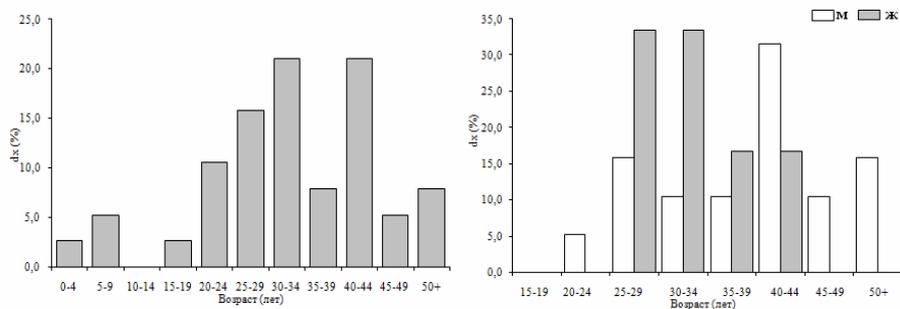
**Материал и методика.** Палеоэкологические исследования, результаты которых приведены в этой работе, выполнены на антропологических материалах некрополей эпохи поздней бронзы и раннего железного века. В работе использованы материалы из могильников: Бовер (n=40), Багери чала (n=32), Барцрял (n=39). Раскопки в могильниках проведены с 2006 по 2014гг. под руководством С.Г. Обосяна. В настоящее время раскопки могильников – Багери чала, Барцрял, Бовер – завершены, поэтому мы посчитали возможным провести обобщающее исследование. В могильниках в основном практиковались два типа захоронений – погребения по обряду труположения (мужчины на правом боку, женщины на левом) и выставление трупов. В некоторых погребениях с сосудами, фрагментами керамики и другими артефактами присутствуют зубы человека. В указанных погребениях полностью отсутствуют человеческие кости. Они составляют по нашим подсчетам, основанным на анализе 51 погребения из могильника Бовер – 29.42% (15 случаев), в некрополях Барцрял – 13.52% (5/37), Багери чала – 15.62% (5/32). Следует отметить, что подобные погребения об-

наружены и в синхронных могильниках с территории Лорийской области (Техут, Лори Берд).

Был проведен половозрастной анализ антропологических материалов. Развитие зубов было использовано для оценки возраста на день смерти для несовершеннолетних [30, 36]. Возраст на время смерти был установлен на основе износа зубов и закрытия черепных швов, принадлежащих взрослым индивидам [27, 29]. Пол индивидов был определен по черепу на основе морфологических признаков по следующим стандартным методам [см. 13, 37]. Пол молодых индивидов не был определен из-за отсутствия достаточно точного метода. Серии изучались по антропологическим [2, 5, 6] и патологическим [21, 22] методам исследования. Для выявления основных демографических характеристик использованы традиционные возрастные интервалы, которые применяются при составлении таблиц смертности в традиционных демографических исследованиях [11]. Для расчета использована программа "ACHERON", разработанная Д.П. Богатенковым в Институте археологии РАН.

### **Результаты и обсуждение.**

*1. Проблемы палеодемографии населения эпохи поздней бронзы и раннего железного века. Могильник Барцрjal.* Антропологический материал, полученный в процессе археологических раскопок, насчитывает 39 костяков. В серии были выявлены различия по половому соотношению: преобладают мужские скелеты, которые составляют 48.72%, женские – 15.39%, 7.7% составляют детские костяки, у 10 индивидов не определен пол, а у одного возраст. Работами российских и зарубежных антропологов установлено, что детская смертность в древних и традиционных обществах должна находиться в пределах 30–70%, причем уровень младенческой смертности высокий и находится в пределах 10–40% от общего числа новорожденных [7]. Если это так, то материал изученной серии ниже по демографическим параметрам стандартной популяции. Причем на первую возрастную группу – от рождения до 5 лет приходится 2.57% смертей по всей выборке. Анализируя суммарные характеристики возрастного распределения по группе, следует отметить три пика смертности: в возрастных когортах 25–29 лет, 30–39 лет и 40–44 лет (рис. 1).



**Рис. 1.** Процент индивидов в возрастных когортах.

Значительно повышается смертность мужчин в возрастном интервале 25–29 лет, большая часть мужчин умерли в возрасте – 40–44 лет. До финального возрастного интервала (45–55 лет) дожили всего 26.32 % мужчин. У женщин два пика смертности – 25–29 лет и 30–34 лет. Около 67% женщин умерли в репродуктивном возрасте 25–35 лет, остальные в возрасте старше 40 лет. В зрелом возрасте – 40–44 года смертность женщин ниже, чем у мужчин. Женщин старше 45 лет в могильнике не обнаружено. Для данного общества есть основания полагать, что к 25–29 годам у большинства фертильных женщин уже прошли первые, наиболее опасные роды. В таком случае объяснение преобладающей женской смертности родами в период 25–29 лет представляется не вполне обоснованным. К тому же доля жен

щин, умерших в возрасте 25-34 лет (*adultus*), также превышает таковую мужчин, что вполне объяснимо распространением специфических заболеваний в период родов и послеродового периода. Средняя продолжительность жизни у населения Барцрл (с учетом детской смертности) составила 33.0 года (без учета детской смертности – 35.4). Это довольно высокий показатель [3]. Мужчины данной палеопопуляции умирали в среднем в 39.6 лет, а женщины – 33.3 год. Средний возраст смерти мужчин выше, чем женщин.

*Могильник Багери чала.* Здесь мы имеем сведения о 32 индивидах. Мужчины и юноши составляют 43.75%, женщины – 28.13%, у троих пол не определен. Общий показатель детской смертности в группе составил 15.6%. Скелетов младенцев, умерших до 2-летнего возраста, в погребениях не обнаружено. Следует отметить, что аналогичная ситуация с синхронной группой из Ширакской равнины (Черная Крепость) [8]. Как известно, что до 3 лет костная система ребенка еще не полностью развита: скелет в основном состоит из хрящевой ткани и поэтому после распада мягких тканей и съедания их хищными птицами, останки собрать и хоронить было невозможно. Следовательно, наличие феномена малого числа детских скелетов можно связать с погребальной традицией выставления трупов.

По материалам могильника Багери чала можно сделать вывод, что на раннем этапе соотношение полов было в пользу женщин. Смертность молодых женщин в период 20–24 лет, т.е. в период повышенной частоты деторождений, была намного выше, чем у мужчин (рис. 2).

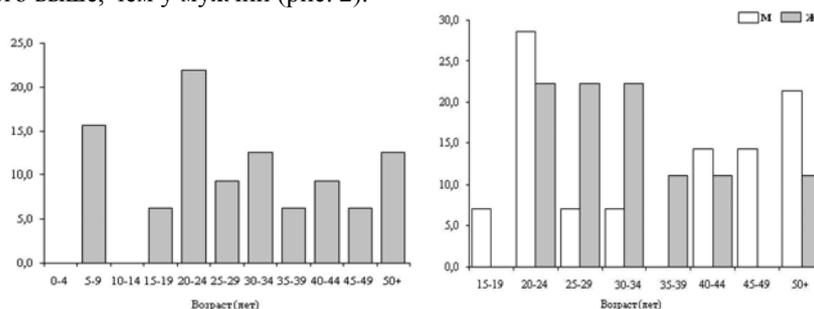


Рис. 2. Процент индивидов в возрастных когортах.

Показатель смертности у мужчин выше в период юности и молодости (15-24 лет). Многие исследователи связывают высокий показатель смерти в период юности и молодости со сложной военной обстановкой в обществе. В ходе любой войны наибольшие потери наблюдаются среди новобранцев, к которым для Багеричалайского социума можно отнести 15–24 – летнюю когорту. В возрасте же ветеранов, т.е. свыше 25 лет смертность воинов резко понижается. В зрелом возрасте – 35-54 года (*maturus*) и в старческом (*senilis*) смертность мужчин превышает таковую женщин. Средняя продолжительность жизни у населения (с учетом детской смертности) составила 29.7 года, без учета детской смертности – 33.8. Мужчины данной палеопопуляции умирали в среднем в 36.1 лет, а женщины – 33.1 год. Продолжительность жизненного цикла мужчин в изученной серии также оказывается больше, чем женщин, что свидетельствует о долгожительстве мужского контингента. Рассматривая смертность как генерализованный показатель благополучия, можно предположить, что мужчины меньше испытывали стрессовое воздействие. Известно, что социальная защищенность мужского контингента в патриархальных обществах играла немаловажную роль.

*Могильник Бовер.* Здесь мы имеем сведения о 40 индивидах. Мужчины составляют 47.5%, женщины 20%, у одиннадцати индивидов пол не определен. Об

ший показатель детской смертности в группе составил 5%. Скелетов младенцев, умерших до 2-летнего возраста, в погребениях не обнаружено.

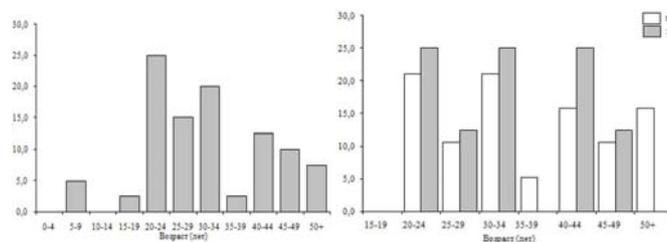


Рис. 3. Процент индивидов в возрастных когортах.

Смертность женщин в период 20–24 лет была намного выше, чем у мужчин (рис. 3), т.е. в период повышенной частоты деторождений. Показатель смертности высок и у мужчин в период молодости (20-24 лет). Средняя продолжительность жизни у населения (с учетом детской смертности) составила 32 года, без учета детской смертности – 33.3. Мужчины данной популяции умирали в среднем в 36.4 лет, а женщины – 33.8. Сравнивая продолжительность жизни мужского населения с синхронными мужскими группами из Багери чала (36.1 год) и Гонур Деде (36.67 года), обнаружили, что она практически одинакова [4]. По абсолютной величине продолжительности жизни население Барцрл, Бовер и Багери чала также близко к популяциями Юго-Западной (Иран, Ирак) [31] и Центральной Азии (Кара Деде и Геоксюр) [1].

#### 1. Краткий анализ этнических особенностей.

Усредненные данные по краниологическому типу населения Багери Чала, Барцрл и Бовер приведены в табл. 1.

Малочисленность материала и плохая сохранность сократила возможность полной характеристики морфологических особенностей черепов. Средние краниологические характеристики мужской части суммарной серии представляют ее как долихокранную с очень большим продольным, средним поперечным диаметрами черепной коробки. Высота черепа характеризуется ортокранией и акрокранией. Наименьшая ширина лобной кости и затылка – средняя. Верхняя ширина и высота лица большая, средняя ширина – средняя, уплощенность горизонтального профиля – очень малая. Орбиты характеризуются хамеконхным высотно-широтным указателем, ширина орбиты – средняя, высота – малая. Нос средневысокий и среднеширокий, нёбо узкое. Женская часть серии также долихокранная с очень большим продольным, малым поперечным диаметрами. Ширина лобной кости большая, затылка – средняя. Средняя ширина лица – большая. Орбиты характеризуются гипси-конхным высотно-широтным указателем. Нос высокий и широкий, нёбо узкое.

Особенности строения черепа могут быть генетически детерминированны (дискретно варьирующиеся признаки черепа), а могут быть следствием системных или инфекционных заболеваний. Прежде всего отметим собственно аномалии, природа происхождения которых не связана (или слабо связана) с болезнями и особенностями физиологического статуса индивида, а имеет генетическую обусловленность (табл.2).

У населения завышенные частоты шовных косточек в лямбдовидном, чешуйчатом швах, резцового и мендозного швов, отверстий в затылочно-сосцевидном шве, теменных, крылоостистых, подбородочных, скуло-лицевых, надглазничных, подглазничных отверстий, отростка затылочной кости (processus paramastoi

deus), прохождения канала суставного отростка в полость черепа (canalis condylaris), боковой ости и отсутствия задней стенки остистого отверстия (foramen spinosum inco.). Население характеризуется умеренными и низкими частотами встречаемости сквозного канала, проникающего в тело клиновидной кости в области ямки турецкого седла, канала подъязычного нерва, разделенного перегородкой (canalis hypoglossi bip.), парных бугорков, располагающихся у переднего края затылочного отверстия, вставной кости в области теменной вырезки, лобного отверстия и отростка височной чешуи, лобного шва, двухсоставного затылочного мышцелка, шовных косточек в венечном и сагитальном швах, смыкания краев челюстно-подъязычной борозды, добавочных мандибулярных отверстий, добавочных косточек неправильной формы в области лямбды и астериона.

**Таблица 1.** Средние размеры и указатели черепов из могильников Багери чала, Барцрл, Бовер

	Признак	♂			♀		
		n	x	s	n	x	s
1	Продольный диаметр	7	192.22	5.9	2	186.75	-
8	Поперечный диаметр	7	139.36	4.8	2	132.0	-
17	Высотный диаметр	2	139.5	-	-	-	-
5	Длина основания черепа	3	104.0	6.2	-	-	-
9	Наименьшая ширина лба	8	98.02	5.4	2	99.75	-
10	Наибольшая ширина лба	6	121.67	3.7	2	119.0	-
11	Биаурикуляр. ширина	4	122.75	7.0	-	-	-
12	Ширина затылка	8	111.5	5.9	1	103.5	-
48	Верхняя высота лица	3	74.94	4.9	-	-	-
43	Верхняя ширина лица	5	107.54	5.7	-	-	-
46	Средняя ширина лица	2	97.0	-	2	97.5	-
60	Длина альвеол. дуги	6	57.92	4.0	2	55.75	-
61	Ширина альвеол. дуги	7	62.99	5.6	2	60.0	-
62	Длина неба	4	51.75	5.6	1	41.0	-
63	Ширина неба	7	31.6	5.5	2	29.5	-
55	Высота носа	3	52.84	4.4	1	51.0	-
54	Ширина носа	4	26.0	2.3	2	26.5	-
51	Ширина орбиты mf	5	41.1	2.1	1	41.0	-
51a	Ширина орбиты d	5	38.3	1.4	1	36.5	-
52	Высота орбиты	5	31.16	1.3	1	36.0	-
	Бималляр. шир. fmo-fmo	4	99.08	5.3	-	-	-
	Высота наз. fmo-fmo	4	19.25	2.2	-	-	-
SC	Симотическая (57) ширина	2	8.75	-	-	-	-
SS	Симотическая высота	2	4.25	-	-	-	-
MC	Максиллофронтальная (50) ширина	2	20.85	-	-	-	-
MS	Максиллофронтальная высота	2	17.9	-	-	-	-
DC	Дакриальная (49a) ширина	2	25.85	-	-	-	-
DS	Дакриальная высота	2	12.75	-	-	-	-
29	Лобная хорда	9	116.26	7.4	3	116.34	3.5
30	Теменная хорда	7	120.93	7.2	2	113.5	-
31	Затылочная хорда	6	101.44	3.4	1	110.0	-
77	Назомолярный угол	4	134.5	3.0	-	-	-
8:1	Черепной указатель	6	73.41	3.3	2	70.33	-
17:1	Выс.-прод. указатель	2	72.17	-	-	-	-
17:8	Выс.-поп. указатель	2	98.73	-	-	-	-
9:8	Лобно-поп. указатель	6	69.57	2.7	1	76.32	-
52:51	Орбитный указатель	5	75.98	4.6	1	87.81	-
54:55	Носовой указатель	3	47.94	1.2	-	-	-
63:62	Небный указатель	4	63.87	8.2	1	75.61	-

**Таблица 2.** Частоты краниоскопических признаков у индивидов из могильников Барцрjal; Багери чала, Бовер

Признаки	%
Sutura frontalis	10.26 (4/39)
Foramina supraorbitalia	30.31 (10/33)
Foramina frontalia	20.0 (7/35)
Spina trochlearis	36.37 (8/22)
Foramina infraorbitalia	20.0 (3/15)
Foramina zygomaticofacialia	60.0 (18/30)
Spina processus frontalis ossis zugomatici	
прямой	9
выступ	12
отросток	4
Stenocrotaphia	
Н-обр.	3
К-обр.	1
Х-обр.	7
Processus frontalis squamae temporalis	36.37 (4/11)
Processus temporalis ossis frontalis	38.47 (5/13)
Os Wormii suturae squamosum	61.91 (26/42)
Os postsquamosum	29.63 (8/27)
Os Wormii suturae coronalis	10.87 (5/46)
Os Wormii suturae sagittalis	6.07 (2/33)
Foramina parietalia	48.58 (17/35)
Os apicis lambdae	2.86 (1/35)
Os Wormii suturae lambdoidea	69.82 (37/53)
Sutura mendosa	20.84 (5/24)
Os asterion	33.34 (8/24)
Foramina mastoidea	
на шве	66.67 (20/30)
вне шва	63.64 (21/33)
Sutura palatina transversa	
прямой	3
выпуклый	
вогнутый	3
извилистый	
П-образный	6
Sutura incisiva	73.92 (17/23)
Foramen pterygospinosum	57.15 (4/7)
Canalis craniopharyngeus	50.0 (3/6)
Отсутствие foramina spinosum	45.46 (10/22)
Canalis hypoglossi bip.	22.23 (2/9)
Processus paramastoideus	42.86 (3/7)
Tuberculum praecondylare	37.5 (3/8)
Canalis condyloideus	50.0 (5/10)
Foramina mentalia	75.0 (9/12)
Sulcus mylohyoideus	6.67 (2/30)
Foramina mandibularia	11.43 (4/35)

У погребенных отсутствуют следующие дискретно варьирующие признаки: os zygomaticum bipartitum tripartitum, os epiptericum, os parietale bipartitum, os bregmaticum, os Incae completes, os triquetrum, os quadratum, os interparietale s. sagittalis, proprocessus interparietalis, os wormii sut. occipitomastoideum, manifestatio vertebrae occipitalis.

Одонтологический комплекс, свойственный индивидам из могильников Барцрjal, Багери чала и Бовер, характеризует их как представителей «западного»

одонтологического ствола. Диастема между верхними медиальными резцами выявлена у 3 индивидов (n=7). Общая частота встречаемости краудинга в суммарной серии повышенная (30.77%: 4/13). Редукция верхнего латерального резца (балл 1) обнаружена у 57.9% субъектов (22/38). Исследования лингвальной поверхности верхних резцов позволяют констатировать, что лопатообразные формы этих зубов для суммарной группы довольно часты, составляют на медиальных резцах 15 (n=43, 34.89%) случаев. На латеральных резцах эти формы зафиксированы у 23 индивидов (n=48, 47.92%). Редукция гипоконуса на вторых верхних молярах выявлена у 66.67% субъектов (40/60). Весьма низкая частота фиксации бугорка Карабелли (14.29%: 10/70) и повышенная – восточная или лирообразная третья форма первой борозды эоконуса (20.84%: 10/48). Шестибугорковые формы на нижних молярах встречаются у одного индивида (1.43%, n=70), пятибугорковые формы характеризуются высокими частотами распространенности (68.58%, 48/70). Межбугорковые борозды на первом нижнем моляре фиксируют высокую частоту “У” (40/62) и “Х” (13/62) типы узора. Четырехбугорковые формы вторых нижних моляров выявлены у 51 субъекта (87.94%, n=58), чаще встречаются “У” (27/56) и “+” (15/32) типы узоров. Четырехбугорковые формы третьих нижних моляров обнаружены у 19 субъектов (50%, n=38). У населения характерны высокие частоты встречаемости дистального гребня тригониды (30.65%: 19/62), коленчатой складки метакониды (43.55%) и II западного варианта второй борозды метакониды (41.94%). Встречаемость внутреннего среднего дополнительного бугорка на первом нижнем моляре небольшая (14.52%). Следует указать и на наличие некоторых архаических черт у населения. Выявлен некоторый сдвиг в сторону лабидодонтной формы прикуса (20 индивидов) и высокая частота лопатообразных верхних резцов. Этого будет достаточно, чтобы установить общий налет архаизма в строении зубной системы у населения. В масштабе западного одонтологического ствола популяция характеризуется ярко выраженным комплексом особенностей, который, бесспорно, придает их одонтологическому типу своеобразие, выделяя их из среды типичных представителей южного грацильного типа (южных европеоидов). Первое, что мы можем констатировать у населения – это преобладание в одонтологическом типе особенностей западного характера при очевидном наличии маркеров восточного комплекса: повышенный процент дистального гребня тригониды, коленчатой складки метакониды, формы первой борозды эоконуса.

2. *Средовая адаптация и характер отдельных заболеваний Cribra orbitalia* (изменения костной ткани на внутренней поверхности орбит) в большинстве случаев ассоциируется с железodefицитной анемией [33]. Но этиология возникновения поротического гиперостоза орбит множественна. Физиологический статус, половые и возрастные особенности также являются важным фактором в возникновении железodefицитных нарушений [21]. Возникновение анемии происходит, если уровень железа уменьшается, чему могут способствовать следующие факторы: неправильная диета, затруднения организма, связанные с усвоением и переработкой пищи, окружающая среда и образ жизни. Нехватка железа в организме также может быть связана с паразитарными инвазиями и развитием неспецифических инфекций [26]. Регистрация этого признака на останках взрослых людей свидетельствует о перенесенных в детском возрасте заболеваниях.

**Могильник Барцрал.** Пригодными не оказались детские и женские черепа для определения *cribra orbitalia*. Из 7 мужских черепов признак выявлен у четырех (57.15%). У трех индивидов фиксируется слабое развитие признака (балл 1), балл 2 определен в четырех случаях.

**Могильник Багери чала.** Для определения *cribra orbitalia* пригодными оказались 18 черепов. Из этого числа в той или иной степени развития признак зафиксирован в 15 случаях, что составляет около 83.34%. Это значение следует отнести к разряду очень высоких. Из 12 мужских черепов признак отмечен у десяти (около

75%), из шести женских у пяти (83.34%). У шести индивидов фиксируется слабое *stigma orbitalia* (балл 1), балл 2 определен в пяти случаях, балл 3 – в четырех.

**Могильник Бовер.** Для определения признака в серии пригодными оказались 11 черепов. Пригодными не оказались детские черепа для определения *stigma orbitalia*. Из 11 черепов маркер зафиксирован 7 раз, что составляет около 63.64%. И это значение следует отнести к разряду высоких. Из 7 мужских черепов признак отмечен у четырех (около 57%), из четырех женских – у троих (75%). У четырех индивидов фиксируется слабое развитие признака (балл 1), балл 2 определен в трех случаях.

*Гипоплазия эмали* является одним из самых эффективных показателей физиологического стресса. Дефекты на зубах образуются на ранней стадии развития эмали, начиная с младенчества до позднего детства, и приводят к недостаточному производству эмали из-за нарушения формирования эмалиных клеток, так называемых амелобластов [18]. Предполагается, что значительное число случаев поврежденной эмали отражают физиологический стресс, причиненный недоеданием, инфекциями, или кумулятивным воздействием обеих причин [20]. Гипоплазия эмали как неспецифический фактор стресса, является хорошим индикатором для прослеживания общего биологического физического состояния доисторических обществ.

**Могильник Барцрал.** Для определения этого маркера в серии пригодными оказались 33 черепа. Из шестнадцати погребенных мужчин линейная эмалевая гипоплазия обнаружена у 7 (43.75%), из 6 женщин – у 5 (83.34%), из 9 взрослых индивидов, у которых пол не был определен, признак фиксируется у 4 (44.45%). Чаще признак отмечен на резцах, клыках и премолярах.

**Могильник Багери чала.** Численность выборки для оценки этого маркера равна 30. Из двух подростков сформированными коренными зубами признак фиксируется у одного, из 14 захороненных здесь мужчин маркер был у 11 (78.58%), из 8 женщин – у 5 (62.5%), из троих взрослых индивидов, у которых пол не был определен, признак обнаружен у одного. Чаще признак фиксируется на клыках и премолярах.

**Могильник Бовер.** Для определения гипоплазии эмали в серии пригодными оказались 38 черепов. Из 18 захороненных здесь мужчин маркер был у 16 (88.89%), из 7 женщин – у 6 (85.72%), из 13 взрослых индивидов, у которых пол не был определен, признак фиксируется у 10. Чаще признак выявлен на клыках и премолярах. Наличие у 32 индивидов (84.22%), как правило, нерезко выраженной линейной эмалевой гипоплазии, отражающей воздействие частого, но не сильного физиологического стресса, было обусловлено сезонными колебаниями в поступлении пищевых ресурсов.

*Следы холодового стресса.* При охлаждении отдельных участков тела происходит расширение периферических кровеносных сосудов. Поражение (типа *stigma*) области наружных слуховых проходов представляет собой результат адаптации организма к ветреным условиям. Обнаружена корреляция между поражениями *stigma* в области наружных слуховых проходов и оссеофитными образованиями (экзостозы) в ушных каналах. Экзостозы представляют собой опухоли остеобластического происхождения в виде бесформенных масс. Появление экзостозов связывается с напряжением надкостницы и формированием нового костеобразования под действием холодной воды, способствующей сужению кровеносных сосудов в ушном канале. Данный феномен, видимо, объясняется специальным родом деятельности людей, проживавших на территории Лорийской области Армении, которая была связана с постоянным пребыванием на холодном воздухе.

**Могильник Барцрjal.** В серии пригодными для оценки следов *сгiбра* в области наружных слуховых проходов оказались 11 черепов. Признак зафиксирован на 8 (72.73%) черепах – это высокий показатель. Максимальная частота встречаемости отмечена у взрослых индивидов (6 мужских и на одном женском черепе). Признак фиксируется у одного ребенка. В ушных каналах у 6 индивидов (из 11) отмечается наличие оссеофитных образований.

**Могильник Багери чала.** Для определения этого маркера в серии пригодными оказались 20 черепов. Признак зафиксирован на 17 черепах (85%, 10 мужских, 6 женских и 1 детском черепе) – это очень высокий показатель. Экзостозы в ушных каналах зафиксированы у 15 индивидов.

**Могильник Бoвер.** В серии пригодными для оценки следов *сгiбра* в области наружных слуховых проходов оказались 12 черепов. Признак зафиксирован у 11 индивидов (91.67%) – это очень высокий показатель. Изменчивость маркера в различных группах взрослых мужчин и женщин позволил обнаружить увеличение данного показателя от 20 до 29 лет и после 40 лет. На детских черепах следы криогенного стресса не фиксируются. В ушных каналах у 10 индивидов отмечается наличие оссеофитных образований.

Частое переохлаждение организма приводило к различным инфекционным заболеваниям. Косвенным доказательством этого могут быть случаи мастоидита в изученных популяциях. Воспаление ячеек сосцевидного отростка чаще является осложнением острого гнойного воспаления среднего уха. Мастоидит может возникнуть в результате травмы или при сепсисе, вызывается микроорганизмами – стафилококками, стрептококками, вирусами и грибами. Острое гнойное воспаление среднего уха обнаружено у четырех мужчин из могильника Барцрjal, у девяти индивидов (4 мужчин, 3 женщин, 2 детей) из Багери чала и у 3 (2 мужчин, 1 женщины) – в могильнике Бoвер. На развитие заболевания оказывали влияние различные неблагоприятные факторы (в частности, криогенный стресс), воздействующие на организм, и ослабление общей реактивности организма.

Тесный контакт древних жителей Лорийской области с домашними животными вполне мог привести к распространению новых возбудителей зоонозных болезней и инфекций, включая ленточных червей, вирусов бешенства и микобактерий туберкулеза [12]. У двух мужчин 40-50 лет из могильника Багери чала туберкулезные поражения локализованы на груди [9] и в телах позвонков (туберкулезный спондилит). Туберкулез костей возникает гематогенным метастатическим путем в результате переноса микобактерий туберкулеза из первичного комплекса (т.е. первичного очага), расположенного в легком или в каком-нибудь другом органе, или же, наиболее часто, – из лимфатических узлов. Туберкулезный спондилит – наиболее тяжелое специфическое заболевание скелета. Оно может явиться результатом инфицирования не только микробациллой типа *humanus*, но и палочкой бычьего туберкулеза.

В 3 случаях (у одного индивида из Багери чала и двух – из Бoвер) следы воспалительного процесса можно охарактеризовать как следствие неспецифических инфекций (периостит). По мнению ряда исследователей [28], их возбудителями чаще всего являются стафилококки и стрептококки. В исследуемых нами случаях наблюдается поражение надкостницы на плечевой кости, бедренных и больших берцовых костях. У одного индивида периостит обнаружен на нижней челюсти (Багери чала, женщина 30-39 лет). В двух случаях поражения костей черепа указывают на наличие у этих индивидов специфической инфекции, скорее всего сифилиса (Бoвер: пог. 32, мужчина 20-29 лет; Барцрjal: пог. 37, мужчина 30-39 лет).

Существенными индикаторами состояния здоровья палеопопуляции в антропологических исследованиях являются различные заболевания зубочелюстной

системы. Ряд заболеваний в той или иной мере провоцируется пищевыми стрессами. К числу негативных факторов мы относим недостаточное, малокалорийное питание, периоды голодания, нехватку тех или иных элементов в рационе и пр. В качестве одного из прямых маркеров пищевого стресса следует считать проявление *кариеса* в палеопопуляциях. Пища, богатая протеинами (белками) и жирами, ассоциируется с низкой частотой кариеса. Клинические данные связывают высокую частоту кариеса с потреблением большого количества углеводов (углеводов) [17]. Выявлено, что бактерии, обитающие в зубном налете, расщепляют углеводы, в результате чего образуется молочная кислота, повреждающая поверхность зуба. В мировом масштабе увеличение частоты кариеса в определенной мере коррелирует с развитием земледелия [35]. Помимо культивируемых злаков высоким кариогенным потенциалом обладают дикие растения, имеющие богатые крахмалом клубни и корни [34]. Другим показателем пищевого стресса является наличие *зубного камня*. Отложение зубного камня зависит от pH слюны и усиливается при высоком уровне потребления белков, вследствие увеличения во всех тканевых жидкостях концентрации мочевины [19], а также от абразивных свойств пищи, которые варьируют в очень широком диапазоне в зависимости от способов обработки и приготовления. При использовании зернотерок в пищу попадает большое количество мельчайших абразивных веществ, которые обеспечивают естественное очищение зубов от бактериального налета. Пища, приготовленная из цельных зерен или злаков, такими свойствами не обладает. *Альвеолярные абсцессы* могут быть спровоцированы пародонтитом, травмами и некрозом пульпы. *Челюстные экзостозы* имеют сложную этиологию и определяются генетическими и средовыми факторами. У генетически предрасположенных индивидов челюстные экзостозы появляются лишь тогда, когда средовой стресс достигает определенного уровня. К средовым факторам, активирующим рост челюстных экзостозов, относят жевательную гиперфункцию.

**Могильник Барцрл.** Из 31 взрослого индивида кариозные полости имели 7 мужских черепов и 2 женских (29.04%). Зубной камень зафиксирован у одного индивида (пог. 29: 17-18 лет) (3.23%), альвеолярный абсцесс обнаружен у мужчины 40-49 лет (пог. 79) на правой стороне верхней челюсти в области М<sup>2</sup>. Челюстные экзостозы выявлены на 33.4% мужских черепах (балл 1 на двух челюстях, балл 2 на 1). Лингвальные экзостозы верхней челюсти (*torus palatinus*) обнаружены на 20% мужских (балл 1 на 4 челюстях) черепах, в женской выборке признак фиксируется один раз (балл 2). У мужчин оценивается как довольно слабое развитие признака (балл 1).

**Могильник Багери чала.** Из 25 взрослых субъектов кариозные полости имели два мужских черепа и четыре женских (24%). У ребенка 6-7 лет (пог. 30) на первом молочном моляре также выявлен кариес. Минерализованные отложения светло-желтого или серого цвета достигают 40%. На детских зубах признак не фиксируется. Из двух подростков у одного обнаружен зубной камень, из 15 мужчин маркер был у 7 (46,67%), из 8 женщин – у 2 (25%), из троих взрослых индивидов, у которых пол не был определен, признак фиксируется у одного. Признак чаще фиксируется на резцах, премолярах и молярах. Следы одонтогенного остеомиелита (альвеолярный абсцесс) независимо от половой принадлежности имеются на 4 черепах (у 1 мужчины и 3 женщин). Наиболее часто заболевание связано с медиальными резцами, клыками и премолярами. Лингвальные экзостозы нижней челюсти визуально регистрируются на 50% мужских (балл 1 на 4 челюстях) и 83.34% женских (балл 1 на 3, балл 2 на 2 челюстях) черепах. Признак обнаружен и у одного ребенка.

**Могильник Бовер.** Из 38 взрослых субъектов кариозные полости имели три мужских черепа и два женских (13.16%). Минерализованные отложения достигают

в серии 63.16%. Из 18 мужчин маркер был зафиксирован у 13 (72.24%), из 7 женщин – у 3 (42.86%), из 14 взрослых индивидов, у которых пол не был определен, признак фиксируется у восьми. Признак чаще фиксируется на молярах. Альвеолярный абсцесс достигает в серии 27.28% (n=22). Из 13 захороненных здесь мужчин маркер был у 4 (23,53%), из 5 женщин – у 2 (40%). Лингвальные экзостозы нижней челюсти зафиксированы на 60% мужских (балл 1 на 3 челюстях) и 50% женских (балл 2 на 1 челюсти) черепах. Лингвальные экзостозы верхней челюсти обнаружены на 50% мужских черепах (балл 1 на 2 челюстях, балл 2 на 1, балл 3 на 1). Только на одном женском черепе обнаружен признак (балл 1).

Новые оригинальные данные об антропологии жителей эпохи поздней бронзы и раннего железного века из Лорийского района являются дополнением к общепалеоантропологической характеристике населения Армении и расширяют объем знаний об особенностях и закономерностях адаптации к условиям существования. По суммарной характеристике краниометрических, краниоскопических и одонтологических признаков население демонстрирует сходство с синхронными сериями с территории Армении [8, 23, 24]. Полученные данные по половозрастной структуре населения свидетельствуют, что популяции обладали высоким уровнем жизни и были в демографическом плане весьма благополучны. Высокая плотность населения способствовала развитию неблагоприятной эпидемической обстановки. Распространение маркера эпизодического стресса (эмалевая гипоплазия) свидетельствует о систематичном воздействии негативных факторов, таких как инфекции, паразиты, различные периоды голодания, которые препятствовали нормальному развитию человеческого организма в детском возрасте. Высокие частоты распространения признаков воспалительных процессов и следов анемий у взрослого населения указывает на широкое распространение различных инфекционных заболеваний специфического и неспецифического характера. Наши материалы показывают, что популяции, как и многие другие земледельческие общности, не были свободны от разного вида патологий (воспалительные процессы и проч.), но их распространенность серьезно не влияла на продолжительность жизни.

Распространение разнообразных патологий зубочелюстной системы, таких как кариес, одонтогенный остеомиелит (абсцессы), зубной камень указывает на специфичность рациона и пищевой стресс. Развитие всех этих патологий, вероятно, взаимосвязано с особенностями диеты, условий жизни и средовой обстановкой. Хотя в сериях Барцрjal (32.26%) и Багери чала (26.93%) число индивидов, имеющих кариозные полости, не очень сильно различаются ( $p=0.578$ ), общее количество кариеса в этих сериях существенно выше, чем в группе Бовер (29.595 % против 18.3 %,  $p=0.001$ ). Выявлены половые различия в распространении кариеса в исследованных группах (12 мужчин и 8 женщин). Во многих традиционных обществах диета женщин и мужчин существенно различалась. Как правило, женщины больше потребляли продуктов растительного происхождения, чем мужчины [38]. Следовательно, кариес может служить своего рода индикатором соотношения в диете продуктов животного и растительного происхождения. В группе Барцрjal отложения зубного камня были незначительны, несмотря на широкую распространенность данного маркера на этой территории (Багери чала, Бовер). Высокие показатели зубного камня зафиксированы и в группе Лори Берд (57.2%: 42.9% у мужчин, 14.3% у женщин) [10]. Исследованные нами группы проживали в сходных природных условиях, территориально близко расположены, однако образование зубного налета в сериях – различное. Это свидетельствует о том, что в этих группах существовали определенные различия в рационе питания.

В целом в основе межэтнических различий показателей физиологического стресса лежат генетические механизмы, отражающие биологическую историю формирования конкретной популяции. На основании приведенных данных можно судить о некоторых общих характеристиках интенсивности стрессовых воздействий на отдельные палеопопуляции эпохи поздней бронзы и раннего железного века. В настоящее время нет оснований связывать эти изменения только с факторами среды (аридизация климата, высокогорье, температура, характер растительности и др.). Направленность изменения уровня стрессовых воздействий позволяет говорить о неменьшей роли социальных факторов. Ведь частота их встречаемости зависит от достаточности питания и качества жизни.

### ЛИТЕРАТУРА

1. *Алексеев В.П.* Палеодемография СССР. Советская археология, 1, 3-21, 1972.
2. *Алексеев В.П., Дебец Г.Ф.* Краниометрия (методика антропологических исследований), 128 с., М., 1964.
3. *Бужилова А.П.* Homo sapiens: История болезни, 320 с., М., 2005.
4. *Дубова Н.А., Рыкушина Г.В.* Палеодемография Гонур-Депе. В сб.: Человек в культурной и природной среде. Труды третьих антропологических чтений к 75-летию со дня рождения акад. В.П. Алексеева, 309-319, М.: Наука, 2010.
5. *Зубов А.А.* Методическое пособие по антропологическому анализу одонтологических материалов, 72 с., М.: Этно-Онлайн, 2006.
6. *Мовсисян А.А., Мамонова Н.Н., Рычков Ю.Г.* Программа и методика исследования аномалий черепа. Вопросы антропологии, 51, 127-150, 1975.
7. *Романова Г.П.* Опыт палеодемографического анализа условий жизни населения степных районов Ставрополя в эпоху ранней бронзы, Вопросы антропологии, 82, 67-77, 1989.
8. *Худавердян А.Ю.* Население Армянского нагорья в эпоху бронзы. Этногенез и этническая история, 440 с., Ереван: Ван Арьян, 2009.
9. *Худавердян А.Ю.* Трепанированные черепа из погребений эпохи поздней бронзы и раннего железного века с территории Армении. Вестник археологии, антропологии и этнографии, 29, 2, 115-127, 2015.
10. *Худавердян А.Ю., Деведжян С.Г., Еганян Л.Г.* Реконструкция особенностей жизнедеятельности населения эпохи железа Армянского нагорья по данным антропологии. В сб.: Этнос и среда обитания, вып. 4, 215-232, 349-351, М., Старый сад, 2014.
11. *Acsádi G, Nemeskéri J.* History of human life span and mortality, 126 p., Budapest: Akadémiai Kiadó, 1970.
12. *Armstrong G.J.* Health and disease in prehistoric populations in transition. In: Disease in populations in transition: anthropological and epidemiological perspectives, 127-144, New York: Bergin and Garvey, 1990.
13. *Buikstra J.E., Ubelaker D.H.* Standards of data collection from human skeletal remains. Arkansas Archaeol. Survey Research Series. 44. 218 p., Fayetteville, 1994.
14. *Cassidy C.M.* Skeletal evidence for prehistoric subsistence adaptation in the central Ohio River Valley. In: Paleopathology at the origins of agriculture, 307—345, New York: Academic Press, 1984.
15. *Clark A.L., Tayles N., Halcrow S.* Aspects of health in prehistoric mainland Southeast Asia: indicators of stress in response to the intensification of rice agriculture. American Journal of Physical Anthropology, 153, 1-12, 2013.
16. *Cohen M.N., Armstrong G.J.* Paleopathology at the origins of agriculture. 615p., New York: Academic Press. 1984.
17. *DePaola D.P.* The Influence of Food Carbohydrates on Dental Caries. In.: Food Carbohydrates, 134-152. Westport, 1982.
18. *Hillson S.* Dental anthropology. 2 edn. 392p., Cambridge: Cambridge University Press. 1996.
19. *Jin Ye, Yip H.* Supragingival Calculus: Formation and Control. Critical Review Oral Biological Medicine, 13, 5, 426-441, 2002.
20. *Goodman A.H., Armstrong G.J., Rose J.C.* Enamel hypoplasias as indicators of stress in three prehistoric populations from Illinois. Human Biology, 52, 515—528, 1980.
21. *Goodman A.H., Martin D.L., Armstrong G.J., Qark G.* Indications of stress from bones and teeth. In: Paleopathology at the origins of agriculture, 13-49, New York. Academic Press, 1984.

- 
22. Goodman A.H., Brook R.T., Swedlund A.C., Armelagos G.J. Biocultural perspectives on stress in prehistoric, historical and contemporary population research. *Yearbook Physical Anthropology*, 31, 45-97, 1989.
  23. Khudaverdyan A.Yu. A dental nonmetric analysis of Bronze Age population from Armenian Plateau. *Anthropological Review*, 76, 1, 63-82, 2013.

---

А. Ю. ХУДАВЕРДЯН, А. А. ЕНГИБАРЯН, С. Г. ОБОСЯН

24. Khudaverdyan A.Yu. Nonmetric cranial variation in human skeletal remains from Armenian Highland: microevolutionary relations and intergroup analysis. *European Journal of Anatomy*, 16, 2, 134-149, 2012.
25. Larsen C.S. Biological changes in human populations with agriculture. *Annual Review of Anthropology*, 24, 185-213, 1995.
26. Larsen C.S. *Bioarchaeology: interpreting behavior from the human skeleton*, 461 p., Cambridge University Press, 1997.
27. Lovejoy C.O., Meindl R.S., Pryzbeck T.R., Mensforth R.P. Chronological metamorphosis of the auricular surface of the ilium: A new method for the determination of adult skeletal age at death. *American Journal of Physical Anthropology*, 68, 15-28, 1985.
28. Manchester K. *The archaeology of disease*, 100 p., Bradford, 1983.
29. Meindl R.S., Lovejoy C.O. Ectocranial Suture Closure: A Revised Method for the Determination of Skeletal Age at Death Based on the Lateral-Anterior Sutures. *American Journal of Physical Anthropology*, 68, 57-66, 1985.
30. Moorrees C.F., Fanning E.A., Hunt E.E. Age variation of formation stages for ten permanent teeth. *Journal of Dental Research*, 42, 6, 1490-1502, 1963.
31. Rathburn Ted.A. Skeletal pathology from the Paleolithic through the Metal Ages in Iran and Iraq. In: *Paleopathology at the origins of agriculture*, 137-168, Oriando: Academic Press, 1984.
32. Ortner D.J. *Identification of pathological conditions in human skeletal remains*. 2 edn. 645 p., San Diego and London: Academic Press, 2003.
33. Ortner D.J., Putschar W.G.J. *Identification of Pathological Conditions in Human Skeletal Remains*. Smithsonian Contributions to Anthropology, vol. 28, 488p., Washington. Smithsonian Institution Press, 1981.
34. Temple D.H. Dietary Variation and Stress Among Prehistoric Jomon Foragers From Japan. *American Journal of Physical Anthropology*, 133, 1035-1046, 2007.
35. Turner II C.G. Dental Anthropological Indications of Agriculture Among the Jomon People of Central Japan. *American Journal of Physical Anthropology*, 51, 619-636, 1979.
36. Ubelaker D.H. *Human Skeletal Remains: Excavation, Analysis, Interpretation*. 2nd ed. 172p., Washington, D.C.: Taraxacum. 1989.
37. Walker P.L. Sexing skulls using discriminant function analysis of visually assessed traits. *American Journal of Physical Anthropology*, 136, 39-50, 2008.
38. Walker P.L. Sex differences in the Diet and Dental Health of Prehistoric and Modern Hunter-Gatherers. In: *Proceedings of the VI European Meeting of the Paleopathology Association*, 249-260, Universidad Complutense de Madrid, 1988.

Посмунла 24.06.2015



Biolog. Journal of Armenia, 3 (67), 2015

## THE INFLUENCE OF GLUTAMINE AND ETHANOLAMINE-O-SULPHATE ON NEUROACTIVE AMINO ACIDS CONTENT IN THE RAT ORGANS IN NORM AND WITH EXPERIMENTAL STREPTOZOTOCINE DIABETES

R.G. KAMALYAN, N.KH. KHACHATRYAN, A.G. VARDANYAN,  
S.Q. TAROYAN, L.N. ERITSYAN<sup>1</sup>

*H. Buniatyan Institute of Biochemistry,  
<sup>1</sup>The State Medical Institute after M.Heratsy  
kamalyan37@mail.ru*

The research studies the separate and combined action of inhibitor of GABA-T ethanolamine-O-sulfate (EOS) and glutamate and GABA precursor glutamine on glutamine family amino acid content in the brain and liver of rats. The study demonstrates a higher efficiency of combined administration of those compounds at GABA level in brain and liver. The combined administration of those compounds produces a protective effect on the amino acids in the organs of rats with experimental streptozotocine diabetes, more specifically, in the brain and the pancreas. The pancreas of rats maintains concentrations of neuroactive amino acids the compared with brain. Given the role of GABA in the regulation and secretion of insulin, the combined use of glutamine and EOS can be substantial in the first type diabetes.

*Brain – pancreas – diabetes – neuroactive amino acids*

Ուսումնասիրվել է ԳԱԿԹ-տրանսամինազի արգելակիչ էթանոլամին-Օ-սուլֆատի (ԷՕՍ) և ԳԱԿԹ-ի նախորդ գլուտամինի անջատ և միասնական ազդեցությունը գլուտամինի ընտանիքի ամինաթթուների պարունակության վրա առնետի ուղեղում և լյարդում: Ցույց է տրվել միասնական ազդեցության ավելի բարձր արդյունավետությունը ԳԱԿԹ-ի մակարդակի վրա ուղեղում և լյարդում: Բացահայտվել է նյութերի միասնական տրաման պաշտպանիչ ազդեցությունը առնետի օրգաններում ամինաթթուների պարունակության վրա, մասնավորապես ուղեղում և ենթաստամոքսային գեղձում փորձարարական ստրեպտոզոտոցինային դիաբետի ժամանակ: Ցույց է տրվել նյարդաակտիվ ամինաթթուների ուղեղի հետ համեմատման կոնցենտրացիաների առկայությունը ենթաստամոքսային գեղձում: Հաշվի առնելով ԳԱԿԹ-ի դերը ինսուլինի սինթեզի և սեկրեցիայի կարգավորման մեջ գլուտամինի և ԷՕՍ-ի միասնական օգտագործումը կարող է եսկան լինել առաջին տիպի դիաբետի ժամանակ:

*Ուղեղ – ենթաստամոքսային գեղձ – դիաբետ – նյարդաակտիվ ամինաթթուներ*

Исследовано раздельное и совместное действие ингибитора ГАМК-трансаминазы этаноламин-О-сульфата (ЭОС) и предшественника глутамата и ГАМК глутамина на содержание аминокислот семейства глутамина в мозге и печени крыс. Показана большая эффективность совместного введения препаратов на уровень ГАМК в мозге и печени. Выявлен протективный эффект совместного введения препаратов на уровень аминокислот в органах

крыс, в частности в мозге и поджелудочной железе при экспериментальном стрептозототиновом диабете. Показано наличие сравнимых с мозгом концентраций нейроактивных аминокислот в поджелудочной железе крыс. С учетом роли ГАМК в регуляции синтеза и секреции инсулина совместное применение глутамина и ЭОС может быть существенно при диабете первого типа.

*Мозг – панкреас – диабет – нейроактивные аминокислоты*

The amino acids of glutamine family play a key role in nitrogen metabolism. They provide jointing processes of protein  $\alpha$ -amino nitrogen release and its resynthesis. Possibly this role determines the use of these amino acids not only as a source of energy and plasticity but also as potent mediator of metabolism, particularly as neurotransmitter. It should be mentioned that glutamate- and GABAergic systems are the principal neurotransmitter systems, involved in nearly all functions (energy, plasticity, information, cognition) of brain in norm and pathology [3, 13, 19, 22].

Hence, the specified amino acids and their agonists and antagonists are used in the treatment of a number of neurodegenerative and neuropsychical processes of the central nervous system [4, 27]. It is known that the main source of glutamate and GABA in brain is glutamine which, in contrast to glutamate, is not neurotoxic and may preferably be used as GABA source. The latter, as per our data, can be formed in a roundabout way [15, 16]. In this connection, it is more reasonable to use glutamine together with non toxic or low toxic inhibitors of GABA-T for the purpose of GABA generation. The presence of GABA and the enzymes of its synthesis and breaking up in pancreas has long been known [11, 12, 24]. The participation of glutamic acid decarboxylase localized in  $\beta$ -cells in the launching of autoimmune processes, inducing their death is also well known (2). The determination of antibody to glutamic acid decarboxylase is used as a screening test on the diabetes type I risk of development [2, 18]. In addition, the GABA participation to autoimmunity inhibition on the CD-3, CD-4 and CD-8 levels of T-cells [30, 32] as well as ability to stimulate insulin synthesis and secretion by  $\beta$ -cells of Langerhans islets have been shown [6, 29].

In the present study, we examined the influence of glutamine as a GABA source and EOS as an inhibitor of GABA-T on the content of the glutamine family amino acids in the brain, liver and pancreas in norm and experimental diabetes, induced by streptozotocine.

**Materials and methods.** Male white rats with weights of 180-200 g were used for the experiments. The animals were housed in a vivarium of the Institute of Biochemistry of the National Academy of Sciences of Armenia and had access to standard foods. The animals were split into 4 groups, with 5 rats in each group: I-control group received intraperitoneal 0.5 ml physiological solution a day, II – 40mg/kg glutamine, III – 500 mg/kg etanolamine-O-sulfate, IV – both preparations together. In 3 days the animals were decapitated with light ether anesthesia, brain and liver were removed, carefully cleaned from covers and blood in the cold, and samples of tissues were homogenated in 6% HClO<sub>4</sub>. After proteins precipitation, the extracts were neutralized with 2 M KOH to pH 5.0, centrifuged at 6000 revolutions per minute and 0°C for 10 min. The supernatants remained at 0°C for 24 hours, and then were centrifuged again for 20 min at 16000 revolutions per minute. The separation of perchlorate extracts amino acids was performed by high voltage paper (FN11, Germany) electrophoresis in pyridine-acetate buffer, pH 3.9. The electrophoresis duration was 1.5 hour at current power 0.5 mA/cm and 1300 V. The amino acids were revealed by 0.2 % solution of ninhydrin in 95 %acetone with some drops of ice acetic acid. The electroforegrams were dried in thermostat at 60°C for 20 min, then the amino acids were eluted by 5ml of 0.005 % CuSO<sub>4</sub> in 75% ethanol and after exposition during 1 hour the colour intensity was recorded at 540 nm on the Specol-11. Amino acids contents were calculated using standard curves, constructed with amino acids of Sigma Chemical Company (USA) [17]. Blood glucose was determined using Accu-Chek glucometer (Germany). In a separate series of experiments, the influence of preliminary intraperitoneal administration of glutamine and EOS on the amino acids content in rat organs (brain, liver, and pancreas), subjected to the toxic action of diabetogen streptozotocine (60 mg/kg), was studied.

The rats were separated into 2 groups: the first group received physiological solution the duration 3 days, second group received EOS mixture with glutamine. On the fourth day streptozotocine was administered intraperitoneally to all animals and in 5 days the rats were decapitated with light ether anesthesia. Amino acids contents were determined in brain, liver and pancreas.

In separate experiments, the content of amino acids in the pancreas of sheep was determined.

Statistical analysis was done by GraphPad Prism software using unpaired Student's t-test. The differences were considered as significant at the level of  $p < 0.05$  and marked with asterisk.

**Results and Discussion.** The literature data testify to the presence of appreciable quantity of GABA in animal pancreas. With this regard, we determined the content of neuroactive amino acids of the sheep pancreas in the initial series of our experiments. The data obtained testify to the presence of high level of neuroactive amino acids such as aspartate, glutamate, GABA and glutamine in the rat pancreas. The concentrations of the specified amino acids can compare with those present in brain. Given that GABA is basically present in  $\beta$ -cells of Langerhans islets, for the latter the GABA level in pancreas is most likely to be higher than in brain.

**Table 1.** The content of amino acids in the rat pancreas

Amino acids	$\mu\text{M/g}$
Glu	$4.1 \pm 0.03$
GABA	$0.98 \pm 0.06$
Gln	$4.6 \pm 0.2$
Asp	$1.3 \pm 0.15$
Ethanolamine	$0.68 \pm 0.08$

There are also remarkable ethanolamine quantities observed in the pancreas, which like GABA, favour the glucose carrier via biological membrane [23]. Oleil-ethanolamine also promoted glucose transport on the streptozotocine induced model of rat diabetes [5]. At the same time, the glucose inhibits the insulin secretion by  $\beta$ -cells through the intensification of GABA-shunt [31]. In addition both ethanolamine acylation [1] and acetylation [17] as well as anti-inflammatory and anti-allergy properties of ethanolamine acyl derivatives provide possible still long ago [7, 28]. It should also be noted that EOS is an inhibitor widely presented in pancreas GABA-T [9]. The synthesis of that inhibitor is quite possible in liver, where the enzymes of monoamines sulfatation are quite active.

Tab. 2 shows the data of the content of amino acids in the brain and liver after a 3 day intraperitoneal administration of EOS, glutamine and its mixture to rats.

The content of amino acids in rat brain increases more in the case of GABA-T inhibitor EOS administration ( $7.8$  against  $4.5 \mu\text{M/g}$ ) than in the case of GABA precursor glutamine ( $6.2$  against  $4.5 \mu\text{M/g}$ ). Interestingly, in case of combined administration of EOS and glutamine the effects on the GABA cumulate. Thus, the combined application of non toxic inhibitors of GABA-T and GABA precursor is reasonable in pathologic conditions related to brain GABA-ergic mechanisms.

It is characteristic that the level of neurotoxic dicarboxylic amino acids in the brain doesn't change, while the glutamine concentration increases both when administered separately and in combination with EOS. In the liver compared the brain, although small but statistically significant increase of GABA level is observed more, with pronounced in combined administration of preparations. At the same time, a decrease of aspartate and ethanolamine concentration is observed.

**Table 2.** The influence of intra-peritoneal administration of glutamine and EOS on the amino acid and ethanolamine content in rat brain and liver

Amino acids μM/g	Control		EOS		Glutamine		EOS + glutamine	
	brain	liver	brain	liver	brain	liver	brain	liver
	8.5±0.9	2.0±0.3	10.2±0.7	1.8±0.2	9.3±0.7	1.7±0.3	7.9±0.4	1.7±0.2
GABA	4.5±0.4	0.13±0.02	7.8±0.6*	0.16±0.01*	6.2±0.3*	0.14±0.01	11±0.5*	0.19±0.02*
Gln	4.5±0.4	3.2±0.26	3.9±0.2	3.0±0.38	6.2±0.3*	3.6±0.5	6.3±0.5*	3.1±0.3
Asp	3.9±0.4	2.9±0.4	3.9±0.4	2.3±0.25*	4.2±0.3	1.4±0.2*	3.6±0.5	1.5±0.1*
EA		2.2±0.3		2.1±0.17		2.1±0.18		1.3±0.3*

\* -  $p < 0.05$ ,  $n = 5$ , EA-ethanolamine

In a separate part of experiments we investigated the change in the content of amino acids in rat brain, liver and pancreas. After a combined intra-peritoneal administration of EOS and glutamine to rats during 3 days, streptozotocine has been injected on the 4<sup>th</sup> day. Rats of another group were injected with physiological solution during 3 days, and then streptozotocine was injected on the 4<sup>th</sup> day. 5 days later the rats were decapitated with a light ether anesthesia, and the content of amino acids in specified organs was determined.

The results presented in tab. 3 show that the preliminary administration of EOS and glutamine to rats promote the conservation of amino acid concentrations in organs, particularly of GABA, in brain and pancreas.

Many authors, back in 70-80s, showed the increase of GABA level in brain and peripheral organs in various modes of EOS administration [8, 9, 1, 29].

We revealed brain an alternative way of GABA formation from glutamine via GABA-amid, which is activated in neurointoxication [15, 16]. The presence of this process in the  $\beta$ -cells of pancreas is quite possible. Some GABA-T inhibitors are used in the treatment of brain activity disturbances, related to GABA ergic mechanisms [4, 27]. Also the EOS influence on the content of neuroactive amino acids in the liver and kidney [26], but not in pancreas is shown, where GABA affects both the endocrine [11, 12, 24] and the exocrine function [6, 25].

**Table 3.** The influence of intraperitoneal glutamine and EOS administration on the content of amino acids and ethanolamine in rat with experimental diabetes

Amino acids	CT			Gln+ EOS +CT		
	brain	liver	pancreas	brain	liver	pancreas
Asp	2.2±0.065	2.0±0.18	1.2±0.1	2.6±0.3	2.9±0.2*	1.4±0.2
Glu	6.5±0.7	1.4±0.3	2.1±0.2	8.0±0.6*	1.6±0.25	4.6±0.7*
Gln	4.0±1.0	2.4±0.36	3.1±0.4	6.5±0.4	3.9±0.3*	7.1±0.9*
GABA	1.7±0.1	0.4±0.07	0.7±0.1	3.2±0.5*	0.65±0.1*	1.2±0.2*
EA	1.45±0.25	1.05±0.06	0.63±0.1	2.3±0.3*	1.2±0.2	1.1±0.2*

 $n = 5$ , CT- streptozotocine, EA-ethanolamine

The data obtained (tab. 3) with regard to maintaining the level of GABA and its precursors in pancreas in case of induced damage of  $\beta$ -cells by streptozotocine, where GABA, according to most studies, assists the insulin synthesis and secretion [2, 11]. Of course, there are data on the inhibition, by GABA and baclofen, insulin synthesis and secretion by  $\beta$ -cells of perfused pancreas with safe microcirculation [10]. The authors associated this with the activation of GABAB receptors. Along with it, there is dependency of this effect on both the concentration of amino acids and on the glucose in the perfused solution.

The participation of GABAergic mechanisms in the regulation of blood glucose homeostasis is widely known. The inhibition of central GABAA receptors leads to an increase of blood plasma glucose level [20]. Consequently in the pathogenesis of diabetes, not only the disturbances of the pancreas GABA ergic mechanisms are important, but also those of brain.

Glutamine and EOS administration also provide a higher level of amino acids in such organs as brain and liver. Moreover, the blood glucose concentration, compared to streptozotocine group, is 1.4 times less ( $16.5 \pm 1.2$  against  $23.7 \pm 1.9$  mM/l). Possibly, the preparations influence not only the synthesis and secretion of insulin but the glucose utilization as well.

## REFERENCES

1. *Bachur N.R., Udenfriend S.* Microsomal synthesis of fatty acid amides. *J.Biol.Chem.*, *241*, 1308-1313, 1966.
2. *Baekkeskov S., Anastoot H.J., Christgva S., Reetz A., Solimena M., Cascalho M., Folli F., Olesen H., Camilli P.D.* Identification of the 64K autoantigen in insulin-dependent diabetes as the GABA-synthezing enzyme glutamic acid decarboxylase. *Nature*, *347*, 151-156, 1990.
3. *Balazs R., Bridges R.J., Cotman C.W.* In: Excitatory amino acid transmission in health and disease. New York: Oxford Univ. Press., 269-307, 2006.
4. *Bhat R., Axtell R., Mitra A., Miranda M., Lock C., Tsien R.W., Steinman L.* Inhibitory role for GABA in autoimmune inflammation. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, *107*, 6, 2580-2585, 2010.
5. *Capasso R, Izzo A.A.* Gastrointestinal regulation of food intake: general aspects and focus on anandamide and oleoylethanolamide. *J Neuroendocrinol.* *20*, Suppl 1, 39-46, 2008.
6. *Dong H., Kumar M., Zhang Y., Gyulkhandanyan A., Xiang Y.Y., Ye B., Perrella J.,HyderA., Zhang N., Wheeler M., Lu W.Y., Wang Q.* Gamma- aminobutyric acid up- and downregulates insulin secretion from beta cells in concert with changes in glucose concentration. *Diabetologica*, *49*, 697-705, 2006.
7. *Epps D.E., Schmid P.C., Natarayan V., et al.* N-Acylethanolamine accumulation in infarcted myocardium. *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, *90*, 2, 628-633, 1979.
8. *Fletcher A., Fowler L.J.* GABA metabolism in rat brain after in vivo inhibition of GABA-T by ethanolamine-O-sulphate. *J.Neurochem.*, *2*, 437-442, 1973.
9. *Fowler L.J.* Analysis of the major amino acids of rat brain after in vivo inhibition of GABA-T by ethanolamine-O-sulphate. *J. J.Neurochem.*, *2*, 437-442, 1973.
10. *Franklin I., Wollheim C.* GABA in the endocrine pancreas:its putative role as an islet cell paracrine-signalling molecule *J. Jeneral Physiology.*, *123*, 3, 185-190, 2004.
11. *Garry D.J., Coulter H.D.,Mc Intee T.J., Wu J.Y., Sorenson R.L.* Immunoreactive GABA-T within the pancreatic islets localized in mitochondria in the  $\beta$ -cell. *J. Histochem.Cytochem.*, *35*, 831-836, 1987.
12. *Garry D.J., Sorenson R.L., Elde R.P., Maley B.E., Madsen A.* Immunohistochemical colocalization of GABA and insulin in beta cells of rat islet. *Diabetes*, *35*, 1090-1095, 1986.
13. *Ikegaya Y., Matsuura S., Ueno S.*  $\beta$ -Amyloid Enhances Glial Glutamate Uptake Activity and Attenuates Synaptic Efficacy\* *J. Biol. Chem.*, *277*, 32180-32186, 2002.
14. *Kamalyan R.G.* Ethanolamine and their derivatives role in their derivatives role in the metabolism in the norm and pathology. Synopsis of thesis, Yerevan, 8-9, 1984.
15. *Kamalyan R.G.* The possible new way of GABA formation in brain. *Electronic Journal of Natural Sciences (Biochem.) National. Acad. RA.* *2*, 9, 2007.
16. *Kamalyan R.G., Vardanyan A.G.* GABA and GABA-amide metabolism in the brain. *Neurochemical J.* *6*, 2, 100-103, 2012.
17. *Kamalyan R.G., Buniatyan H.Ch., Movsesyan S.G.* The participation of some nucleotides and pyridoxalphosphate in the glutamate metabolism in the brain mitochondria. *Vopr.. Biokhimii Mozga, Izd. AN ArmSSR*, *21*, 5, 16-26, 1968.
18. *Kaufman D.L., Erlander M.G., Clare-Salzler M., Atkinson M.A., Maclaren N.K., Tobin A.J.* Glutamate Decarboxylase Autoimmunity in Insulin-dependent Diabetes Mellitus. *J. Clin. Invest.* *89*, 1, 283-292, 1992.

19. *Kew J. N., Kemp J.A.* Ionotropic and metabotropic glutamate receptor structure and pharmacology. *Psychopharmacology (Berl.)*, 179, 4-29, 2005.
20. *Lang C.* Inhibition of central GABA A receptors enhances hepatic glucose production and peripheral glucose uptake. *Brain Res. Bul.*, 37, 611-616, 1995.
21. *Loscher W.* Effect of inhibitors of GABA aminotransferase on the metabolism of GABA in brain tissue and sinaptosomal fractions. *J. Neurochem.* 36, 4, 1521-1527, 1981.
22. *Mohler H.* GABA(A) receptor diversity and pharmacology. *Cell Tissue Res.* 326, 505-16, 2006.
23. *Movsesyan S.G.* The action of GABA on the glucose uptake by different tissues. *Vopr. Biochimii. Izd. AN Arm SSR*, 2, 87-91, 1961.
24. *Okada Y., Taniguchi H., Shimada C.* High concentration of GABA and high glutamate decarboxylase activity in the rat pancreatic islets and human insulinoma. *Science.* 194, 620-622, 1976.
25. *Park Y-D., Cui Z-Y., Wu G., Park H-S., Park H-J.*  $\gamma$ -aminobutyric acid secreted from islet  $\beta$ -cells modulates exocrine secretion in rat pancreas. *World J. Gastroenterol.* 12, 19, 3026-3030, 2006.
26. *Quame M., Fowler L.J.* Effect of chronic oral treatment with GABA-T inhibitors on the GABA system in brain, liver, kidney and plasma of the rat. *Biochem. Pharmacol.*, 52, 9, 1355-1363, 1996.
27. *Schousboe A., Waagepetersen H.S.* GABA: homeostatic and pharmacological aspects. *Prog. Brain Res.* 160, 9-19, 2007.
28. *Smith W.G.* The effect of ethanolamine on changes in lung lipids induced by anaphylaxis. *Biochem. Pharmacol.* 11, 183-191, 1962.
29. *Sorenson R.L., Garry D.G., Brelje T.C.* Structural and functional considerations of GABA in islets of Langerhans. *Diabetes.* 40, 1365-1374, 1991.
30. *Tian J., Lu Y., Zhang H., Chau C.H., Dang H.N., Kaufman D.L.* GABA inhibits T cell autoimmunity and the development of inflammatory responses in a mouse type 1 diabetes model. *J. Immunol.* 173, 5298-5304, 2004.
31. *Wang C., Kerckhofs K., Van de Castele M., Smolders I., Pipeleers D., Ling Z.* Glucose inhibits GABA release by pancreatic  $\beta$ -cells through an increase in GABA shunt activity *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism.* 290, E494-E499, 2006.
32. *Wong F.S., Janeway A.C.* The Role of CD4 vs. CD8T Cells in IDDM. *Journal of Autoimmunity.* 13, 290-295, 2000.

*Received on 12.06.2015*



•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ• *Экспериментальные и теоретические статьи*  
•*Experimental and theoretical articles*•

Биолог. журн. Армении, 3 (67), 2015

## ОСОБЕННОСТИ УЧАСТИЯ И ХАРАКТЕР ВЗАИМООТНОШЕНИЙ ГИППОКАМПА И ВИСОЧНОЙ КОРЫ В ПРОЦЕССЕ ФОРМИРОВАНИЯ У ЖИВОТНОГО НОВОГО НАВЫКА

В.А. ТУМАНЯН, И.Н. КОВАЛЬ

*Научный центр зоологии и гидроэкологии АН РА  
Лаборатория физиологии поведения животных  
lilika@yahoo.com*

На основе ряда показателей активности гиппокампальных и корковых клеток головного мозга кролика и характера их взаимоотношений в процессе выработки и закрепления у животного условной реакции избегания формируется представление о функциональном взаимодействии и особенностях участия этих образований мозга в организации адаптивного поведения.

*Условнорефлекторное обучение – импульсная активность нейрона –  
височно-гиппокампальные взаимоотношения – информация*

Ճագարի գլխուղեղի հիպոկամպի և կեղևի բջիջների մի շարք ցուցանիշների, ինչպես նաև կենդանու մոտ պայմանական ռեֆլեքսի մշակման և ամրացման պրոցեսում դրանց փոխհարաբերությունների բնույթի հիման վրա ձևավորվում է պատկերացում գլխուղեղի այդ կառուցվածքների ֆունկցիոնալ փոխազդեցության և հարմարվողականության վարքի մեջ դրանց յուրահատուկ մասնակցության մասին:

*Պայմանական ռեֆլեքսային ուսուցում – նեյրոնի ազդակային ակտիվություն – քունքա-  
հիպոկամպային փոխհարաբերություն – տեղեկատվություն*

Based on the range of indexes of activity of hippocampus and cortical cells of rabbit's head brain, registered extra-cellular, activity and their relation during its learning process of a new habit, a conception has formulated for the explanation of interaction and the particularities of the participation of these brain structures in the forming of the adaptive behavior.

*Conditioning – neuronal activity – hippocampus and temporal interrelation – information*

Проблема формирования целенаправленной деятельности живых организмов и изучение закономерностей, лежащих в основе функционирования тех механизмов, которые обеспечивают эти процессы адаптивного поведения, остается одной из актуальных в физиологии и нейрофизиологии поведения. Результаты исследований, посвященные этой проблеме, позволили получить сведения как о свойствах и функциях самих клеток, так и о роли отдельных структур в приспособительной деятельности организма. [2, 3, 5, 7, 9]. Вместе с тем, любую поведенческую деятельность следует рассматривать как динамически развертывающуюся последовательность определенных взаимоотношений структурных образований мозга, направленную на достижение приспособительного результата [1, 4]. Поэтому возникает необходимость сочетания общего системного подхода к анализу целенаправленного поведения и деятельности отдельных нейронов (включая и информа

ционные показатели) и сравнения этих данных при организации новых форм поведения.

**Материал и методика.** Исследования были проведены на ненаркотизированных кроликах в условиях хронического опыта. Импульсная активность, ее особенности и нейрональные перестройки дорсального гиппокампа и височной коры изучались у животных до и на отдельных этапах формирования и осуществления избегательной реакции, определяемой степенью проявляемости вырабатываемой реакции. Это был начальный этап научения (21%), упрочения (58%) и стабилизации (90%), который наступал после 100 и более сочетаний. Одновременно регистрировалась внеклеточная импульсная активность двух нейронов или одной структуры, или же по одному нейрону каждой структуры мозга.

Для выяснения взаимных влияний гиппокампа и височной коры в процессе приобретения животным нового навыка исследовались параметры клеточной активности и вызванного потенциала каждой из этих структур на стимуляцию другой. Электрические раздражения наносились от стимулятора ИГ-6 через биполярные нихромовые электроды.

Для обработки и анализа полученных данных были использованы общепринятые методы статистической оценки импульсной активности как одиночных, так и пар нейронов [1, 6].

На основе анализа межимпульсных интервалов были определены некоторые информационные показатели нейронов, такие как количество информации, мера надежности передачи информации, избыточность и пропускная способность нервных клеток [10-12].

**Результаты и обсуждение.** Анализ пространственных, временных и информационных показателей гиппокампальных клеток в фоне до выработки поведенческого навыка и сравнения ее с активностью нейронов височной коры в процессе формирования навыков, выявил ряд особенностей, свидетельствующих о различных свойствах функциональной деятельности этих структур.

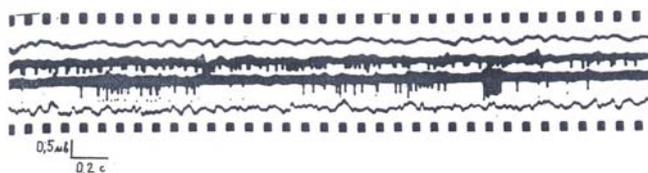


Рис. 1. Одновременная регистрация импульсной и медленной активности в височной коре и гиппокампе

Такие показатели импульсации нейронов гиппокампа, как высокая средняя частота, пачечно-групповая структура разрядов при незначимых коэффициентах корреляции, затухающий вид автокоррелограмм, распределение межимпульсных интервалов, а также сравнительно высокая энтропия и информационная избыточность нейронного канала связи отражают многофакторность условий фоновой активности, малую ее упорядоченность, связанную с огромным количеством одновременных входных влияний и слабую степень линейной связи их импульсных потоков (табл. 1, 2).

**Таблица 1.** Сопоставление статистических характеристик фоновой активности нейронов височной коры с гиппокампальными (n=50)

Статистические параметры	Типы импульсации			
	Височная кора		Гиппокамп	
	Непрерывно-аритмичный	Пачечно-групповой	Непрерывно-аритмичный	Пачечно-групповой
□	7,7 ± 0,41	6,1 ± 0,36	35,5 ± 3,3	28,2 ± 3,1
□	2,92	2,55	23,43	22,01
Cv	39,0	41,3	65,9	78,0
Достоверность различий	t = 2,87 P < 0,01		F = 1,72 P < 0,01	
	t = 8,4 P < 0,001			
			t = 7,87 P < 0,001	

**Таблица 2.** Сопоставление информационных показателей импульсных потоков фоновой активности нейронов височной коры (n=40) и гиппокампа (n=60)

Информационные показатели	Височная кора		Гиппокамп	
	Непрерывно-аритмичный	Пачечно-групповой	Непрерывно-аритмичный	Пачечно-групповой
Энтропия	2,95 ± 0,06	3,0 ± 0,12	3,50 ± 0,15	3,45 ± 0,08
Избыточность	0,48 ± 0,06	0,42 ± 0,08	0,61 ± 0,01	0,44 ± 0,12
Пропускная способность	2,06 ± 0,07	2,30 ± 0,11	1,31 ± 0,04	1,12 ± 0,04
Мера надежности	2,03 ± 0,09	2,15 ± 0,10	2,31 ± 0,06	2,70 ± 0,08

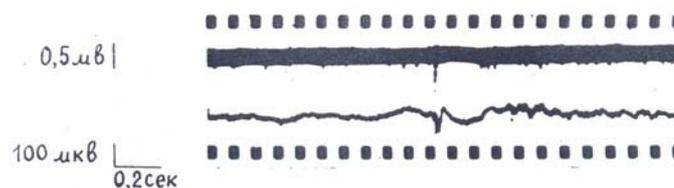
Так как частота импульсации отражает степень возбуждения нервной клетки, то более высокая частота разрядов гиппокампальных клеток по сравнению с корковыми, а, следовательно, высокий уровень возбудимости, по-видимому, может свидетельствовать об активирующем влиянии гиппокампа на деятельность других мозговых систем.

Что касается информационных показателей, то применительно к импульсному потоку нейронной активности они оправдали себя как отражающие степень его упорядоченности [10].

Определенные основания для суждения о характере корково-гиппокампальных отношений дали эксперименты при изучении их взаимодействия по показателям ответных реакций гиппокампа на стимуляцию коры и височной коры на стимуляцию гиппокампа в процессе формирования и упрочения функциональной системы оборонительного поведения (рис.1, 2). При этом показатели латентных периодов импульсных ответов и вызванного потенциала, количество реагирующих клеток, процент проявляемости ответов, продолжительность положительной и отрицательной волн и др. показатели, которые представлены в табл. 3, 4, 5, 6, обнаружили закономерную динамику их отношений в височной коре и гиппокампе.

Об изменении функциональных связей между гиппокампом и височной корой свидетельствуют также результаты изучения коэффициента корреляции (к.к.) импульсных последовательностей нейронов изучаемых образований мозга.

На начальных этапах научения наблюдалось небольшое увеличение к.к. ( $0,26 \pm 0,06$ ), которое нарастало и своего максимума достигало на стадии стабилизации вырабатываемой реакции ( $0,49 \pm 0,10$ ).



**Рис. 2.** Ответ височной коры на раздражение гиппокампа после 110 сочетаний. На верхнем канале импульсная активность, на нижнем – вызванный ответ.

Исходя из наблюдаемой динамики отношений реакции коры на стимуляцию гиппокампа и реакции гиппокампа на стимуляцию коры, можно заключить, что в зависимости от степени стабилизации оборонительной реакции или по мере ее совершенствования происходит смена сравнительной роли гиппокампа и височной коры в этом процессе (табл. 3, 4, 5, 6).

Так, на начальных стадиях выработки условно-избегательного навыка проявляется особо важная роль гиппокампа, влияние которого на височную кору по показателям нейронных реакций и вызванного потенциала достигает на этой стадии максимума.

**Таблица 3.** Характеристика нейронов височной коры на стимуляцию гиппокампа (n=24)

Этапы условно-оборонительной реакции	Среднее значение латентного периода, мс	Вариабельность латентного периода	Проявляемость ответа клетки, %
Исходное состояние	21,2 ± 0,4	52,6	48
1-30 сочетаний	13,0 ± 0,5	32,7	62
31-100 сочетаний	17,5 ± 0,4	40,5	52
101 и более сочетаний	15,7 ± 0,6	36,5	56

**Таблица 4.** Нейронные ответы гиппокампа на стимуляцию височной коры в динамике выработки условной оборонительной реакции

Этапы выработки оборонительной реакции	Общее колич. исслед. клеток	Возбуждение		Торможение		Не реагируют	
		число клеток	%	число клеток	%	число клеток	%
Исходное состояние	126	26	20,6	30	23,8	63	55,6
1-30 сочетаний	99	24	24,3	30	30,3	45	45,4
31-100 сочетаний	102	28	27,4	22	21,7	52	50,9
101 и более сочетаний	93	39	41,9	24	25,9	30	32,2

**Таблица 5.** Характеристика нейронов гиппокампа на стимуляцию височной коры (n=24)

Этапы выработки оборонительной реакции	Среднее значение латентного периода, мс	Вариабельность латентного периода	Проявляемость ответа клетки, %
Исходное состояние	18,6 ± 0,6	42,3	44
1-30 сочетаний	16,0 ± 0,5	54,7	49
31-100 сочетаний	13,0 ± 0,3	47,5	51
101 и более сочетаний	10,8 ± 0,2	36,8	64

**Таблица 6.** Характеристика вызванного потенциала (фокальная регистрация) височной коры в ответ на стимуляцию гиппокампа (n=35)

Этапы выработки оборонительной реакции	Латентный период положительной волны, мс	Латентный период отрицательной волны, мс	Продолжительность положительной волны, мс	Продолжительность отрицательной волны, мс
Исходное состояние	19,7 ± 1,8	32,3 ± 4,1	21,1 ± 1,2	44,1 ± 2,9
1-30 сочетаний	10,1 ± 0,4	31,3 ± 1,8	11,5 ± 0,6	36,1 ± 1,8
31-100 сочетаний	16,1 ± 1,7	38,1 ± 2,3	18,0 ± 1,6	42,3 ± 3,3
101 и более сочетаний	15,3 ± 1,5	40,2 ± 3,1	16,0 ± 1,2	40,3 ± 2,7

При достижении стадии стабилизации избежательной реакции отношения этих структур резко меняются. Показатели влияния гиппокампа на височную кору, до того нарастающие, теперь идут на убыль. Наоборот, на первый план выступают показатели влияния височной коры на дорсальный гиппокамп.

Физиологическое значение перемены этих взаимовлияний исследуемых областей мозга заключается, по-видимому, в том что в начале обучения, когда вероятность болевого подкрепления для животного остается неопределенной или проблематичной, гиппокамп, являясь образованием, в котором происходит слияние мотивационных и информационных потоков возбуждения, обеспечивает реакции на сигналы с низкой вероятностью их подкрепления [8], реализуя эмоциональное состояние. При этом он активизирует височную кору, помогая формированию времен

ных связей и перестраивая их в направлении наибольшего приближения к достижению приспособительного результата. В этом и заключается его особо важная роль на ранних стадиях формирования оборонительного навыка.

Кроме того, при первых сочетаниях условного и безусловного раздражений в височной коре возникает потребность в обработке увеличивающегося объема информации (возбуждений). При увеличении потока поступающей информации способность корковых механизмов по ее обработке повышается или улучшается за счет включения дополнительных звеньев с более высокой адаптивностью. Таким звеном в системе управления целесообразным поведением, в котором может производиться оценка достигнутого результата деятельности в данных условиях, по-видимому, является гиппокамп. Гиппокампальный уровень может оказывать влияние на ход выработки навыка, его выраженность и т.д., то есть координировать работу коры. В этих условиях гиппокамп осуществляет смену информационной деятельности коры. В последующем, когда вырабатываемый навык стабилизирован и временные связи сформированы, начинает преобладать влияние височной коры на гиппокамп, в результате чего информация о сложившейся системе временных связей поступает из коры в гиппокамп, что, по-видимому, отражает ее возрастающее значение в регуляции информационной деятельности гиппокампа и является одним из условий его участия в механизмах памяти.

Таким образом, мысль о том, что условнорефлекторная деятельность, являясь целостной реакцией организма, приспособленной к быстро изменяющимся условиям среды, требует как динамического, так и жесткого взаимодействия различных структур мозга, связанных между собой морфологически и функционально [4, 5], находит свое подтверждение в предложенной схеме участия и возможном механизме взаимодействия структур височной коры и гиппокампа в процессе выработки поведенческого навыка.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Анохин П.К.* Системный анализ условного рефлекса. Журн. ВНД, 23, вып. 2. с. 229-247, 1973.
2. *Асратян Э.А.* Очерки по физиологии условных рефлексов М. Наука. 326 с., 1983.
3. *Бехтерева Н.П., Гоголицин Ю.А., Кропотков Ю.Д., Медведев С.В.* Нейрофизиологические механизмы мышления Л., Наука. 272с., 1985.
4. *Бехтерева Н.П.* Здоровый и больной мозг человека. Л. Наука. 280 с., 1980.
5. *Коган А.Б.* Функциональная организация нейронных механизмов. Л. Медицина, 224с., 1979.
6. *Мецгерский Р.М.* Анализ нейронной активности. М. Наука. 222с., 1972.
7. *Саркисов Г.Т.* Субкортикальные механизмы научения и памяти в аспектах эволюционных преобразований мозга. Ереван, Гитутюн, 242 с., 2007.
8. *Симонов П.В.* Мозговые механизмы эмоций. Журн. ВНД. 47, вып. 2, с. 320-328, 1997.

9. *Туманян В.А., Коваль И.Н.* Взаимодействие филогенетически различных образований головного мозга при формировании условного рефлекса. Биолог. журн. Армении, 35, 4, с. 331-334, 2003.
10. *Чораян О.Г.* Информационные процессы в нервной системе. Ростов/Дон. Из-во РГУ, 150с., 1981.
11. *Шеннон К.Е.* Работы по теории информации и кибернетике. М., ИЛ. 110 с., 1963.
12. *Stain В.В.* The information capacity of nerve cells using a prequence codi. Biophys. J. 6, 6. p. 797-815, 1967.

*Поступила 08.07.2014*



•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ •Экспериментальные и теоретические статьи•  
•Experimental and theoretical articles•

Биолог. журн. Армении, 3 (67), 2015

**ВЛИЯНИЕ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА НА КРЕАТИНКИНАЗУ  
ЖИЗНЕННО ВАЖНЫХ ОРГАНОВ КРЫС**

**Л.С. НЕРСЕЦОВА, М.С. ПЕТРОСЯН, Ж.И. АКОПЯН**

*Институт молекулярной биологии НАН РА  
l.nersesova@yahoo.com*

Независимо от фактора, которым обусловлен оксидативный стресс, будь то токсическое действие противоопухолевых соединений или ионизирующее облучение, активность креатинкиназы (КК) органа-мишени тонко реагирует на воздействие поражающего фактора. При этом динамика изменений активности КК органа-мишени соответствует изменениям активности и изоферментного спектра КК сыворотки крови, что указывает на изменение проницаемости клеток органа-мишени. Полученные данные свидетельствуют о высокой чувствительности креатинкиназы к оксидативному стрессу.

*Оксидативный стресс – токсическое действие – противоопухолевые соединения – ионизирующее облучение – активность креатинкиназы – изоферменты креатинкиназы*

Անկախ օքսիդացիոն սթրեսը պայմանավորող գործոնից՝ հակառուսքային միացությունների տոքսիկ ազդեցությունից, թե իննացնող ճառագայթումից, թիրախ-օրգանի կրեատինկինազի (ԿԿ) ակտիվությունն արձագանքում է վնասող գործոնի ազդեցությանը: Ընդ որում, նկատվում է համապատասխանություն վնասված օրգանում ԿԿ-ի ակտիվության և արյան շիճուկում ԿԿ ակտիվության և իզոֆերմենտային սպեկտրի միջև, ինչը վկայում է թիրախ-օրգանի բջիջների թափանցելիության փոփոխման մասին: Ստացված տվյալները վկայում են օքսիդացիոն սթրեսի նկատմամբ ԿԿ-ի բարձր զգայնության մասին:

*Օքսիդացիոն սթրես – տոքսիկ ազդեցություն – հակառուսքային միացություններ – իննացնող ճառագայթում – ԿԿ ակտիվություն և ԿԿ իզոֆերմենտներ*

Creatine kinase (CK) of the target-organs responds to the impact of oxidative stress which was induced by both antitumor compounds and ionizing radiation. Results demonstrate the correlation between the CK activity of a damaged organ and the isoenzyme spectrum of blood serum CK which testifies changes of the membrane permeability of a target-organ. The obtained data obtained show that CK has high sensitivity to oxidative stress.

*Oxidative stress – toxic effect – antitumor compounds – ionizing radiation – creatine kinase activity – creatine kinase isoenzymes*

Как известно, негативное влияние факторов окружающей среды, и в частности, радиационного и ультрафиолетового излучений, ксенобиотиков, в том числе лекарственных препаратов, сопровождается увеличением образования

свободных радикалов в организме, ведущим к развитию оксидативного стресса [4,12].

Структурно-функциональные изменения ферментов, одни из первых мишеней оксидативного стресса, могут быть связаны: 1) с усилением каталитической активности за счет активации синтеза энзимов, блокады разрушения ферментов или активирования самих ферментов; 2) с угнетением каталитической активности за счет угнетения синтеза ферментов, ускорения разрушения ферментов, угнетения их специфической активности; 3) с изменением конформации ферментов.

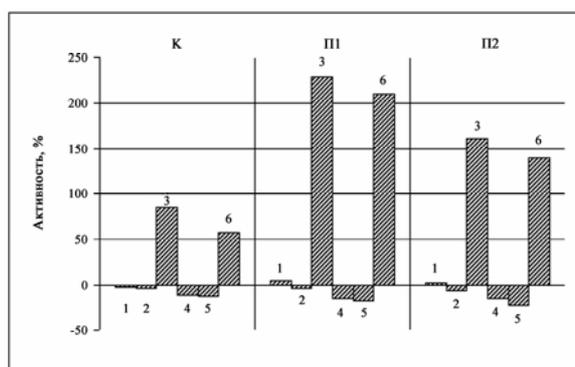
В настоящей работе обобщены данные по влиянию оксидативного стресса, вызванного, с одной стороны, токсическим действием противоопухолевых соединений, производных диазаадамантанов, с другой – ионизирующей радиацией (ИР) на активность креатинкиназы (КК) жизненно важных органов и сыворотки крови крыс. КК играет ключевую роль в поддержании энергетического гомеостаза в клетке, регулируя в ней потоки энергии [13]. Необходимо отметить, что КК как фермент тонко реагирующий на структурно-функциональные изменения в клетке, широко применяется в качестве маркера ряда сердечно-сосудистых, нейромышечных и опухолевых заболеваний, а также для оценки токсического действия лекарственных препаратов и других экологически опасных агентов, в основе патогенеза которых лежит окислительный стресс [10,13,15]

**Материал и методика.** В первой серии опытов изучено токсическое действие противоопухолевых соединений 1,5-диметил-9-оксо-3,7-диазабицикло/3.3.1/нонана - (П1) и 2-(2'-гидроксинафтил-1')-5,7-диметил-6-оксо-1,3-диазаадамантана - (П2), синтезированных в Институте тонкой органической химии НАН РА [1,2], на КК жизненно важных органов и сыворотки крови крыс. Опыты проведены на модели перевиваемой опухоли крыс – саркома 45. Через 4 дня после перевивки опухоли животные были разделены на 3 группы по 6 крыс в каждой: 2 подопытные и 1 контрольную. Животным I группы в течение 8 дней вводили внутривентриально соединение П<sub>1</sub> в дозе 1мг/кг, II группы - П<sub>2</sub> в дозе 140мг/кг, а контрольным животным (III группа) – физиологический раствор. Кроме того, в аналогичных условиях содержалась такая же группа интактных животных (IV группа), которым по той же схеме вводили физиологический раствор. Показатели активности КК тканей последней группы животных служили для определения исходного контрольного уровня. Через 24 ч после последней инъекции животные всех 4 групп были умерщвлены путем декапитации под эфирным наркозом, оценены массы опухолей и отобраны необходимые органы и сыворотка крови для определения в них активности ферментов. Терапевтический эффект соединений оценивался по проценту торможения роста опухоли по сравнению с контролем.

Во второй серии опытов животные с равноценным распределением по группам (n=6) были подвергнуты однократному тотальному облучению на рентгеновской установке "РУМ-17" в сублетальных дозах 3,5Гр и 4,5Гр и исследованы через 6 и 13 дней после лучевого воздействия (мощность дозы - 1,78 Гр/мин, напряжение - 200кВ, сила тока - 20мА, фокусное расстояние - 50см при отсутствии фильтров). В качестве контроля были использованы соответствующие группы интактных животных. Для исследования активности КК, так же как и в первой серии опытов, использовали сыворотку крови и экстракты соответствующих органов. Кровь после свертывания центрифугировали в рефрижераторной центрифуге при 3000 об/мин в течение 20 мин и полученную сыворотку крови использовали в тот же день для определения активности и изоферментного спектра КК. Изъятые органы крыс тщательно отмывали от крови охлажденным физиологическим раствором, гомогенизировали в 0,1М трис-ацетатном буфере рН 7,0, содержащем 5мМ ДДТ и 0,5мМ ЭДТА, и центрифугировали в рефрижераторной центрифуге К-24 при 12 000 об/мин. Полученные экстракты тканей использовали для определения активности КК, которую определяли по накоплению креатина [7] и выражали в мкмоль/г мин для тканей и мкмоль/л мин для сыворотки. Изоферментный состав КК определяли ступенчатой ионообменной хроматографией на ДЕАЕ-целлюлозе [5], выражая активность каждого изофермента в % по отношению к суммарной ферментативной активности. Характер распределения полученных данных определен методом Колмогорова-Смирнова. Сравнительный анализ проведен с использованием

непараметрического теста Манна-Уитни. Различия считались достоверными при  $p < 0.05$ . Корреляционный анализ проведен с использованием непараметрического теста Спирмена.

**Результаты и обсуждение.** Согласно нашим данным, эффективность соединения  $\Pi_1$  по торможению роста опухоли крысиной саркомы 45 была равна 78%, но при этом оно проявляло значительную токсичность ( $LD_{100}=300\text{мг/кг}$ ); соединение  $\Pi_2$  отличалось незначительной токсичностью ( $LD_{100}>5000\text{мг/кг}$ ), но и сравнительно меньшей ( $T\%=61$ ) противоопухолевой эффективностью [1,2]. В наших экспериментах соединения  $\Pi_1$  и  $\Pi_2$ , используемые в терапевтических дозах, проявили умеренное торможение роста опухоли: терапевтический эффект их составлял 59% и 50% соответственно. Общее физиологическое состояние животных было удовлетворительное.



**Рис. 1.** Изменения уровня активности КК в органах и сыворотке крови контрольных крыс с индуцированной подкожной опухолью (контроль) и опытных крыс, подвергнутых действию препаратов  $\Pi_1$  и  $\Pi_2$ , по отношению к активности КК в соответствующих органах и в сыворотке крови интактных животных. (1– мозг, 2– бедренная мышца, 3– печень, 4– почки, 5– сердце, 6– сыворотка крови)

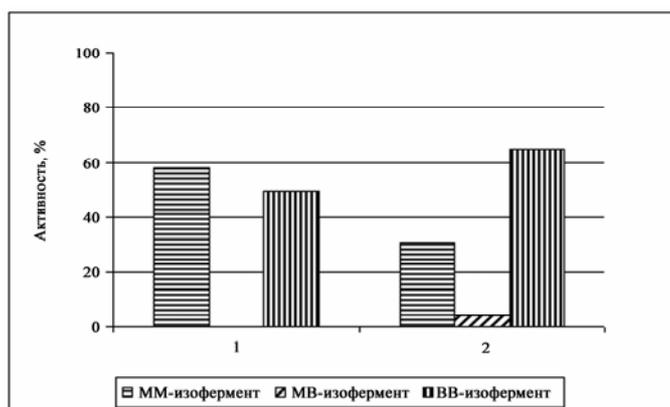
На рис.1 представлена диаграмма распределения активности КК в жизненно важных органах крыс в контрольной и опытных группах по отношению к уровню активности фермента соответствующих органов интактных крыс. Эти данные свидетельствуют о том, что в контрольной группе животных развитие опухоли вызывает значительное увеличение уровня активности КК в печени, почти на 85%, и в сыворотке крови – на 57%. В то же время в сердце, почках, в мозге и бедренной мышце контрольных крыс статистически достоверных изменений уровня активности фермента не обнаруживается.

Оценку токсического действия исследуемых соединений проводили на основании сравнения уровня активности фермента в органах животных опытных и контрольных групп и дополнительные изменения активности в них относили на счет токсического действия препаратов. Оказалось, что наиболее значительное токсическое действие оба препарата проявляют в отношении печени: более токсичный из них –  $\Pi_1$  вызывает дополнительное компенсаторное возрастание активности КК на 144%, а менее токсичный  $\Pi_2$  – на 76%. В то же время отмечаются статистически недостоверные изменения уровня активности КК в почках и в сердце крыс как в случае  $\Pi_1$ , так и в случае  $\Pi_2$  (рис.1). В мозге и бедренной мышце эти препараты не вызывают изменений ферментативной активности.

Из рис.1. следует также, что токсикологическая нагрузка на печень ведет к увеличению уровня активности КК в сыворотке крови, по-видимому, в связи с из

менением проницаемости клеточных мембран этого органа: в случае  $\Pi_1$  – на 153% и  $\Pi_2$  – на 83%.

Для подтверждения этого предположения исследовали изменения изоферментного спектра КК сыворотки крови экспериментальных крыс. В связи с этим следует отметить, что в отличие от сывороточной КК человека, которая в норме представлена в основном ММ-изоферментом (95-98%) и следами МВ-изофермента (2-5%) при полном отсутствии ВВ-изофермента, в сыворотке крови крыс при преобладающем содержании ММ-изофермента обнаруживается и значительная доля ВВ-изофермента [15].



**Рис. 2.** Распределение изоферментов КК в сыворотке крови крыс контрольной группы (1) и подвергнутых действию препарата  $\Pi_1$  (2)

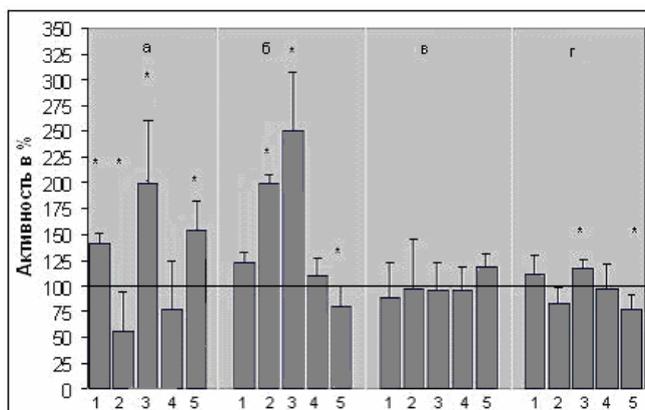
На рис.2 представлена диаграмма распределения изоферментов КК в сыворотке крови крыс контрольной группы (1) и подвергнутых действию препарата  $\Pi_1$  (2), которая свидетельствует о смещении изоферментного спектра КК сыворотки крови в сторону значительного увеличения доли ВВ-изофермента и появления активности МВ-изофермента. В связи с этим следует отметить, что печень крысы содержит исключительно ВВ-изофермент [15], в данном случае именно гепатоциты могли стать источником дополнительного количества ВВ-изофермента в сыворотке крови.

Таким образом, токсическое действие исследованных препаратов приводит к: адапционному возрастанию активности КК печени крыс, а также изменению проницаемости клеточной мембраны гепатоцитов, что ведет к увеличению доли ВВ-КК в сыворотке крови; последнее может быть использовано в качестве показателя гепатотоксичности ксенобиотиков.

Во второй серии опытов было изучено влияние однократного тотального рентгеновского облучения в дозах 3,5Гр и 4,5Гр на активность КК мозга, печени, селезенки, почек и сыворотки крови крыс в разные пострadiационные сроки. Исходя из данных литературы, в эти сроки ожидалось наиболее выраженные изменения активности ферментов [3,6,8]. Были составлены опытные группы: а – 3,5 Гр/6 сут, б – 3,5 Гр/13 сут, в – 4,5 Гр/6 сут, г – 4,5 Гр/ 13 сут. В качестве контроля были использованы группы интактных животных, соответствующие каждой из перечисленных опытных групп.

Как видно из рис.3а, через 6 сут наблюдаются значительные разнонаправленные изменения уровней активности КК почти во всех исследованных органах: в мозге, сыворотке крови и селезенке подопытных крыс обнаруживается статисти

чески достоверное повышение уровня активности КК примерно на 40-100%; в печени его активность падает на 46 %; в почках уменьшение активности КК по сравнению с контрольным уровнем статистически недостоверно. На 13 сут в мозге и почках наблюдается тенденция возвращения активности КК к исходному уровню (рис.3б); в селезенке уровень активности фермента продолжает возрастать, достигнув 150%-ного превышения над уровнем контроля, тогда как в печени понижение активности сменяется статистически достоверным повышением уровня активности КК по сравнению с контролем почти в 2 раза, а в сыворотке, наоборот, повышение сменяется достоверным понижением уровня активности КК примерно на 25%.



**Рис. 3.** Изменения уровней активности КК в органах крыс, индуцированных сублетальными дозами ионизирующего облучения, в различные пострadiaционные сроки (а – 3,5Гр/6сут, б – 3,5Гр/13сут, в – 4,5Гр/6сут, г – 4,5Гр/13сут); 1 – мозг, 2 – печень, 3 – селезенка, 4 – почка, 5 – сыворотка крови; \* -  $p < 0,05$ )

Во второй серии опытов мы исследовали влияние более высокой дозы облучения, а именно 4,5Гр, и добавили еще 2 пострadiaционных срока – 1-е и 3-е сутки. Оказалось, что однократное облучение в дозе 4,5Гр через сутки индуцирует статистически достоверные изменения уровня активности КК по сравнению с контролем только в селезенке и сыворотке крови: уровень активности КК в селезенке падает в 1,6 раза ( $p < 0,05$ ) и повышается в сыворотке крови почти в 2 раза ( $p < 0,05$ ), причем между этими изменениями имеет место статистически достоверная корреляция ( $p < 0,01$ ). Изменения уровней активности КК в остальных исследованных органах к этому сроку были статистически недостоверными.

Через 3 сут наблюдается обратная картина: в сыворотке крови уровень креатинкиназной активности падает в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ), а в селезенке резко повышается, почти в 5 раз по сравнению с контролем, но корреляции между этими изменениями уже нет. В остальных органах, как и в первые сутки, изменения КК-активности были статистически недостоверными.

На 6 сут в селезенке наблюдается возвращение уровня активности КК к контрольному (рис.3в), а на 13 сут имеет место статистически достоверное, но небольшое повышение активности этого фермента – примерно на 20% (рис.3г). Кроме того, на 13 сут регистрируется статистически достоверное 25%-ное падение уровня активности КК в сыворотке крови подопытных крыс (рис.3-г). В остальных органах изменения уровня активности КК не определяются.

Приведенные данные свидетельствуют об отсутствии прямо пропорциональной зависимости между величиной дозы облучения и величиной изменений уровня активности КК, что отмечалось и для других ферментов [3, 8, 11].

Однако, если учесть фазовость изменений уровня активности КК, связанную, по-видимому, с включением на разных пострadiационных сроках разных адаптационных механизмов клетки, нельзя исключить, что при выборе других сроков может наблюдаться иная картина. Необходимо отметить, что колебательные изменения уровней активности, а также изоферментных спектров и кинетических параметров показаны для ряда ферментов и в целом характерны для пострadiационных биологических эффектов [3, 6, 9, 11]. Таким образом, изменения уровней активности КК различных органов, индуцированные ИР, имеют фазный характер и разнонаправлены как во времени, так и в зависимости от дозы, что свидетельствует о включении в разных органах и на разных этапах различных адаптационных механизмов. При использованных дозах облучения на 13 сут после облучения, за некоторым исключением, для всех исследованных ферментов намечается тенденция восстановления уровней активности до исходного.

Наши данные свидетельствуют о том, что независимо от фактора, которым обусловлен оксидативный стресс, а в данном случае токсическим действием лекарственных препаратов или ИО, активность КК органа-мишени тонко реагирует на воздействие поражающего фактора. При этом наблюдается корреляция между активностью КК пораженного органа и активностью и изоферментным спектром КК сыворотки крови, что указывает на изменение проницаемости клеток органа-мишени. В связи с этим следует отметить недавно полученные данные о значительно более высокой чувствительности КК к оксидативному стрессу, чем ряда других ферментов, в частности, трипсина, РНК-аз, оксидаз D-аминокислот, каталазы и АТФ-азы [14,16].

## ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян Ц.Е., Арутюнян А.Д., Арутюнян Г.Л. и др. Взаимосвязь химическая структура – биологическая активность. Ереван, АН РА, с.92-98, 1998.
2. Агаджанян Ц.Е., Саакян Г.С., Арутюнян Г.Л. и др. Химиотерапия опухолей в СССР. М., Наука, с. 65, 1987.
3. Матюшичев В.Б., Таратухин В.Р., Шамратова В.Г., Южакова Г.А., Петрова Т.А. О биохимических сдвигах в коже крыс, облученных на фоне теплового стресса. Радиобиол. 18, вып.2, с.275-277, 1978.
4. Нагорная Н.В., Четверик Н.А. Влияние на организм человека оксидативного стресса и методы его оценки. Клинические лекции. Здоровье ребенка, 2, вып.23, 2010.
5. Нерсесова Л.С. Определение активности и изоферментного спектра креатинкиназы в сыворотке крови. Методические рекомендации. Ереван. Из-во АН Арм. ССР, 1987.
6. Нагиев Э.Р. Влияние ионизирующей радиации и физ. нагрузки на молекулярную гетерогенность нуклеозидфосфаткиназ в субклеточных фракциях печени. Радиационная биология. Радиоэкол., 35, вып. 4, с. 494-499, 1995.
7. Петрова Т.А., Лызлова С.Н. Оптимизация условий определения активности креатинкиназы колориметрическим методом. Вестник ЛГУ, 24, с.88-90, 1985.
8. Рева А.Д., Живалюк О.Б., Лукьяненко А.И., Егорова Е.Г., Дворецкий А.И. Влияние хронического рентгеновского излучения в малых дозах на активность  $\gamma$ -глутамилтранспептидазы в органах и тканях крыс. Радиационная биология. Радиоэкол., 35, вып.6, с.869-872, 1995.
9. Трещеникова Ю.А., Бурлакова Е.Б. Изменение кинетических свойств альдолазы и лактатгидрогеназы цитоплазмы мозга мышей после хронического  $\gamma$ -облучения в малых дозах. Радиационная биология. Радиоэкол., 37, вып.1, с.3-11, 1997.

10. Хлгатын Дж.С., Нерсесова Л.С., Газарянц М.Г., Меликсетян Г.О., Мкртчян З.С., Погосян Л.Г., С.Р.Костандян, Акоюн Ж.И. Влияние хлоропена и его производных на ферментные системы рабочих, занятых в производстве синтетического каучука. Токсиколог. вест., 2, с.9-15, 2009.
11. Шарыгин В.Л., Пулатова М.К., Шлякова Т.Г., Тодоров И.Н. Временные и дозозависимые пострadiационные изменения в содержании  $PE^{3+}$ -трансферина и  $СИ^{2+}$ -церулоплазмينا в крови животных, их влияние на рибонуклеотидредуктазную активность тканей. Радиц. биол. Радиоэкол., 43, вып. 6, с. 662-677, 2003.
12. Andersen J.K. Oxidative stress in neurodegeneration: cause or consequence? Nature Rev. Neurosci., 5, pp.18-25, 2004.
13. Salomons G.S., Wyss M. Creatine and Creatine Kinase in Health and Disease. Springer., 46, pp 309-335, 2007.
14. Kouřen P., Stark G. Free radical induced inactivation of creatine kinase: sites of interaction, protection, and recovery. Biochim.Biophys.Acta. 1501, 1, pp 44-50, 2000.
15. Lyslova S.N., Stefanov V.E. Phosphagen kinases. CRC Press, Boston. 1991.
16. Malone J., Ullrich R. Novel radiation response genes identified in gene-trapped MCF10A mammary epithelial cells. Radiat. Res. 167, 2, pp.176-184, 2007.

Поступила 19.03.2015

#### Список сокращений

КК- креатинкиназа  
ИР-ионизирующая радиация  
П<sub>1</sub>-1,5-диметил-9-оксо-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонан  
П<sub>2</sub>-2-(2'-гидроксиафтил-1')-5,7-диметил-6-оксо-1,3-диазаадамтан  
ММ – мышечный изофермент креатинкиназы  
ВВ – мозговой изофермент креатинкиназы  
МВ – сердечный изофермент креатинкиназы  
ЭДТА-этилендиаминтетраацетат  
ДТТ- дитиотрейтол  
ДЕАЕ целлюлоза- диэтиламиноэтилцеллюлоза  
Гр-Грей  
ИО-ионизирующее облучение  
АТФ-аденозинтрифосфат  
РНК-рибонуклеиновая кислота



•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ •Экспериментальные и теоретические статьи•  
•Experimental and theoretical articles•

Биолог. журн. Армении, 3 (67), 2015

## ПРИЧИНЫ ИЗМЕНЕНИЙ МОРФОЭКОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ СЕВАНСКОЙ ФОРЕЛИ

Т.В. ВАРДАНИЯН, Н.Э. БАРСЕГЯН

*Институт гидроэкологии и ихтиологии  
Научного Центра Зоологии и Гидроэкологии НАН РА  
vardtigran@mail.ru*

В 2012-2014 гг. проводилось изучение морфологических и экологических параметров севанской форели, а также проводилось сравнение этих параметров в различные периоды наблюдений. Показано, что изменения морфоэкологических параметров севанской форели продолжают и в настоящее время. Причиной этих изменений, по всей вероятности, является искусственное рыборазведение. Однако мероприятия по искусственному разведению севанской форели пока не приводят к более или менее значительному росту их численности.

*Օշ. Շևան – Շևանյան ֆորել – մորֆոէկոլոգիական պարամետրեր*

2012-2014 թթ. կատարվել է Սևանի իշխանի ձևաբանական և էկոլոգիական ցուցանիշների ուսումնասիրություն, ինչպես նաև այդ ցուցանիշների համեմատություն տարբեր տարիների հետազոտության տվյալների հետ: Վերլուծության հիման վրա ցույց է տրվել, որ ներկայումս ևս տեղի են ունենում Սևանի իշխանի էկոլոգաձևաբանական ցուցանիշների փոփոխություններ: Այդ փոփոխությունների պատճառը, ամենայն հավանականությամբ, հանդիսանում է արհեստական ձկնաբուծությունը: Սակայն Սևանի իշխանի արհեստական բուծման միջոցառումները դեռ չեն հանգեցնում նրանց թվաքանակի զգալի աճին:

*Սևանա լիճ – Սևանի իշխան – էկոլոգաձևաբանական ցուցանիշներ*

The study of morphological and ecological parameters of sevan trout was carried out from 2012 to 2014, as well as the comparison of mentioned parameters in different periods of observation was implemented. It was shown that changes in the morpho-ecological parameters of Sevan trout continues today. The causes of such changes are probably the artificial fish farming. However, measures for the artificial breeding of Sevan trout does not lead to more or less significant increase in their number yet.

*Lake Sevan – Sevan trout – morpho-ecological parameters*

Севанская форель – ишхан (*Salmo ischchan* Kessler) является полиморфным видом, состоящим из четырех рас: зимний ишхан – *S. ischchan typicus* Kessler, летний ишхан – *S. ischchan aestivalis* Fortunatov, гегаркуни – *S. ischchan gegarkuni* Kessler, боджак – *S. ischchan danilewskii* Jakowlew [18]. Расы севанской форели отличаются друг от друга не только морфологическими особенностями, но временем и эко-

логией размножения, темпом роста, средними размерами и долей в уловах. Понижение уровня Севана привело к обнажению прибрежной полосы литоральной зоны озера, грунты которой слагались в основном из гальки, гравия и песка и являлись нерестовым субстратом для озерно-нерестующих форелей. Сокращение площади нерестелищ форелей привело к нарушению условий их естественного воспроизводства. Искусственное разведение в этот период являлось почти единственным источником воспроизводства запасов форелей [16]. В 2010 г. севанская форель была включена в Красную книгу Армении как исчезающий вид. Министерство охраны природы Армении в рамках специальной программы каждый год выпускает в оз. Севан мальков 2 рас ишхана – гегаркуни и летнего ишхана.

Целью данной работы являлось изучение изменений морфоэкологических параметров севанской форели в условиях антропогенного воздействия.

**Материал и методика.** Сбор материалов по биологии форели в притоках оз. Севан проводился с 2012 г. по 2014 г. Рыбы вылавливались в речках с помощью мелкоячейной ручной накидки площадью 7,65 м<sup>2</sup>. За исследуемый период было выловлено 30 рыб. Проведен общий морфологический анализ [14]. Анализ изменчивости меристических признаков ишхана был проведен на основании сравнения данных 1927 г. [18], 1963-1964 гг. [6], 1979-1981 гг. [15] и наших сборов 2012-2014 гг.

Были рассчитаны среднее значение признаков ( $M$ ) и ошибка ее репрезентативности ( $m$ ), среднее квадратическое отклонение ( $\sigma$ ), дисперсия ( $\sigma^2$ ), а также пределы и размах варьирования (min-max).

Значение показателя достоверности различий ( $t_0$ ) сравниваемых средних значений признаков вычисляли по формуле

$$t_0 = \frac{|\overline{M}_1 - \overline{M}_2|}{\sqrt{\frac{(n_1 - 1) \times \sigma_1^2 + (n_2 - 1) \times \sigma_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \times \frac{n_1 + n_2}{n_1 \times n_2}}}$$

для  $n_1 \neq n_2$  и числа степеней свободы  $k = n_1 + n_2 - 2$  [7].

Достоверность различий полученных результатов оценивали по таблице стандартных значений критерия  $t$ -Стьюдента для уровня значимости  $p = 0,05$ . Дополнительно рассматривался  $t_{st}$  для  $p = 0,05$  [8, 11].

Рассчитывался также коэффициент различий (CD) [9]

$$CD = \frac{M_1 - M_2}{SD_1 + SD_2} \geq 1,28,$$

где  $M_1$  и  $M_2$  - средние значения признаков,  $SD_1$  и  $SD_2$  - стандартные (среднеквадратические) отклонения этих признаков, 1,28 - принятый показатель подвидового различия.

Оценка показателей дисперсий (показатель изменчивости -  $\sigma^2$ ) признаков проводилась по таблице стандартных значений критерия  $F_{st}$  - Фишера для уровня значимости  $\alpha = 0,05$ . Значение критерия достоверности различий ( $F$ ) определяли по формуле [8]

$$F = \frac{\sigma_1^2}{\sigma_2^2}; \quad (\sigma_1^2 \geq \sigma_2^2).$$

Вариационно-статистическая обработка проводилась по общепринятым методикам с использованием компьютерной программы STATISTICA 8 [8, 12, 13].

**Результаты и обсуждение.** Нами было проведено изучение морфологических и экологических параметров севанской форели, а также было проведено сравнение этих параметров в различные периоды наблюдений.

Независимо от естественного или искусственного происхождения молодь в течение года держится в притоках озера. Если не считать механического сноса во время бурных паводков, нормальный скат молоди происходил по достижении рыб 8-10 см длины. Часть молоди может скатываться и до достижения указанных выше размеров [4].

По данным Владимирова и Дадикияна [3, 5], молодь форели в притоках Севана держалась не более 12 месяцев. К концу этого срока, как правило, скат мальков из рек в озеро полностью завершался. Как сачком, так и накидкой добывалась молодь только в возрасте 0+, ни одной рыбы в возрасте 1+ обнаружено не было. Молодь гегаркуни в речках держалась не больше года, а молодь летнего ишхана – не больше полугода. Согласно данным Пивазяна, молодь форели обитала в притоках от 6 до 19 месяцев, скат ее в озеро продолжался в течение 13 месяцев [10].

В 1971-1972 гг. молодь форели в притоках озера по сравнению с 30-ми и 50-ми годами задерживалась на 7-10 месяцев дольше. В настоящее время молодь форели успевает стать половозрелой в этих же притоках (стадия зрелости половых продуктов III-IV), и возможно, ската этих рыб в озеро уже не происходит. Это явление может быть обусловлено тем, что во время выпуска мальков ишхана с рыбободных заводов в озеро и речки с ними могут попадать и гибриды с ручьевой форелью, которая является типично речной рыбой. По внешним признакам эти гибриды похожи и на ручьевую и на севанскую форель. Об этом свидетельствуют их морфологические изменения. К числу наиболее важных диагностических признаков у рас севанской форели Фортунатов [18] считает меристические, по которым половой диморфизм не выражен – число чешуй в боковой линии и жаберных тычинок. С 1923 г. средние значения числа чешуй в боковой линии у рас ишхана варьировали незначительно. Однако в 2012-2014 гг. отмечено достоверное увеличение значений этого признака. В 2012-2014 гг. дисперсия числа жаберных тычинок достоверно увеличилась. Коэффициент различий между значениями признаков числа чешуй в боковой линии и жаберных тычинок в 1927, 1963-1964, 1979-1981 и 2012-2014 гг. не превышает 1,28 (табл. 1, 2).

**Таблица 1.** Морфологические параметры различных рас севанской форели бассейна оз.Севан

Формы севанской форели	Год	I.I.		D	A	Число жаберных тычинок		Автор
		lim	M±m			lim	M±m	
Речная форма севанской форели	1936-1938	106-115	110,80±0,24	IV-V 8-10	III-V 7-8	17-22	19,68±0,18	Владимиров, 1944
Гегаркуни	1927	104-117	110,78±0,24	III 9	III 8-9	15-22	19,65±0,11	Фортунатов, 1927
	1963-1964	103-113	107,44±0,24	-	-	19-23	21,70±0,11	Дорофеева, 1968
	1979-1981	96-128	110,93±0,68	-	-	16-24	20,94±0,14	Савваитова и др., 1989
Летний ишхан	1927	105-117	111,09±0,22	III 9	III 8-9	16-21	18,60±0,09	Фортунатов, 1927
	1963-1964	105-115 (118)	109,40±0,46	-	-	18-24	20,06±0,20	Дорофеева, 1968
	1979-1981	105-127 (130)	115,15±0,45	-	-	16-24	20,39±0,12	Савваитова и др., 1989
Зимний ишхан	1927	108-119 (122)	113,00±0,24	III (IV) 8-9 (10)	III 8-9	16-20(22)	18,33±0,10	Фортунатов, 1927
	1963-1964	104-118	110,00±0,33	-	-	18-24	20,72±0,15	Дорофеева, 1968
	1979-1981	-	-	-	-	-	-	Савваитова и др., 1989
Боджак	1927	105-118	111,78±0,31	III 9	II-III 8-9	15-20	17,57±0,10	Фортунатов, 1927
	1963-1964	103-118	108,59±0,35	-	-	18-24	18,38±0,12	Дорофеева, 1968
	1979-1981	(100) 102-120	110,35±0,30	-	-	17-23	19,30±0,09	Савваитова и др., 1989
Севанская форель	2012-2014	105-135 (140)	116,25±3,16	III-IV 7-10 (12)	III-IV 7-10	18-25	21,29±0,99	Наши данные

Кроме вышеупомянутых признаков, изменилось также число лучей в спинном и анальном плавниках (табл. 1). По мнению некоторых авторов, эти изменения обусловлены резкими изменениями условий воспроизводства, и в первую очередь температурного режима, а также сроков и мест нереста [15]. Известно, что изменение температуры в период нереста и эмбриогенеза влияет на число некоторых меристических параметров [17].

**Таблица 2.** Показатели достоверности различий сравнимых средних значений ( $t_p$ ), дисперсии (F) и коэффициента различий (CD) меристических признаков севанской форели (по данным 1927, 1963-1964, 1979-1981 и 2012-2014 гг.)

Показатели	I.I.			Показатели	Число жаберных тычинок		
	I-II	I-III	I-IV		I-II	I-III	I-IV
$t_p=1,98$ для ( $p=0,05$ )	4,30	6,74	2,35	$t_p=1,98$ для ( $p=0,05$ )	2,39	0,35	0,58
F=1,85 для ( $\alpha=0,05$ )	17,7 6	22,4 9	2,54	F=2,03 для ( $\alpha=0,05$ )	2,42	7,69	3,34
CD	0,40	0,66	0,30	CD	0,38	0,11	0,09

Обозначения: I – 2012-2014 гг., II – 1927 г., III – 1963-1964 гг., IV – 1979-1981 гг.

По данным Владимирова [2] произошли изменения в экологии нереста зимнего ишхана и гегаркуни. В отношении зимнего ишхана [2] причиной подобных изменений являлось искусственное рыборазведение, нарушившее прежний ход жизни форели. Часть популяции зимнего ишхана за очень короткий промежуток времени коренным образом изменила свои жизненные навыки и превратилась из генеративно-озерной в генеративно-речную. Исследования Владимирова [2] доказывают, что нерест гегаркуни в озере действительно происходил, часто встречались рыбы, обладающие промежуточными морфологическими признаками зимнего ишхана и гегаркуни. Типичный зимний ишхан имел булавовидные или толстые и короткие жаберные тычинки, в то время как у гегаркуни они длинные, тонкие и острые. Жаберные тычинки “промежуточных” рыб были короткие и острые. Нижняя челюсть у зимнего ишхана короткая: обычно верхняя челюсть выдается над ней, тогда как у гегаркуни она длинная – заходит за верхнюю. У “промежуточных” рыб нижняя челюсть кончается наравне с верхней. Эти промежуточные рыбы, по всей вероятности, являлись помесью зимнего ишхана с гегаркуни [2].

В исследованиях Маркаряна указано, что воспроизводство рас ишхана осуществлялось только искусственным путем. Прежде всего сместились сроки и места размножения рас форели, изменились характер роста, продолжительность жизни, возраст наступления половой зрелости, соотношение полов в популяциях, пищевой спектр, распределение в водоеме, катастрофически снизилась численность [15].

Изменения морфологических и экологических параметров севанской форели продолжают и в настоящее время. Причиной этих изменений, по всей вероятности, является искусственное рыборазведение. Однако мероприятия по искусственному разведению севанских форелей с дальнейшим выпуском мальков в озеро пока не приводит к более или менее значительному росту их численности.

В отличие от генетических последствий заводского разведения, которые могут проявляться в нескольких поколениях, пока через адаптацию к местным условиям обитания не произойдет естественный отбор популяции во время естественного воспроизводства, большинство экологических последствий будет сокращаться с улучшением условий естественного размножения. Таким образом, на основа-

нии морфологического и экологического анализа можно предположить, что в настоящее время популяция ишхана в озере Севан представляет собой динамичную, полиморфную группировку, полученную от скрещивания в рыбзаводах и выпущенную в озеро и речки.

На основе результатов проведенных исследований, в целях восстановления популяции севанской форели – летнего ишхана и гегаркуни, необходимо в рыбзаводах выбирать генетически чистых воспроизводителей для получения мальков севанской форели, которые в дальнейшем будут выпускаться в озеро и речки.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Владимиров В.И.* Речная форма севанских форелей *Salmo ischchan* Kessler *morpha alabalach* nova. Изв. АН АрмССР, 3, с. 61-72, 1944.
2. *Владимиров В.И.* Об изменениях в экологии нереста у севанских форелей. Изв. Арм. фил. АН СССР, 17-18, 3-4, с. 157-165, 1942.
3. *Владимиров В.И.* К изучению биологии молоди и размножения форели-гегаркуни. Тр. Севанской гидробиол. станции, Изд-во АН АрмССР, 6, с. 87-118, 1940.
4. *Дадикян М.Г.* Рыбы Армении. Изд-во АН Арм. ССР. Ереван, 245 с., 1986.
5. *Дадикян М.Г.* Материалы по биологии молоди ишхана в речной период жизни. Биолог. журн. Армении, 28, 12, с. 12-20, 1975.
6. *Дорофеева Е.А.* Изменчивость некоторых систематических признаков в эволюции севанских форелей (*Salmo ischchan* Kessler). Вопр. ихтиологии, 8, вып. 1 (48), с. 45-53, 1968.
7. *Лакин Г.Ф.* Биометрия. Г.Ф. Лакин. Высшая школа, М., 350 с., 1990.
8. *Лакин Г.Ф.* Биометрия, Высш. школа, М., Вып. 2, 343 с., 1973.
9. *Майр Э.* Принципы зоологической систематики. Изд-во "Мир", М., 454 с. 1971.
10. *Пивазян С.А.* К изучению биологии молоди севанской форели в речной период ее жизни. Тр. Севанской гидробиол. станции, Изд-во АН АрмССР, Ереван, 17, с. 162-171, 1979.
11. *Плохинский Н.А.* Биометрия. Изд-во "Наука", Новосибирск, 364 с., 1961.
12. *Плохинский Н.А.* Биометрия. Изд. МГУ, М., 368 с., 1970.
13. *Плохинский Н.А.* Алгоритмы биометрии. Изд. МГУ, М., 150 с., 1980.
14. *Правдин И.Ф.* Руководство по изучению рыб. Изд-во "Пищевая промышленность", М., 376 с., 1966.
15. *Савватова К.А., Дорофеева Е.А., Маркарян В.Г., Смолей А.И.* Форели озера Севан. Труды Зоологического института АН СССР, Л., 204, 180 с., 1989.
16. *Смолей А.И.* Биология и запасы севанских форелей в условиях понижения уровня оз. Севан Автореф. канд. дис., Ереван, 21 с., 1968.
17. *Татарко К.И.* Влияние температуры на меристические признаки рыб. Вопр. Ихтиологии, 8, Вып. 3 (50), с. 425-439, 1968.
18. *Фортунатов М.А.* Форели Севанского озера *conspecies Salmo ischchan* Kessler. Тр. Севан. озерной станции, 1, Вып. 2, 131 с., 1927.

Поступила 18.02.2015



•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ •Экспериментальные и теоретические статьи•  
•Experimental and theoretical articles•

Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 3(67), 2015

**LYCIUM BARBARUM-Ի ԱԶՂԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՖՐՈՒԿՏՈԶՈՎ  
ՀԱՐՍՏԱՑՎԱԾ ՍՆՈՒՆԴ ՍՏԱՑՈՂ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ՎՆԱՍՎԱԾ  
ՆՏԱՆՑԱՐԴԻ ՎԵՐԱԿԱՆԳՆՄԱՆ ԳՈՐԾԱՌՈՒԹՅԱՅԻՆ  
ՑՈՒՑԱՆԻՇՆԵՐԻ ՎՐԱ**

**Լ.Գ. ԱՎԵՏԻՍՅԱՆ**

*ՀՀ ԳԱԱ Լ. Ա. Օրբելու անվան ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտ ներդնդոկրին  
փոխհարաբերությունների լաբորատորիա  
lilitavetisyan23@mail.ru*

Ֆրուկտոզով հարստացված սնունդ ստացող առնետների մոտ (50% ֆրուկտոզ 9 շաբաթվա ընթացքում) հետազոտվել են հետին վերջույթների շարժողական և զգայական գործառույթների վերականգնման ցուցանիշները նստանյարդի ճմլում-վնասումից հետո: Համաձայն ծալման ռեֆլեքսի թեստի (զգայական գործառույթի քանակական ցուցանիշ)՝ Ֆրուկտոզ+ճմլում+*Lycium barbarum* խմբում վնասված վերջույթի զգայունության վերականգնումը տեղի է ունեցել վնասումից 5 օր անց, մինչդեռ Ֆրուկտոզ+ճմլում խմբում վերականգնումը դիտվել է վնասումից 18 օր անց: Համաձայն Ֆրուկ-տոզ+ճմլում+ *Lycium barbarum* խմբում նստանյարդի ստատիկական ցուցիչի (շարժողական գործառույթի քանակական ցուցանիշ)՝ զգալի և հավաստի վերականգնում տեղի է ունեցել վնասումից 14 օր անց: Ֆրուկտոզ+ճմլում խմբում նշված ցուցանիշների դինամիկան վկայում է շարժողական գործառույթի ոչ հավաստի ժամանակավոր վերականգնման և հետագա վատ-թարացման միտման մասին: Այսպիսով, առնետների նստանյարդի վնասվածքների դեպքում *Lycium barbarum*-ը (հազագ) գործառութային էլքի բարելավման ներուժ ունեցող միջոց է:

*Նստանյարդի ճմլում-վնասում – ֆրուկտոզ – Lycium barbarum*

У крыс, получавших корм, обогащенный фруктозой (50% фруктозы в течение 9 недель), исследовали динамику показателей восстановления моторной и чувствительной функций задних конечностей после краш-повреждения седалищного нерва. Согласно тесту флексорного рефлекса (количественному показателю чувствительной функции), в группе Фруктоза+Краш+*Lycium barbarum* восстановление чувствительности поврежденной конечности имело место спустя 5 сут после повреждения, в то время как в группе Фруктоза+Краш восстановление наблюдалось спустя 18 сут. Согласно статическому седалищному индексу (количественному показателю двигательной функции), в группе Фруктоза+Краш+*Lycium barbarum* достоверно значимое восстановление имело место спустя 14 сут после повреждения. В группе Фруктоза+Краш динамика отмеченных показателей свидетельствует о недостоверном временном восстановлении и последующей тенденции ухудшения. *Lycium barbarum* (дереза) потенциальный кандидат для улучшения функционального исхода при травмах седалищного нерва у крыс.

*Краш-повреждение седалищного нерва – фруктоза – Lycium barbarum*

The dynamics of the recovery of motor and sensory functions of the hind limbs after sciatic nerve crush injury was studied in rats fed a fructose-rich diet (50% fructose for 9 weeks). According to the test flexor reflex (quantitative indicator of sensory function) in Fructose+Crush+*Lycium barbarum* group of rats the recovery of sensitivity of injured limb occurred after 5 days following injury, while in Fructose+Crush group the recovery was observed after 18 days. According to the Static Sciatic Index (quantitative indicator of motor function) in Fructose+Crush+*Lycium barbarum* group there is reliable significant recovery after 14 days following injury. In Fructose+Crush group the dynamics of the mentioned indicators show the unreliability of recovery time and the subsequent deteriorating trend. *Lycium barbarum* is a potential candidate for the repair of functional outcome of the injured sciatic

*Sciatic nerve crush injury – fructose – Lycium barbarum*

Ֆրուկտոզի մեծ քանակի գործածումը գուգորդվում է նյութափոխանակային համախտանիշի հետ, որն առաջացնում է կենտրոնական և ծայրամասային նյարդային համակարգերի գործառության փոփոխություններ [19]: Գերշաքարարյունությունը, ինսուլինային կայունությունը և լիպիդեմիան շաքարախտի անբաժանելի բաղադրիչներ և ծայրամասային նեյրոպատիաների ռիսկի կարևոր գործոններ են [1]: Ժամանակակից հետազոտություններն ապացուցում են ինսուլինի և նրա նյութափոխանակային խանգարումների դերը ծայրամասային նյարդերի նեյրոպատիաների զարգացման գործընթացում: I և II տեսակի շաքարախտի ժամանակ ծայրամասային նյարդային համակարգը կենտրոնական նյարդային համակարգի համեմատ ավելի մեծ չափով է վնասվում [14]:

Գլյուկոզի նյութափոխանակությունը սորբիտային ճանապարհով սերտ կապված է շվանյան բջիջների հետ, սակայն դեռևս բացահայտված չէ՝ արդյո՞ք այդ բջիջների փոփոխությունները կենսաքիմիական խանգարման ցուցանիշ են, թե՞ ֆիզիոլոգիական գործառության խանգարման պատճառ [14]: Բացի այդ, ծայրամասային նյարդերը օժտված են ֆրուկտոզի պաշարման սահմանափակ հնարավորությամբ [18]: Գլյուկոզի նյութափոխանակության սորբիտոլային ուղու որոշ արգասիքներ հայտնաբերվել են սորեպտոզոցինային շաքարախտով առնետների ծայրամասային նյարդերում և ողնուղեղում [19]: Ծայրամասային նյարդերում սորբիտոլային ուղու արգասիքների կուտակումը առաջացնում է շվանյան բջիջների գործառության խանգարում [11], մասնավորապես հատվածային միելինազրկման տեսքով [19], որն էլ իր հերթին շաքարախտով հիվանդ կենդանիների նյարդերում նպաստում է ազդակների հաղորդման արագության նվազմանը [9]:

*Lycium barbarum*-ը ավանդական բժշկության մեջ երկար ժամանակ օգտագործում էին որպես շաքարային դիաբետի բուժման միջոց [12]: *Lycium barbarum*-ը համարվում է բնական հումք և դիաբետ բուժող ներուժ ունեցող միջոց. Արդյունավետությունն ապահովող բաղադրիչներ են համարվում բազմաշաքարները [13]:

Նպատակ ունենալով հետազոտել առնետների վնասված նստանյարդի վերականգնումը ֆրուկտոզով առաջացրած նյութափոխանակային շեղումների՝ մեկուսի և *Lycium barbarum*-ի պտուղների օգտագործմամբ գուգորդված պայմաններում՝ այս աշխատանքում ուսումնասիրվել են հետին վերջույթի ծավման ռեֆլեքսի և նստանյարդի ստատիկական ցուցիչի ցուցանիշները ճնշում-վնասումից հետո 1-28 օրերի ընթացքում:

**Նյութ և մեթոդ:** Հետազոտությունները կատարվել են սպիտակ սեռահասուն արու առնետների վրա երեք խմբերում (հինգական կենդանի յուրաքանչյուր խմբում)՝ ճնշում, Ֆրուկտոզ+ճնշում, Ֆրուկտոզ+ճնշում+*Lycium barbarum*: Ֆրուկտոզ+ճնշում, Ֆրուկտոզ+ճնշում *Lycium barbarum* խմբերի կենդանիները ջրի հետ վեց շաբաթ շարունակ ստացել են 50% ֆրուկտոզ, որից հետո կատարվել է նստանյարդի ճնշում-վնասում: Կենդանիները վիրահատությունից հետո 28 օր շարունակել են ֆրուկտոզ ստանալ: *Lycium barbarum*-ի 350 մգ/կգ չափաբաժնով մանրացված պտուղները ստացել են սննդի հետ վիրահատությունից հետո 21 օր շարունակ: Ճնշում խմբում նստանյարդի ճնշում-վնասումն իրականացվել է ինտակտ կենդանիների վրա:

Չախակողմյան նստանյարդի ճնշումը ազդրի վերին երրորդ մասում կատարվել է նեմբուտալային (40 մգ/կգ ն/վ) անզգայացման պայմաններում՝ 30 վայրկյանի ընթացքում արյունահոսությունը կասեցնող սեղմիչով առաջին ատամի դիրքով սեղմման արդյունքում [3]: Այնուհետև կատարվել է մաշկի և մկանային շերտի ամբողջականության վերականգնում և Բիցիլին-3-ի ենթամաշկային ներարկում: Նստանյարդի ճնշումից 28 օր անց ճնշում, Ֆրուկտոզ+ճնշում, Ֆրուկտոզ+ճնշում *Lycium barbarum* խմբերում անցկացվել է զգայական և շարժողական գործառնությունների վերականգնման դինամիկայի համեմատական վերլուծություն՝ հիմնվելով, համապատասխանաբար, ծալման ռեֆլեքսի թեստի և նստանյարդի ստատիկական ցուցիչի ցուցանիշների վրա: Ծալման ռեֆլեքսի թեստն անցկացվել է 2 մմ միջլեկտրոդային հեռավորությամբ 1 մմ տրամագծով 2 պղնձե մետաղալարերով կազմված երկբևեռ էլեկտրոդով հետին թաթերի ներքանների արտաքին կողմը հաստատուն հոսանքով գրգռելու ճանապարհով [8]: Այս թեստի թվային ցուցանիշ ծառայել է հոսանքի ուժի (mA) շեմային այն մեծությունը/արժեքը, որն առաջացրել է ծալման ռեֆլեքս վնասված և առողջ վերջույթներում:

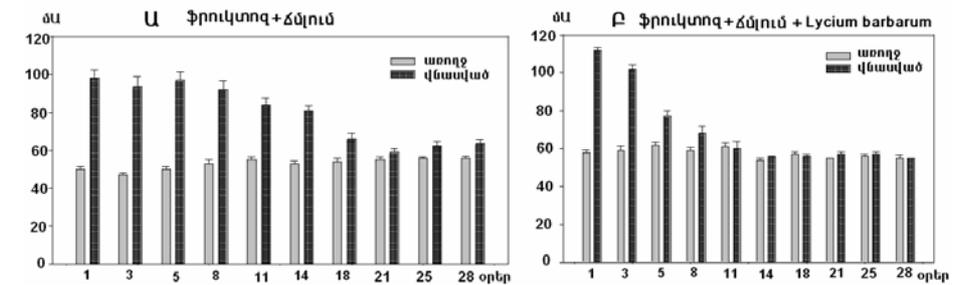
Բոլոր քանակական արժեքները (մեծությունները) ներկայացված են որպես միջինացված արժեքներ  $\pm$ SEM 5 կենդանու համար՝ համաձայն Ստյուդենտի t-չափանիշի: Տարբերությունները համարվել են վիճակագրորեն հավաստի, երբ  $p < 0,05$ -ից:

Նստանյարդի ստատիկական ցուցիչի տվյալները ստանալու համար առնետները տեղադրվել են ապակե հատակով պլաստիկ արկղի մեջ և 5 րոպե գտնվել հանգստի վիճակում՝ հարմարման նպատակով: Այնուհետև թվային տեսախցիկի օգնությամբ անցկացվել են հետին թաթերի մակերեսների նկարահանումներ հանգստի պատահական ժամանակահատվածներում [2]: Այնուհետև պատահական ընտրված 3 նկարներ փոխադրվել են Adobe Photoshop ծրագրի գծագրական հենահարթակ և Ֆրանոն: գործիքի օգնությամբ չափվել առնետների թաթերի պարամետրերը, մասնավորապես առողջ և վնասված ոտնաթաթերի I-V մատների (toe-spread-TS) և II-IV մատների (intermediate toe-spread-ITS) լայնքով՝ հաջորդաբար հաշվարկելով յուրաքանչյուր կողմի համար յուրաքանչյուր պարամետրի միջին թվաքանակները MS Excel հենահարթակում: Նստանյարդի ստատիկական ցուցիչը հաշվարկվել է հատուկ մշակված բանաձևով [2]՝  $SSI = (108,4 \times TSF) + (31,85 \times ITSF) - 5,49$ , որտեղ TSF (I-V մատների լայնության գործոնը) =  $TS$  վնասված-TS առողջ / TS առողջ, իսկ ITSF (II-IV մատների լայնության գործոնը) =  $ITS$  վնասված-ITS առողջ / ITS առողջ: Տվյալների վիճակագրական վերլուծությունն իրականացվել է SigmaPlot 11.00 ծրագրի օգնությամբ (տվյալները վերլուծվել են one-way ANOVA-ի օգտագործմամբ): Բոլոր քանակական արժեքները ներկայացված են որպես միջինացված արժեքներ  $\pm$ SEM 5 կենդանու համար: Արժեքները, որոնց  $p < 0,05$ -ից, համարվել են վիճակագրորեն հավաստի:

**Արդյունքներ և քննարկում:**

*Առողջ և վնասված վերջույթների զգայական գործառնության ուսումնասիրության դինամիկական նստանյարդի միակողմանի ճնշումից հետո*

Համաձայն ծալման ռեֆլեքսի թեստի՝ զգայական գործառնության քանակական թեստի ցուցանիշների՝ Ֆրուկտոզ+ճնշում խմբում նստանյարդի վնասումից 1 օր անց վնասված վերջույթում զգայունությունը էլեկտրական հոսանքի նկատմամբ զգալիորեն նվազում է (հեռացման ռեֆլեքսի ցուցանիշը կազմում է  $98 \pm 4,6$  մԱ;  $p = 0,17$  unpaired t test)՝ համեմատած առողջ վերջույթի նույն ցուցանիշների հետ (հեռացման ռեֆլեքսի ցուցանիշը կազմում է  $50 \pm 1,6$  մԱ;  $p = 0,33$ ) (նկ. 1. Ա): Ճնշում-վնասումից հետո՝ 28-րդ օրը, առողջ և վնասված վերջույթներում այդ ցուցանիշները զգալիորեն նվազում են ( $56 \pm 1$  մԱ;  $p < 0,05$ ՝ առողջ վերջույթի համար և  $63,5 \pm 2,2$  մԱ;  $p = 0,75$ ՝ վնասված վերջույթի համար) (նկ. 1. Ա):



**Նկ.1.** Առողջ և վնասված թաթերում (հետին վերջույթներ) ծալման ռեֆլեքս առաջացնող էլեկտրական խթանման միջին ցուցանիշները (մԱ) Ֆրուկտոզ+ճվում (Ա), Ֆրուկտոզ+ ճվում *Lycium barbarum* խմբերում (Բ) 1-28 օրերի ընթացքում նստանյարդի միակողմանի ճվումից հետո

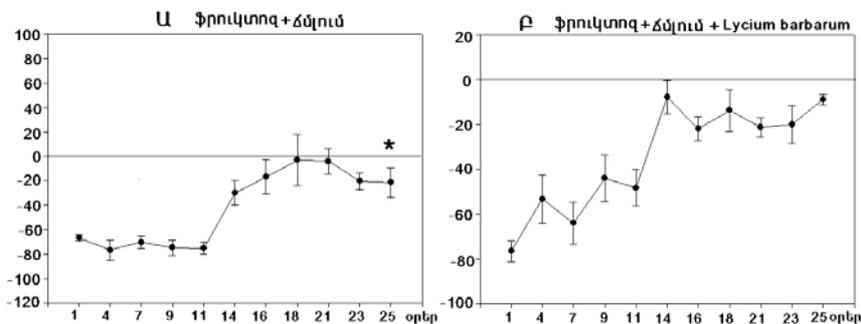
Այսինքն՝ Ֆրուկտոզ+ճվում խմբում ցույց է տրված վնասված վերջույթի զգայական գործառույթի ինքնաբերական վերականգնում վնասումից 28 օր անց: Նշենք, որ ճվում խմբում ծալման ռեֆլեքսի ցուցանիշը վնասված վերջույթում վնասումից 1 օր անց կազմում էր  $100,76 \pm 2,3$  մԱ ( $p < 0,0001$ ), իսկ 28 օր անց՝  $90,6 \pm 5,3$  մԱ ( $p = 0,09$ ):

Ֆրուկտոզ+ճվում+*Lycium barbarum* խմբում նստանյարդի միակողմանի ճվումից 5 օր անց առողջ և վնասված վերջույթներում նկատվել է ծալման ռեֆլեքս առաջացնող հոսանքի մեծության ցուցանիշների հավասարեցման միտում (նկ. 1. Բ): Այսպես, էթե ճվում-վնասումից 1 օր անց 5 առնետի համար առողջ և վնասված թաթերի միջինացված ցուցանիշները կազմում էին համապատասխանաբար  $58 \pm 1,2$  և  $112 \pm 1,2$  մԱ, ապա 5-րդ օրը՝  $62 \pm 1,2$  և  $77 \pm 3$  մԱ, իսկ 11-րդ օրվանից սկսած՝ համապատասխանաբար  $61 \pm 1,9$  և  $60 \pm 3,5$  մԱ: Ճվում-վնասման 28-րդ օրը այս ցուցանիշները կազմում էին  $55 \pm 1,6$  առողջ վերջույթում և  $55 \pm 0$ ՝ վնասված վերջույթում: Այսինքն՝ ծալման ռեֆլեքսի թեստի ցուցանիշները ֆրուկտոզի միջոցով նյութափոխանակային համախտանիշ առաջացրած առնետների մոտ նստանյարդի ճվումից հետո ցույց են տվել վնասված վերջույթի զգայունության շեմի զգալի բարձրացում (1-15 օր) և առողջ ու վնասված վերջույթների զգայունության հավասարեցման միտում (18-28 օր)՝ հետին վերջույթի ներքանի էլեկտրական խթանման ժամանակ: Ֆրուկտոզ+ճվում+*Lycium barbarum* խմբում ցույց է տրված վնասված վերջույթի զգայական գործառույթի վերականգնում վնասումից 11 օր անց:

*Վնասված վերջույթի շարժողական գործառույթի վերականգնման փոփոխությունների դինամիկայի ուսումնասիրությունը նստանյարդի միակողմանի ճվումից հետո*

Համաձայն նստանյարդի ստատիկական ցուցիչի (ՆՍՑ) միջինացված ցուցանիշների՝ ճվում-ստուգիչ խմբում շարժողական գործառույթը կտրուկ վատթարանում է արդեն իսկ ճվում-վնասման հենց հաջորդ օրը (ՆՍՑ= $-77,4 \pm 6,27$ ;  $p = 0,13$ ), և վատթարացման միտումը պահպանվում է մինչև 25-րդ օրը (ՆՍՑ= $-80,2 \pm 1,46$ ;  $p = 0,20$ ):

Ֆրուկտոզ+ճվում խմբում շարժողական գործառույթի ցուցանիշները զգալիորեն վատթարացել են մինչև 11-րդ օրը և կազմել  $-75,16 \pm 4,67$  ( $p = 0,25$ ): Ճվում-վնասման 18-րդ օրը ՆՍՑ= $-3,04 \pm 20,86$  ( $p = 0,24$ ) (նկ. 2. Ա):



**Նկ.2.** Հետին վերջույթների նստանյարդի ստատիկական ցուցիչի (ՆՍՑ) (ստատիկական շարժողական գործառույթի թեստ) միջինացված ցուցանիշները Ֆրուկտոզ+ճվում (Ա) և Ֆրուկտոզ+ճվում+ *Lycium barbarum* (Բ) համեմատվող խմբերում՝ 1-25 օրերի ընթացքում նստանյարդի միակողմանի ճվումից հետո: Հորիզոնական ուղիղը (0 մակարդակում) նախափորձ-հատական մակարդակն է կամ առողջ և վնասված թաթերի միջև տարբերության բացակայությունը

18-25 օրերի ընթացքում դրսևորվել է շարժողական գործառույթի վերականգնման վատթարացման միտում, քանի որ ՆՍՑ-ի ցուցանիշները 25-րդ օրը կազմել են  $-21,30 \pm 12,12$  ( $p=0,07$ ) (նկ. 2 Ա): Ֆրուկտոզ+ճմլում *Lycium barbarum* խմբում նստանյարդի ճմլումից հետո՝ 14-րդ օրը, ՆՍՑ= $-7,84 \pm 7,47$  ( $p=0,2$ ): Շարժողական գործառույթի արագացված վերականգնումը պահպանվում է նստանյարդի ճմլումից հետո մինչև 25-րդ օրը (ՆՍՑ= $-8,9 \pm 2,40$ ;  $p=0,9$ ) (նկ. 2. Բ): Այսինքն՝ Ֆրուկտոզ+ճմլում խմբում բացահայտվել են շարժողական գործառույթի ստատիկական ցուցանիշների հաստատուն վատթարացում մինչև 11-րդ օրը և նույն ցուցանիշների մասնակի վերականգնում 18-րդ օրը, ինչպես նաև շարժողական գործառույթի վերականգնման կրկնակի վատթարացման միտում նստանյարդի ճմլումից 21 օր անց: Ֆրուկտոզ+ճմլում *Lycium barbarum* խմբում ճմլումից արդեն իսկ 14 օր անց բացահայտվել է շարժողական գործառույթի նորմային համապատասխանող ցուցանիշների վաղաժամ վերականգնում և շարժողական գործառույթի վերականգնման պահպանման միտում նստանյարդի ճմլումից 25 օր անց:

Նստանյարդը հիմնականում ապահովում է հետին վերջույթների նյարդավորումը: Նյարդի վնասումից հետո ինչպես շարժողական, այնպես էլ զգայական աքսոնները վերականգնման (ռեգեներացիայի) ընդունակություն ունեն և հատուկ ճանապարհների ստեղծումը միացնում է նրանց թիրախների հետ, այլ կերպ ասած՝ տեղի է ունենում գործառութային վերականգնում: Կարևոր է նշել, որ անգամ ամենաբարենպաստ միջավայրի պայմաններում տեղի է ունենում հեռադիր ծայրատի անկանոն վերականգնում [4]:

Խառը գործառութներով նյարդի զգայական և շարժողական բաղադրիչների վերադասավորումը համարվում է վնասվածքի համընդհանուր հետևանքը: Շարժողական խանգարումների վերջնական պատճառը վնասման դեպքում հանդիսանում է նեյրոնների դեգեներացիան [10] և սինապսների կորուստը [20], իսկ վերջնական արդյունք կարող են լինել աքսոնային ոչ գործառութային միավորները:

Արյան մեջ գլյուկոզի մակարդակի արդյունավետ վերահսկողությունը հիմնարար քայլ է համարվում շաքարախտային բարդությունների կանխման և վերացման, ինչպես նաև I և II տեսակի շաքարային դիաբետով հիվանդների կյանքի որակի բարելավման համար [6]: Հայտնաբերված է *Lycium barbarum*-ի բազմաշաքարների ֆրակցիայի հակադեբաշաքարայունային ակտիվությունը [7]: Ապացուցված է նաև, որ *Lycium barbarum*-ի բազմաշաքարները չեն ցուցաբերել թունավոր ռեակցիաներ և կարող են հանդես գալ որպես բնական հումք շաքարախտի բուժման նոր միջոցների մշակման համար [7]: Մյուս կողմից՝ օքսիդատիվ սթրեսը դիաբետի ախտաբանական խանգարումների բազմաթիվ մեխանիզմները կապող ընդհանուր ուղի է [17]: Վերջին ժամանակներս զգալի հետաքրքրություն է նկատվում սինթետիկ հակաօքսիդանտներին փոխարինող բուսական հումքից բնականների հայտնաբերումը: Գիտական հաշվե-տվությունները և լաբորատոր հետազոտությունները ցույց են տալիս, որ բույսերը պարունակում են հակաօքսիդանտային ակտիվությամբ օժտված բազմաբնույթ նյութեր [5]: *Lycium barbarum*-ի դրական ազդեցությունը դիաբետի ժամանակ նույնպես պայմանավորված է նրա հակաօքսիդանտային ակտիվությամբ [15]: *Lycium barbarum*-ի պտուղների ուսումնասիրությունները կենտրոնացված են հիմնականում պրոտեոզի-կանների վրա՝ հայտնի որպես “*Lycium barbarum*-ի բազմաշաքարներ”, որոնք ցուցաբերում են հակաօքսիդանտային և այլ դեղաբանական հատկություններ այնպիսի տարի-քային հիվանդությունների դեպքում, ինչպիսին են աթերոսկլերոզը և դիաբետը [16]:

Ներկայացված փորձարարական տվյալները հաստատում են գրական տվյալները և թույլ են տալիս մատնանշել *Lycium barbarum*-ի դերը առնետների նստանյարդի վնասվածքների ժամանակ գործառութային ելքի բարելավման գործընթացում:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Anderson N.J., King M.R., Delbruck L., Jolivald C.G.* Role of insulin signaling impairment, adiponectin and dyslipidemia in peripheral and central neuropathy in mice. *Dis Model Mech.*, 7, 6, p.625-33, 2014.
2. *Bervar M.* Video analysis of standing – an alternative footprint analysis to assess functional loss following injury to the rat sciatic nerve. *J. Neurosci. Methods.*, 102, p.109-16, 2000.
3. *Bridge P.M., Ball D.J., Mackinnon S.E., Nakao Y., Brandt K., Hunter D.A., Hertl C.* *Exp. Neurol.*, 127, 2, p.284-290.
4. *Campbell W.W.* Evaluation and management of peripheral nerve injury. *Clin. Neurophysiol.*, 119, p.1951-65, 2008.
5. *Chanwithesuk A., Teerawutgulrag A., Rakariyatham N.* Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. *Food Chem.*, 92, p. 491-7, 2005.
6. *Chen J., Li W.L., Wu J.L., Ren B.R. and Zhang H.Q.* Hypoglycemic effects of a sesquiterpene glycoside isolated from leaves of loquat (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.). *Phytomedicine*, 15, p. 98-102, 2008.
7. *Cui G., Jing L., Feng Q., Xiao Y., Putheti R.* Anti-hyperglycemic Activity of a Polysaccharide fraction from *Lycium barbarum*. *Afr. J. Biomed. Res.*, 13, p.55-59, 2010.
8. *Dijkstra J.* Methods to evaluate functional nerve recovery in adult rats: walking track analysis, video analysis and the withdrawal reflex. *J. Neurosci. Methods.*, 96, p.89-96, 2000.
9. *Eliasson S.G.* Nerve conduction changes in experimental diabetes. *J. Clin. Invest.*, 43, 2353, 1964.
10. *Farooqui A.A.* Neurochemical aspects of neurotraumatic and neurodegenerative diseases. Springer, New York, 2010.
11. *Gabbay K.H., O'Sullivan J.B.* The sorbitol pathway: Enzyme localization and content in normal and diabetic nerve and cord. *Diabetes*. 17, 239, 1968,
12. *Jin L.E., Xie X.M., Chang L.P.* Studies on Extraction of Antioxidant from *Lycium* and Its Antioxidant Activities. *Chemistry and Industry of Forest Products*, 26, p.55-58, 2006.
13. *Jing L., Cui G., Feng Q., Xiao Y.* Evaluation of hypoglycemic activity of the polysaccharides extracted from *Lycium barbarum*. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 6, 4, p. 5779-584, 2009.
14. *Lee-Kubli C., Mixcoatl-Zecuatl T., Jolivald C.G., Calcutt N.A.* Animal models of diabetes-induced neuropathic pain. In *Current Topics in Behavioral Neurosciences* (ed. Geyer M., Ellenbroek B., Marsden C., editors. ). Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag; 2014.
15. *Luo Q., Cai Y., Yan J., Sun M., Corke H.* Hypoglycemic and hypolipidemic effects and antioxidant activity of fruit extracts from *Lycium barbarum*. *Life Sci.*, 76, p.137-49, 2004.
16. *Potterat O.* Goji (*Lycium barbarum* and *L. chinense*): Phytochemistry, Pharmacology and Safety in the Perspective of Traditional Uses and Recent Popularity. *Planta Med.* 76, P.7-19, 2010.
17. *Shih C.C., Wu Y.W., Lin W.C.* Antihyperglycemic and antioxidant properties of *Anoectochilus Formosanus* in diabetic rats. *Clin. Exp. pharmacol.*, 29, p.684-8, 2002.
18. *Stewart M.A., Passonneau J.V.* Identification of fructose in mammalian nerve. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 17, 536, 1964.
19. *Ward J.D., Baker R. W.R., Davis B.H.* Effect of blood sugar control on the accumulation of sorbitol and fructose in nervous tissues. *diabetes*, 21, p.1173-78, 1972.
20. *Wishart T.M., Parson S.H., Gillingwater T.H.* Synaptic vulnerability in neurodegenerative disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 65, p.733-739, 2006.

Ստացվել է 15.04.2015



•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ •Экспериментальные и теоретические статьи•  
•Experimental and theoretical articles•

Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 3(67), 2015

**LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS INMIA9602 Er-2- ԵՎ  
ELEUTEROCOCCUS EXTRACT ՀԱՄԱՏԵՂ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ  
ՉՈՐՍ ԱՄՍԱԿԱՆ ԽՈՃԿՈՐՆԵՐԻ ԱՐՅԱՆ ԲՆԱԿԱՆ  
ԴԻՄԱԴՐՈՂԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ՑՈՒՑԱՆԻՇՆԵՐԻ ՎՐԱ**

**Ա.Գ.ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ**

*Հայաստանի ազգային ագրարային համալսարան  
achonagrigroryan@mail.ru*

Հիպոկինեզիայի պայմաններում 4 ամսական խոճկորների մոտ արյան մեջ նվազում է լիզոցիմի ակտիվությունը և գլիկոպրոտեինների պարունակությունը, որը վկայում է բնական դիմադրողականության և պատենեշային գործառույթների ընկճման մասին:

Էլեուտերոկոկի մզվածքի և *L. acidophilus* INMIA 9602 Er-2-ի համատեղ օգտագործումն ունի դրական ազդեցություն հիպոկինեզիայի պայմաններում բնական դիմադրողականության վերը նշված ցուցանիշների վրա, ինչը թույլ է տալիս առաջարկել պատրաստուկը արդյունաբերական հիմունքներով կիրառել 4 ամսական խոճկորների ինտենսիվ աճեցման և բուսման ընթացքում:

*Հիպոկինեզիա – լիզոցիմ – բնական դիմադրողականություն – գլիկոպրոտեիններ –  
Lactobacillus acidophilus INMIA 9602 Er-2 – Eleuterococcus extract*

При гипокинезии в крови у 4-месячных поросят понижено содержание гликопротеидов и снижена активность лизоцима, что свидетельствует о понижении естественной резистентности в целом и, возможно, снижении барьерных функций организма. Совместное применение *Lactobacillus acidophilus* INMIA 9602 Er-2 и экстракта элеутерококка положительно влияет на вышеуказанные показатели естественной резистентности, на основании чего рекомендуется использовать данный препарат при промышленном выращивании поросят.

*Гипокинезия – лизоцим – естественная резистентность – гликопротеиды – Lactobacillus acidophilus INMIA 9602 Er-2 – Eleuterococcus extract*

The content of glycoproteins and lysozymes in blood of 4-month piglets was reduced during hypokinesia which testifies to decrease the natural resistance and barrier functions of the organism. The combined action of *Lactobacillus acidophilus* INMIA 9602 Er-2 and Eleutherococcus extract expressed a positive effect on the natural resistance indices which allows to recommend them in commercial cultivation of piglets.

*Hypokinesia – lysozyme – natural resistance – glycoproteids – Lactobacillus acidophilus INMIA 9602 Er-2 – Eleuterococcus extract*

4 ամսական խոճկերին աճեցնում են գլխաքանակի վերանորոգման համար կամ բուսման նպատակով: Վերանորոգման խոճկերին մշտապես պետք է դուրս բերել զբոսանքի, որպեսզի նրանց օրգանիզմը ամրապնդվի և նրանք ձևավորվեն ամուր

կազմվածքով, առողջ, պահվածքի պայմանների նկատմամբ ոչ պահանջկոտ, բարձր վերարտադրողականությամբ: Այդ ժամանակաշրջանում հիմք է դրվում կենդանիների բտումը հաջող անցկացնելու համար: Աճեցման շրջանում անհրաժեշտ է ապահովել պայմաններ կենդանիների ոսկրակազմի և մկանային հյուսվածքի ինտենսիվ աճի համար [6]: Հայաստանում հիմնականում կիրառվում է խոզերի առանց զբոսանքի պահվածքը, ինչը չի նպաստում լիարժեք մկանային ակտիվության զարգացմանը:

Նախորդ փորձերում արդեն ապացուցել էինք հիպոկիներգիայի ազդեցությունը գյուղատնտեսական կենդանիների ֆիզիոլոգիական և կենսաքիմիական որոշ ցուցանիշների վրա [2, 3]: Հայտնի է, որ լիատարիք կենդանիների համեմատությամբ 4 ամսական խոճկորների օրգանիզմի պաշտպանական ոչ յուրահատուկ մեխանիզմները դեռ լիարժեք չեն, դրանք գտնվում են զարգացման փուլում [1]: Հայտնի է նաև, որ աղիքային միկրոբիոտայի օպտիմալ կազմը խթանում է օրգանիզմի պաշտպանական ոչ յուրահատուկ մեխանիզմների լիարժեք զարգացումը: Ստամոքսաղիքային ուղու միկրոբիոտան ոչ միայն ձևավորում է տեղային իմունիտետը, այլև էապես նպաստում է մատղաշի իմունային համակարգի ձևավորմանը և զարգացմանը, ինչպես նաև պահպանում է դրա ակտիվությունը լիատարիք կենդանիների մոտ: Նորմալ բիոտայի բակտերիական մոդուլիները խթանում են իմունակումպետենտ բջիջների աճը, ավելացնում են իմունագլոբուլինների, ինտերֆերոնի, ցիտոկինների սինթեզը, բարձրացնում են պրոպերդինի և կոմպլեմենտի մակարդակը, ինչպես նաև լիզոցիմի ակտիվությունը [4]: Ելնելով վերոնշյալից, որոշվել է պարզել, արդյոք հնարավոր է խթանելով աղիքային միկրոֆլորայի ֆունկցիոնալ հնարավորությունները, նորմալացնել և բարձրացնել իմունային կարգավիճակը (ստատուսը) և հենց դրանով իսկ մեղմել կամ վերացնել հիպոկիներգիայի բացասական ազդեցությունը 4 ամսական խոճկորների օրգանիզմի վրա:

Արդյունաբերական պայմաններում պահվող կենդանիների բնական դիմադրողականությունն ուսումնասիրելու նպատակով մեր կողմից նաև հետազոտվել է էլեուտերոկոկի մզվածքի և *Lactobacillus acidophilus* INMIA 9602 Er-2-ի պատրաստուկ ստացած 4 ամսական խոճկորների արյան մեջ գլիկոպրոտեիդների պարունակությունը և լիզոցիմի ակտիվությունը:

**Նյութ և մեթոդ:** Փորձերի համար «Արզուման և Ավետիս» ՍՊԸ տնտեսություններում ընտրվել են 4 ամսական խոճկորներ: Շարժումները սահմանափակելու նպատակով կենդանիները պահվել են վանդակներում, որոնց չափերը մեկ կենդանու հաշվով 0,5-0,6 մ<sup>2</sup> է: Ստուգիչ խմբի կենդանիները պահվել են՝ 1-1,5 մ<sup>2</sup> յուրաքանչյուր գլխի համար չափեր ունեցող վանդակներում և օրական 2 ժ դուրս բերվել զբոսանքի: Փորձը տևել է 60 օր:

Հետազոտության համար արյունը վերցվել է պոչի երակից ինչպես մինչև փորձը, այնպես էլ հիպոկիներգիայի 5, 15, 30, 45 և 60-րդ օրերին: Հետազոտվել են բնական դիմադրողականության այնպիսի ցուցանիշներ, ինչպիսիք են արյան մեջ լիզոցիմի ակտիվությունը և գլիկոպրոտեիդների պարունակությունը:

Փորձնական կենդանիները (5-ական գլուխ) բաժանել ենք հետևյալ խմբերի.

1-ին խմբի կենդանիները պահվել են շարժումների սահմանափակման պայմաններում, առանց որևէ պատրաստուկ ստանալու,

2-րդ խմբի հիպոկիներգիայի ենթարկված կենդանիները օրը երեք անգամ ստացել են  $3 \times 10^8$  կենսունակ բակտերիաներ պարունակող *Lactobacillus acidophilus* INMIA 9602 Er-2 շտամ 317/402-ի լիոֆիլացված բակտերիաներ,

3-րդ խմբի հիպոկիներգիայի ենթարկված կենդանիները օրը երեք անգամ ստացել են 0,2 մգ/կգ լիոֆիլացված էլեուտերոկոկի մզվածք,

4-րդ կամ ստուգիչ խումբը պահվել է առանց որևէ պատրաստուկ ստանալու, 1-1,5 մ<sup>2</sup> յուրաքանչյուր գլխի հաշվով չափեր ունեցող վանդակներում և օրական 2 ժ դուրս բերվել զբոսանքի,

5-րդ խմբի հիպոկիներգիայի ենթարկված կենդանիները օրը երեք անգամ ստացել են  $3 \times 10^8$  կենսունակ բակտերիաներ պարունակող *Lactobacillus acidophilus* INMIA 9602 Er-2-ի լիոֆիլացված բակտերիաների և 0,2 մգ/կգ լիոֆիլացված էլեուտերոկոկի մզվածքի խառնուրդ:

Լիզոցիմի ակտիվությունը որոշվել է Մուտովիի մեթոդով՝ Միտյուշնիկովի ձևափոխմամբ [7]: Այդ մեթոդի հիմքում ընկած է լիզոցիմի ներթափանցումը ազարի մեջ և նրա կողմից

*Micrococcus lysodeicticus* կուլտուրայի աճի արգելակումը [5]: Գլիկոպրոտեիդների քանակը որոշվել է Վեյմերի և Մոշինի մեթոդով, որը հիմնված է գլիկոպրոտեիդի ածխաջրատային բաղադրիչի և օրգինոլի միջև տեղի ունեցող գունավոր ռեակցիայի լուսաչափման վրա [5]:

Վիճակագրական վերլուծությունը կատարվել է համակարգչային "two-tailed paired t" թեստի, StatView 4.57 (Abacus Concepts Inc., Berkeley, Calif.) վիճակագրական փաթեթի, (2Ճ4) ֆակտորիալ վերլուծության օգնությամբ:  $p < 0,05$  մակարդակը համարվել է վիճակագրորեն հավաստի [9]:

**Արդյունքներ և քննարկում:** Հետազոտության արդյունքները ցույց են տվել, որ մինչև փորձի 30-րդ օրը՝ գլիկոպրոտեիդների պարունակությունը և լիզոցիմի ակտիվությունը զգալի փոփոխության չեն ենթարկվել (աղ. 1): Ըստ աղյուսակի տվյալների՝ փորձի 45-րդ օրը լիզոցիմի ակտիվությունը 5,7 %-ով նվազել է 1-ին խմբի կենդանիների մոտ, որոնք գտնվում էին հիպոկլինեզիայի պայմաններում առանց որևէ դեղամիջոց ստանալու (24,40±0,12 մմ՝ ստուգիչի 25,90±0,17 մմ դիմաց): Մնացած խմբերում փորձնական տվյալները գրեթե չէին տարբերվում ստուգիչ կենդանիներին վերաբերող տվյալներից:

Փորձի ավարտին, հիպոկլինեզիայի 60-դ օրը, ստացվել են հետևյալ տվյալները: Լիզոցիմի ակտիվությունը 18 %-ով նվազել է 1-ին խմբի կենդանիների մոտ (21,15±1,05 մմ ստուգիչի՝ 25,90±0,18 մմ դիմաց), 2 և 3-րդ փորձնական խմբի կենդանիների մոտ, որոնք ստացել են պատրաստուկը առանձին առանձին 2-րդ խումբ 3x10<sup>8</sup> կենսունակ բակտերիաներ պարունակող *L.acidophilus* INMIA 9602 Er-2-ի լիոֆիլացված բակտերիաներ) և 3-րդ խումբ (ստացել են 0,2 մգ լիոֆիլացված էլեուտերոկոկի մզվածք) ամբողջ փորձի ընթացքում տվյալ ցուցանիշի (լիզոցիմի ակտիվության) հավաստի փոփոխություններ չեն հայտնաբերվել: Իսկ 5-րդ խմբի կենդանիների մոտ, որոնք ստացել էին համալիր պատրաստուկ, նկատվում է լիզոցիմի ակտիվության բարձրացում 10%-ով (28,55±0,47 մմ):

**2 Աղյուսակ 1.** *L. acidophilus* INMIA 9602 Er-2-ի և էլեուտերոկոկի մզվածքի առանձին և համատեղ ազդեցությունը 4 ամսական խոճկորների արյան լիզոցիմի ակտիվության վրա հիպոկլինեզիայի պայմաններում, մմ

Խմբերը	Հետազոտության ժամկետը, օր անց				
	մինչև փորձը	5	30	45	60
1- ին	25,91±0,11	25,90±0,15	25,70±0,15	24,40±0,12*	21,15±1,05*
2- րդ	25,90±0,11	25,88±0,12	25,80±0,12	25,75±0,14	25,70±0,14
3- րդ	25,90±0,11	25,90±0,11	25,85±0,11	25,77±0,19	25,74±0,14
4 - րդ (ստուգիչ)	25,90±0,11	25,91±0,17	25,90±0,17	25,90±0,17	25,90±0,18
5- րդ	25,90±0,11	25,88±0,15	25,94±0,15	26,20±0,12	28,55±0,47

\* Մանրագրություն՝  $p < 0,05$

Նմանօրինակ տվյալներ են ստացվել 4 ամսական խոճկորների արյան գլիկոպրոտեիդների պարունակությանը վերաբերող հետազոտություններում: Պարզվել է, որ հիպոկլինեզիայի պայմանները կենդանիների վրա ազդում են միայն 45-րդ օրվանից սկսած: Այս ժամկետում 1-ին խմբի կենդանիների մոտ գրանցվել է վերոնիշյալ ցուցանիշի 8 %-ով նվազում, (0,90±0,22 գ/լ՝ ստուգիչի 0,97±0,17 գ/լ դիմաց), իսկ փորձի ավարտին՝ 18%-ով (0,80±1,05 գ/լ՝ ստուգիչի 0,98±0,18 գ/լ դիմաց): Բացահայտվել է նաև, որ էլեուտերոկոկի մզվածքի և *L. acidophilus* INMIA 9602 Er-2-ի առանձին օգտագործումը կարող է կանխել կենդանիների արյան մեջ գլիկոպրոտեիդների քանակական փոփոխությունները, իսկ դրանց համատեղ օգտագործման դեպքում

նկատվել է այս ցուցանիշի 19 %-ով բարձրացում (1,17±0,47 գ/լ՝ ստուգիչի 0,98±0,18 գ/լիմաց) (աղ. 2):

**Աղյուսակ 2.** *L. acidophilus* INMIA 9602 Er-2-ի և էլեուտերոկոկի մզվածքի առանձին և համատեղ ազդեցությունը 4 ամսական խոճկորների արյան գլիկոպրոտեիդների պարունակության վրա հիպոկլինեզիայի պայմաններում, գ/լ

Խմբերը	Մինչև փորձը	Հետազոտության ժամկետը, օր անց			
		5	30	45	60
1- ին	0,98±0,05	0,97±0,05	0,96±0,05	0,90±0,22*	0,80±1,05*
2- ըն	0,98±0,05	0,99±0,02	0,98±0,02	0,96±0,14	0,95±0,14
3- ըն	0,98±0,05	0,97±0,01	0,97±0,01	0,95±0,19	0,94±0,14
4 -ըն (ստուգիչ)	0,98±0,05	0,98±0,07	0,98±0,07	0,97±0,17	0,98±0,18
5- ըն	0,98±0,05	0,99±0,05	0,99±0,15	1,10±0,12	1,17±0,47

\* Օսնոթագրություն՝  $p < 0,05$

Քանի որ լիզոցինը պատկանում է իմունիտետի սուբ փուլի սպիտակուցներին, որոնք ապահովում են օրգանիզմի ոչ յուրահատուկ դիմադրողականությունը, իսկ հիպոկլինեզիայի ժամանակ լիզոցինի ակտիվության նվազումը վկայում է կենդանիների օրգանիզմի բնական դիմադրողականության թուլացման մասին:

Այսպիսով, վերոհիշյալ հետազոտությունները հաստատում են հիպոկլինեզիայի պայմաններում էլեուտերոկոկի մզվածքի և *L. acidophilus* INMIA 9602 Er-2-ի պատրաստուկի դրական ազդեցությունը 4 ամսական խոճկորների արյան գլիկոպրոտեիդների պարունակության և լիզոցինի ակտիվության վրա, ինչը թույլ է տալիս առաջարկել պատրաստուկները արդյունաբերական հիմունքներով 4 ամսական խոճկորների ինտենսիվ աճեցման և կիրառել բոսան ընթացքում:

#### ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Андреева Н.Л.* Средства, корректирующие иммунный статус, стрессы и продуктивность животных. В кн. «Фармакология». В.Д. Соколов, М.Д. Рабинович, Г.И. Горшков и др. М., Колос, с. 376-379, 1997.
2. *Григорян А.Г.* Изменение некоторых показателей естественной резистентности у крыс и бычков при длительной гипокинезии. НАН РА. Доклады. 112, 2., с. 208-212, 2012.
3. *Григорян А.Г.* Совместное применение *Lactobacillus acidophilus* Er-2 штамма 317/402 и элеутерококка с целью коррекции нарушений активности лизоцима крови в условиях гипокинезии. Агрогитутюн, Ереван, 1-2. с. 84-87, 2014.
4. *Интizarов М.М.* Микрофлора тела животных.- М.: МВ А, 1994.-122 с.
5. *Колб В.Г., Камышиников В.С.* Справочник по клинической химии. Минск, «Беларусь», 366 с., 1988.
6. *Лысенко Н.И.* Обмен, пероксидация и биоантиоксидантная защита липидов в организме поросят при технологическом стрессе и его регуляция. Дисс. канд.биол. наук, Воронеж, 147 с., 2004.
7. *Мutowин В.И., Митюшников В.М.* Определение естественной резистентности организма животных. Ветеринария, 12, с. 103-104, 1973.
8. *Субботин В., Данилевская Н.* Опыт применения пробиотика Лактобифадол в различных отраслях животноводства и в птицеводстве. Эффективное животноводство, 62, 4, с. 40-41, 2009.
9. *Макдональд И.Н.* Справочник биологической статистики (3-е изд.), 460 с., 2014.

Մտացվել է 26.03.2015



•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ •Экспериментальные и теоретические статьи•  
•Experimental and theoretical articles•

Биолог. журн. Армении, 3 (67), 2015

## НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ ГИБРИДНОГО КАРЛИКА ПШЕНИЦЫ Dwarf I

Р.Р. САДОЯН

Научный центр земледелия Министерства сельского хозяйства РА  
ruzannasad@mail.ru

Исследовано влияние комплементарных генов гибридной карликовости на деятельность корневой системы, интенсивность фотосинтеза, активность каталазы и хлорофиллазы у гибридного карлика пшеницы Dwarf I. Выявлено, что взаимодействие комплементарных доминантных генов карликовости оказывает многостороннее влияние на онтогенетическое развитие гибрида. Гибридная депрессия проявлялась коррелятивно в надземных и подземных органах растения.

*Пшеница – гибридная депрессивность – корневая система – фотосинтез – хлорофиллаза – каталаза*

Ուսումնասիրվել է հիբրիդային գաճաճության կոմպլեմենտար գեների ազդեցությունը ցորենի Dwarf I գաճաճ հիբրիդի արմատային համակարգի գործունեության, ֆոտոսինթեզի ինտենսիվության, կատալազի և քլորոֆիլազի ակտիվության վրա: Բացահայտվել է հիբրիդային գաճաճության դոմինանտ կոմպլեմենտար գեների փոխազդեցության բազմակողմանի դրսևորումը գաճաճ հիբրիդի օնտոգենետիկ զարգացման վրա: Ճնշվածությունը կորելյատիվորեն է արտահայտվում բույսի վերգետնյա և ստորգետնյա օրգաններում:

*Ցորեն – հիբրիդային ճնշվածություն – արմատային համակարգ – ֆոտոսինթեզ – քլորոֆիլազ – կատալազ*

The action of hybrid complementary genes of Dwarf I on the functioning of root system of plant, intensity of photosynthesis and on catalase and chlorophyllase activity was investigated. The comprehensive manifestation of hybrid complementary dominant genes interaction was revealed during the ontogenetic developments.

*Wheat – hybrid depression – root system – photosynthesis – chlorophyllase – catalase*

В эволюции пшеницы в отдельных регионах мира произошли естественные отрицательные доминантные мутации, которые при взаимодействии приводят к неизбежному возникновению депрессивных или летальных гибридных растений, тем самым препятствуя успешной реализации селекционных программ [12]. Изучение этой проблемы имеет большое практическое значение в связи с тем, что многие ценные сорта современной селекции являются носителями генов депрессивности. Одновременное содержание различных

доминантных генов депрессивности в одном генотипе приводит к их совместному проявлению и усилению угнетенности гибридного организма.

Сцепленность генов депрессивности с генами, детерминирующими хозяйственно-ценные признаки (высокобелковость, иммунитет к различным заболеваниям, конкурентоспособность, масса зерен), в какой-то мере способствует распространению генов депрессивности [6]. Генетические факторы, при определенном сочетании приводящие к нарушению регуляторных механизмов жизнедеятельности, широко распространены в роде *Triticum* (33-96%), имеют многообразное проявление (гибридный некроз, хлорозы, гибридная карликовость), комплементарный характер и отличаются четкой видовой, биотипической и географической локализацией [7, 18].

Деятельность трех различных независимых комплементарных генетических систем (гибридный некроз, красный и белокрапчатый хлорозы) приводит к идентичным физиологическим изменениям: разрушению ассимиляционного аппарата, распаду пигментов и снижению уровня жизнедеятельности. Каждая форма депрессивности имеет свое четкое морфологическое проявление, специфическое развитие и конечный результат [7, 9, 11].

В отличие от указанных типов депрессивности, гибридная карликовость (hybrid dwarfness) характеризуется интенсивным синтезом и большим накоплением неактивных молекул хлорофилла с низким уровнем жизнедеятельности гибридов [7].

Гены, детерминирующие явление гибридной карликовости, распространены (70%) у различных видов пшениц. Карликовые гибриды возникают при скрещивании нормальных растений. Оплодотворение и образование семян происходит нормально. Согласно гипотезе Hermsen, гибридная карликовость проявляется при комплементации трех доминантных генов ( $D_1$ ,  $D_2$ ,  $D_3$ ), которые имеют различную степень доминантности. В зависимости от наличия гена  $D_3$  гибридная карликовость проявляется в  $F_1$  или  $F_2$ . В различных фазах развития в зависимости от генотипа родительских форм гибридные растения приобретают характерные черты габитуса dwarfness с различным уровнем жизнеспособности. По степени развития гибридные карлики проявляются в трех различных формах: Dwarf I – летальная форма, Dwarf II – полuletальная и Dwarf III – витальная [13].

Dwarf I – летальная, наиболее сильная форма dwarfness. Симптомы карликовости проявляются в фазе 1-2 листьев (фенокритическая фаза). В онтогенезе развиваются растения с жесткими, темно-зелеными утолщенными листьями с замедленным темпом развития. Образуется большое количество боковых побегов, растения приобретают хохлокообразный вид и погибают, а в некоторых случаях – в состоянии 2-3 листьев. Летальная фаза наступает в фазе колошения родительских форм [13].

Взаимодействие генов гибридной карликовости оказывает многостороннее влияние на особенности онтогенетического развития гибридного поколения [7, 10].

У гибрида Dwarf I депрессия проявляется в морфологических и анатомических показателях. Гибрид по высоте растения уступает родительским формам примерно в 5 раз, длине листьев – 2,3-2,4 раза, а по площади листьев – 6,2 раза. При сильном уменьшении длины и площади листьев меняется также анатомическое строение листа. Сокращается число устьиц в 2,1-2,6 раза, а длина и площадь клеток эпидермиса увеличивается. Такая представленность устьичного аппарата свидетельствует о том, что комплементация генов гибридной карликовости ( $D_1$ ,  $D_2$ ,  $D_3$ ) приводит к изменениям морфоструктурной организации мезофилла листа. Депрессия проявляется также интенсивным синтезом и большим накоплением неактивных молекул хлорофилла [7, 15].

Изучение динамики содержания хлорофилла у гибрида Dwarf I показало, что в различных фазах онтогенетического развития (кущение, стеблевание, колошение, цветение) содержание хлорофилла превосходит родительские формы примерно в 1,7-2,4 раза. В фазе стеблевания родительских форм у гибрида содержание хлорофилла достигает максимума (5,46 мг/г), а в фазе колошения оно составляет (5,3 мг/г). Наблюдается спад уровня хлорофилла в связи с началом вымирания гибрида. В соответствии с происходящими изменениями по фазам развития нарушается и соотношение хлорофилла а/б. Отсутствие стебля и формирование розеточных листьев чрезвычайно сближает корень и листья. При сокращении расстояния между корнями и листьями усиливается обмен между ними [3, 4, 11]. Возможно, это является одной из причин усиленного синтеза хлорофилла у гибрида Dwarf I.

Целью наших исследований было выяснение некоторых физиологических аспектов влияния комплементарных генов гибридной карликовости на онтогенетическое развитие гибридного организма.

**Материал и методика.** Наши исследования проводились на Эчмиадзинской базе Армянского научного центра земледелия, которая находится в Араратской зоне республики. Зона характеризуется сухим, резко континентальным климатом. Возделывание сельскохозяйственных культур ведется в условиях орошения.

В качестве родительских форм брались австралийские яровые сорта пшениц – Frisco ( $D_1d_2d_3$ ) и Amby ( $d_1D_2D_3$ ), которые являются носителями сильных аллелей D генов и используются в качестве тестеров для обнаружения этих генов. Гибриды  $F_1$  получены методом искусственного опыления. Кастрированные колосья брались под пергаментные изоляторы, затем через 3-5 дней опылялись. И семена первого гибридного поколения, и родительские формы высевались в 5-килограммовых вазонах в трехкратной повторности каждый.

Интенсивность фотосинтеза определяли методом мокрого сжигания по Аликову, объем и поглотительную поверхность корней методом Сабинина и Колосова [8]. Определение активности каталазы основано на учете распада перекиси с последующим титрованием перманганатом калия [5]. Определение активности хлорофиллазы проводилось выделением и количественным определением протохлорофилла с использованием полярных и неполярных растворителей [1]. Математическая обработка полученных данных проводилась по Доспехову [2].

**Результаты и обсуждение.** В ходе индивидуального развития карликовых гибридов наблюдаются существенные изменения в синтезе белков и пигментов, интенсивности фотосинтеза, фертильности пыльцы и уровне радиорезистентности. Выявлены некоторые аспекты физиологии dwarfness [7, 11, 16, 17].

У гибрида Dwarf I, наряду с депрессией надземных частей, выявлены значительные изменения и в корневой системе. Поглотительная деятельность корневой системы является активным процессом, который непосредственно связан с жизнедеятельностью и развитием надземных органов растения. Полученные нами данные согласуются с мнением о том, что интенсивность поглотительной деятельности корней при одинаковой потребности растений в питательных веществах и воде в значительной мере определяется их объемом [14].

В ходе наших исследований выяснилось, что родительские формы гибрида по объему, адсорбирующей и рабочей поглотительной поверхностям существенно не различаются (рис.1).

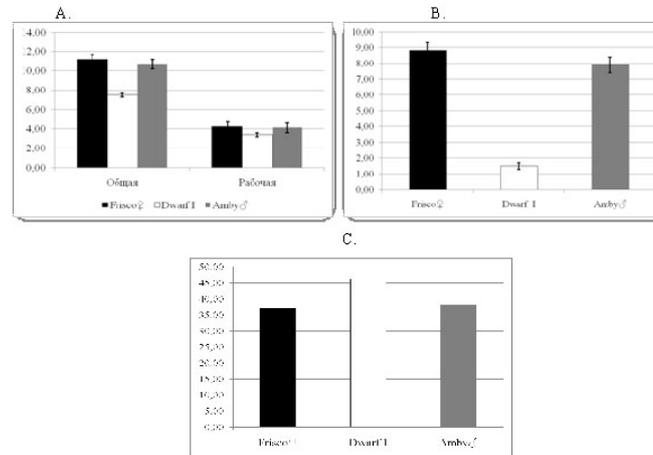
Выяснено, что по сравнению с родительскими формами у гибрида сокращаются объем корней (5,9-5,3 раза) и общая поглотительная поверхность (1,5-1,4 раза). Уменьшение общей поглотительной поверхности корней у Dwarf I компенсируется увеличением процента рабочей поглотительной поверхности (46,2%) от общей, что превосходит родительские формы на 9,07-8,2%. Из этого следует, что морфоструктурные изменения поглотительной поверхности корней направлены на обеспечение жизнедеятельности растений.

Растение мобилизует все свои резервы, однако генетически обусловленная депрессия приводит к летальному исходу и оно не достигает репродуктивного развития. Активная поглощающая и метаболическая функция корней является важным внутренним фактором усиления синтеза хлорофилла в листьях. Выявлено, что интенсивный синтез и большое накопление хлорофилла не обеспечивают нормальную жизнедеятельность гибридного организма [11].

Такое мнение подтверждается данными ассимиляционной деятельности листьев (табл. 1).

Существует прямая зависимость между поглотительной способностью корней и фотосинтетической активностью листьев [15]. Хотя гибрид по содержанию

хлорофилла превосходит родительские формы в два раза, однако эффективность использования молекул хлорофилла в фотосинтезе снижается.



**Рис. 1.** Деятельность корневой системы гибрида Dwarf I и его родительских форм  
 А. Адсорбирующая поверхность,  $\text{дм}^2$ ; В. Объем корней,  $\text{см}^3$ ;  
 С. % рабочей поглотительной поверхности от общей

**Таблица 1.** Интенсивность фотосинтеза у карликового гибрида пшеницы типа Dwarf I и его родительских форм в фазе колошения

N	Образец	Интенсивность фотосинтеза, $\text{мг}/\text{дм}^2/\text{ч}$	Содержание хлорофилла, $\text{мг}/\text{г}$
1	Frisco ♀	32,07 + 2,29	2,65
2	Dwarf I (Frisco x Amby) F <sub>1</sub>	11,86 + 1,36	5,30
3	Amby ♂	30,34 + 2,23	2,61

t факт. > t теор. (4,6), разность существенна при 1% уровне значимости.

Несмотря на то что у гибрида Dwarf I процент рабочей поглотительной поверхности от общей сравнительно большой (46,2), тем не менее следует полагать, что интенсивность поглощения низкая. У гибридного карлика Dwarf I онтогенез завершается в фазе кущения. Vegetация, по-видимому, сокращается за счет выпадения последующих фаз. В онтогенезе структура и функция соответствуют друг другу. У гибридного растения отсутствие органов воспроизведения является важным фактором снижения (2,5-2,7 раз) активности фотосинтеза. Отсутствие колосьев у Dwarf I нарушает донорно-акцепторные отношения между листьями (поставщики ассимилятов) и генеративными органами (потребители). Как правило, накопленные ассимиляты подавляют интенсивность фотосинтеза. Происходит перекорм листьев ассимилятами, в результате чего интенсивность фотосинтеза падает [4].

Корне-лиственная функциональная связь регулируется метаболическими процессами, в которых активное участие принимают ферменты. Депрессия проявляется коррелятивно в надземных и подземных органах. Нарушается каталазная активность в листьях и корнях. В жизнедеятельности гибрида важное значение имеет метаболизм корневой системы. Роль генотипа крайне важна при формировании корневой системы и способности экстракции воды [14]. Синтез хлорофилла в листьях

во многом зависит от активности гемсодержащих ферментов, в частности от каталазы, поступающей с пасокой в листья и участвующей в синтезе хлорофилла [15].

Выяснилось, что в фазе трубкования в листьях гибрида Dwarf I активность каталазы выше на 26,5-22,5%, а корнях ниже на 9,9-11,6% по сравнению с родительскими формами (рис.2).

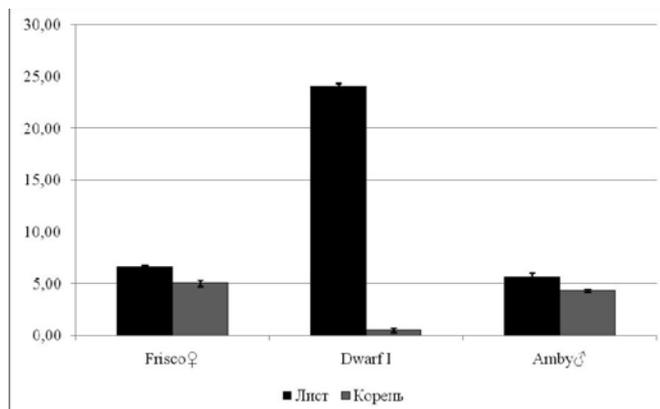


Рис. 2. Активность каталазы, мг/г сырого веса

Из-за низкого уровня каталазной активности в корнях у гибрида, в отличие от родительских форм, синтез хлорофилла протекает очень медленно. Направление деятельности хлорофиллазы в листьях пшеницы обуславливается активностью каталазы в корневой системе [14]. В корневой системе каталаза, а в надземной части хлорофиллаза, их количество и функции взаимосвязаны и дополняют друг друга.

Активность хлорофиллазы в листьях родительских растений имеет синтетическую, а у гибрида Dwarf I гидролитическую активность (табл. 2).

Таблица 2. Активность хлорофиллазы у гибрида Dwarf I и его родительских форм, мг/гр сыр.веса

N	Образец	Сумма хлорофилла		Хлорофиллид		% изменения хлорофиллазы
		контроль	опыт	контроль	опыт	
1	Frisco ♀	0,05882	0,077	0,01988	0,0162	18,5
2	Dwarf I (Frisco x Amby) F <sub>1</sub>	0,0852	0,072	0,02485	0,0368	48,0
3	Amby ♂	0,05305	0,0711	0,02152	0,1774	17,6

В фазе трубкования в листьях родительских растений после инкубации содержание хлорофилла возрастает (Frisco-17,0%, Amby-16,2%) при значительном уменьшении хлорофиллида. У гибрида Dwarf I наблюдается понижение содержания хлорофилла на 15,0% и увеличение содержания хлорофиллида с одновременным спадом активности хлорофиллазы, что свидетельствует о ее гидролитической активности.

Таким образом, взаимодействие доминантных генов карликовости приводит к глубоким изменениям регуляторных механизмов жизнедеятельности гибридного организма. Депрессия проявляется коррелятивно в надземных и подземных органах растений. Снижается мощность и общая поглотительная поверхность

корней, что компенсируется процентным увеличением рабочей поверхности от общей. Изменяются донорно-акцепторные отношения между листьями и корнями. Нарушается соотношение каталазной активности в листьях и корнях гибрида. Наблюдается интенсивный синтез хлорофилла с пониженной функциональной активностью, что подтверждается слабой ассимиляционной деятельностью листьев. Несмотря на мобилизацию всего потенциала гибридного организма, генетически обусловленная депрессия предопределяет отклонения от нормального хода онтогенеза и преждевременную гибель растения. У гибрида онтогенез завершается в фазе кущения за счет выпадения последующих фаз.

### ЛИТЕРАТУРА

1. *Гавриленко В. Ф., Ладыгина М. Б., Хандобина Л. М.* Выделение и количественное определение протохлорофилла с использованием полярных и неполярных растворителей. Большой практикум по физиологии растений. М., "Высшая школа", с. 151-153, 1975.
2. *Доспехов Б.А.* Методика полевого опыта. М., "Колос", с.225-226, 1985.
3. *Казарян В.О.* Физиологические аспекты эволюции от древесных к травам. Л., "Наука", с.293, 1990.
4. *Мокронос А.Т., Гавриленко В.Ф.* Фотосинтез, физиолого-экологические и биохимические аспекты. "Издательство Московского университета", с.269-276, 1992.
5. *Плешков Б.П.* Практикум по биохимии растений. М., "Колос", с.138-139, 1968.
6. *Пухальский В. А., Мартынов С.П., Добротворская Т.В.* Гены гибридного некроза пшениц. Теория вопроса и каталог носителей летальных генов. М., с 316, 2002.
7. *Садоян Р.Р.* Гибридная депрессивность пшеницы (История вопроса и каталог сортов по генам депрессивности различных типов). Ереван, с.196, 2008.
8. *Третьяков Н.Н.* Практикум по физиологии растений М. ВО. "Агропромиздат", с.109-113, с.163-165, 1990.
9. *Bishop D.L., Bugbee B.G.* Photosynthetic capacity and dry mass partitioning in dwarf and semi-dwarf wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Plant Physiol.* Vt11. 153, 558-565, 1998.
10. *Edmeades G.O., McMaster G.S., White J.W., Campos H.* Genomics and the physiologist: bridging the gap between genes and crop response. *Field Crops Research*, 90, 5-18, 2004.
11. *Fischer R.A.* Wheat physiology: a review of recent developments *Crop and Pasture Science*, 62, 2, 95-114, 2011.
12. *Foulkes M. J., Snape J. W., Shearman V.J., Reynolds M.P., Gaju O., Sylvester-Bradley R.* Genetic progress in yield potential in wheat: recent advances and future prospects, *Journal of Agricultural Science*, 145, 17-29, 2007.
13. *Hermesen J. G.* Hybrid dwarfness in wheat. *Euphytica*, 16, 1, 134-162, 1967.
14. *Manschadi A.M., Christopher J, deVoil P, Hammer G.L.* The role of root architectural traits in adaptation of wheat to water-limited environments. *Functional Plant Biology*, 33, 823-837, 2006.
15. *Morgan J. A., Lecain D. R., Wells R.* Semi dwarfing genes concentrate photosynthetic machinery and affect leaf gas ex-change of wheat. *Crop Sci.*, 30, 602-608, 1990.
16. *Sadoyan R. R.* Breeding Importance of the Hybrid Depression Problem and Possible Ways of Its Overcoming. *American Journal of Agriculture and Forestry*, 3, 3, pp. 116-119, 2015.
17. *Sadoyan R. R.* Features of Ontogeny of Wheat Hybrid of Type Dwarf II. *Agriculture, Forestry and Fisheries*, 4, 3, pp. 101-105, 2015.
18. *Zeven A.C.* Geographical distribution of genes causing hybrid dwarfness in hexaploid wheat of the old world. *Euphytica*, 19, 33-39, 1970.

Поступила 03.04.2015



Biolog. Journal of Armenia, 3 (67), 2015

## DIVERSITY OF VOLES SPECIES OF SURROUNDING TERRITORIES OF QUCHAK VILLAGE

T.A. HAYRAPETYAN

Yerevan State University, Department of Zoology  
tigranhrptn@gmail.com

Morphological, craniological and dental studies of voles captured from Quchak village (Central part of Armenia) showed a great variety of measurements and difference in teeth structure. According to literature data there are 3 species of voles: European snow vole *Chionomys nivalis*, social vole *Sumeriomys (M.) socialis* and common vole *Microtus arvalis* dwelling in this area. The analysis of morphological, craniological and dental measurements of our collection showed overlapping of some measures. The data obtained from the analysis of the morphological, craniological measurements and teeth structure showed clear difference of studied voles from the typical representatives of the above species. DNA analyses of collected samples were done. The analysis showed the presence of other “species” as well. The territory of Quchak village is known as a hybridization zone for rock lizards. It is possible there is hybridization processes are going between the vole species living around Quchak village also.

### *Microtus obscures – vole – dental structure*

Քուչակ գյուղի (Կենտրոնական Հայաստան) շրջակայքից բռնված դաշտամկների ձևաբանական, գանգաբանական և ատամների կառուցվածքի ուսումնասիրությունները ցույց տվեցին չափումների մեծ բազմազանություն և նկատելի տարբերություններ ատամների կառուցվածքում: Գրական տվյալների համաձայն այս տարածքում կարող են հանդիպել դաշտամկների 3 տեսակներ: Դրանք են 1. Եվրոպական ձյան դաշտամուկը՝ *Chionomys nivalis*, հասարակական դաշտամուկը՝ *Sumeriomys (M.) socialis* և սովորական դաշտամուկը՝ *Microtus arvalis*. Մեր հավաքածուի դաշտամկների ձևաբանական, գանգաբանական և ատամների կառուցվածքի ուսումնասիրության արդյունքում ստացված տվյալներում առկա է որոշ ցուցանիշների վերածածկ: Բացի այդ, մեր հավաքածուի կենդանիների չափումները տարբերվում են նշված տեսակների տիպիկ ներկայացուցիչների ցուցանիշներից: Մեր կողմից կատարվել է նաև նվուշների ԴՆԹ վերլուծություն: Վերլուծության արդյունքում պարզվել է ևս մեկ «տեսակի» առկայություն տվյալ տարածքում: Քուչակ գյուղի շրջակայքը հայտնի է որպես ժայռային մողեսների միջտեսակային հիբրիդիզացման գոտի: Հնարավոր է, որ այս տարածքում տեղի է ունենում նման գործընթաց նաև դաշտամկների տեսակների միջև:

### *Microtus obscures –դաշտամուկ – ատամների կառուցվածք*

Морфологические, краниологические исследования и изучение строения зубов полевок пойманных из окрестности села Кучак (Центральная часть Армении), показали большое разнообразие измерений и разницы в структуре зубов. По литературным данным, в этом районе живут 3 вида полевок: европейская снежная полевка *Chionomys nivalis*, социальная полевка *Sumeriomys (M.) socialis* и обыкновенная полевка *Microtus arvalis*. Анализ морфологических, краниологических и зубных измерений нашей коллекции показали перекрытие некоторых промеров. Данные анализа морфологических,

краниологических измерений и структуры зубов выявили четкое отличие изучаемых полевков от типичных представителей указанных выше видов.

Проведен ДНК анализ собранных образцов который показал наличие другого "вида". Территория с. Кучак известна как зона гибридизации для скальных ящериц. Возможно, что вокруг с. Кучак гибридизационные процессы протекают также между видами полевков.

*Microtus obscures – полевка – строение зубов*

Armenia is located between Europe and Asia, and can be regarded as one of the major hotspots of biodiversity interlinking the faunas of the Mediterranean, the Middle East, the Caucasus and the Caspian areas. It is extremely important to identify rare species, describe their distribution, identify key habitat, evaluate the level of anthropogenic pressure, and recommend measures protect of rich biodiversity of Armenia. The extremely various landscapes provide many types of habitats for voles. While the biodiversity of several vertebrate species is well studied, the voles' biodiversity remains largely unstudied. There were few scientists working on voles' have done not so many work studying of voles' in Armenia. Diversity of voles in Armenia is presented with 9 species and 3 geniuses: genus *Arvicola* - 1 species: *Arvicola terrestris*, genus *Chionomys* – 1 species: *Chionomys nivalis*, and genus *Microtus* - 7 species: *Microtus arvalis*, *M. levis*, *Sumeriomys (M.) socialis*, *S. schidlovskii*, *Terricola (M.) majori*, *T. daghestanicus* and *T. nasarovi*.

**Materials and methods.** 12 animals captured from surrounding territories of Quchak village were used for current study. Animals captured by using live traps, conical traps and by hand under the stones in summer nests. Morphological, craniological measurements were taken and teeth structure was studied. Samples for DNA analysis were collected.

Standard morphological methods were used. 25 different variables were measured for craniological studies (Markov et al., 2012). Statistic analyses of obtained data were done by Statistica 8.0 software.

Structure of molars was compared for species identification as well (Gromov et al., 1995).

Pure cytochrome b DNA was used for analyses. QIAGEN and A&A BIOTECHNOLOGY kits were used for DNA analysis. Works were done in Mammal Research Institute of Bialowieza Polish Academy of Science.

**Results and Discussion.** Morphological, craniological and dental structure studies showed that 3 species of voles (*Microtus arvalis*, *Chionomys nivalis* and *Sumeriomys (M.) socialis*) dwelling in researched area. But some measurements were different from measurements of typical representatives of the above species. The analysis showed overlapping of some measures (Revazyan L et al., 2014).

Very interesting results of cytochrome b DNA analyses were obtained. To ensure further the mitochondrial origin of the sequences, they were compared with GenBank entries (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Results showed that 9 of all studied animals have cytb DNA identical with *Microtus arvalis* and 3 with *Microtus obscurus*.

The status of the eastern "obscurus" taxon in the arvalis group is unclear. Some authors regard this taxon as a species, *M. obscurus*, separate from the western *M. arvalis* (Mitchell-Jones et al, 1999), but it has been demonstrated that the two forms can interbreed in captivity and describe the taxa as two cytotype forms, *M. arvalis* "obscurus" and *M. arvalis* "arvalis" (Akhverdian, M. R., et al., 1999; Bulatova et al., 2007). Cytochrome b divergence between *M. arvalis* and the *obscurus* lineage is only 1.6-3.6%, which suggests that the "obscurus"- "arvalis" split was recent (Haynes, S., et al., 2003).

However, one of *M. arvalis* “*obscurus*” morphologically was identified as *Chionomys nivalis* and two as *M. arvalis*. Morphological, craniological and dental structure studies showed presence of 4 individuals of *Sumeriomys (M.) socialis*, 1 *Chionomys nivalis* and 4 *Microtus arvalis*. But these 9 individuals were identified as *M. arvalis* “*arvalis*” by cytb analyses.

These results can provide bases for theory of hybridization of different species of voles on studied area. According these results new study should be obtained with using cytological analysis and nuclear DNA analysis.

### REFERENCES

1. Akhverdian, M.R., Liapunova, E., Vorontsov, N., Teslenko, S. Intrapopulation autosomal polymorphism in the common vole *Microtus arvalis* from the Transcaucasian region. *Genetika* 35, 12, 1687-1698, 1999.
2. Bulatova, N., Golenishchev, F., Bystrakova, N., Pavlova, S., Kovalskaya, J., Tikhonov, I., Didorchuk, M., Ivanov, K. Distribution and geographic limits of the alternative cytotypes of two *Microtus* voles in European Russia. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy* 18, 1, 2007.
3. Gromov, I. and M. Erbajeva Mammals of Russia and adjacent territories: Lagomorphs and rodents, Зоологический ин-т РАН, 1995.
4. Haynes, S., Jaarola, M., Searle, J. Phylogeography of the common vole (*Microtus arvalis*) with particular emphasis on the colonization of the Orkney archipelago. *Molecular Ecology*, 12, 4, 951-956, 2003.
5. Markov, G., Csorba, G., Kocheva, M., Gospodinova, M., et al. Skull features of the common vole (*Microtus arvalis* sensu lato) from Hungary: craniometrical evidence for its taxonomic detachment. *Turk J Zool.*, 36, 3, 283-290, 2012.
6. Mitchell-Jones, A. J. and B. Kryštufek, The atlas of European mammals, T & AD Poyser London, 1999.
7. Revazyan L., Hayrapetyan T., Papov G., Ghazaryan A. The species diversity of voles of Aparan valley. Proceedings of the international conference. Biological diversity and conservation problems of the fauna of the Caucasus – 2, 311-314, 2014.

*Received on 24.06.2015*



Биолог. журн. Армении, 3 (67), 2015

## ОБНАРУЖЕНИЕ РЕЧНОГО УГРЯ *ANGUILLA ANGUILLA* В ВОДАХ АРМЕНИИ

С.Х. ПИПОЯН

Армянский государственный педагогический университет им. Х.Абовяна,  
кафедра биологии и методики ее преподавания  
s.pirouyan@gmail.com

Приводится краткое морфологическое описание речного угря *Anguilla anguilla* (L., 1758), впервые обнаруженного в водах Армении. Предполагается, что данный вид проник сюда путем саморасселения из Каспийского моря.

*Ихтиофауна – Армения – речной угорь – Anguilla anguilla*

Բերվում է առաջին անգամ Հայաստանի ջրերում որսված գետային օձաձկան *Anguilla anguilla* (L., 1758) համառոտ ձևաբանական նկարագրությունը: Ենթադրվում է, որ տվյալ տեսակը Կասպից ծովից ինքնուրույն է ներթափանցել Հայաստանի ջրակալներ:

*Չկնաշխարհ – Հայաստան – գետի օձաձուկ – Anguilla anguilla*

Morphological short description of river eel *Anguilla anguilla* (L., 1758) which was first discovered in the waters of Armenia. It is assumed that this species was settled here from the Caspian Sea.

*Ichthyofauna – Armenia – river eel – Anguilla anguilla.*

За последние десятилетия в ихтиофауне водоемов Армении происходят существенные трансформационные процессы, вследствие чего биоразнообразие рыб увеличилось почти вдвое – с 22-х видов достигая 40. Такое увеличение таксономического разнообразия рыб водоемов Армении связано как с развитием товарного рыбоводства и многократным завозом посадочного материала прудовых рыб из водоемов различных регионов, так и естественным саморасселением отдельных видов [3-7]. Однако неожиданной для нас явилась поимка местными рыбаками-любителями двух особей речного угря *Anguilla anguilla* (L., 1758) в начале июня 2015 г., описание которых является целью настоящего сообщения.

Согласно информации рыбаков, одна особь речного угря длиной тела (от начала рыла до конца хвостового плавника) 106 см была поймана в р. Аракс на пограничной заставе недалеко от г. Армавир (Армавирский марз), а другая особь длиной тела 119 см – в Араксинском водохранилище в южной Армении. Нами изучен только экземпляр с длиной тела 106 см, пойманный крючковой снастью. При его описании мы использовали методику, принятую в ихтиологии [2]. Фотографии сделаны автором данного сообщения.



**Рис. 1.** Речной угорь из р. Аракс (Армавирский марз, Армения):  
а) внешний вид со спинной стороны; б) внешний вид с брюшной стороны.

Спина и верхняя часть боков, спинной, грудные и хвостовой плавники речного угря из р. Аракс зеленовато-серые, брюхо и нижняя часть боков – желтоватые, анальный плавник телесно-розоватый. Радужина глаз золотисто-желтая. Тело цилиндрическое, в задней части сжатое с боков. Боковая линия полная, почти прямая, тянется несколько выше средней части туловища от головы до основания хвостового плавника. Голова коническая, несколько приплюснутая в передней части. Длина головы составляет 11.5 % длины тела. Глаза сравнительно маленькие, находятся несколько впереди от заднего конца рта. Их диаметр в 2 раза в длине рыла. Расстояние от конца рыла до ануса составляет 44 % длины тела, т.е. анальное отверстие находится впереди середины тела. Спинной плавник начинается заметно впереди анального плавника: антедорсальное расстояние составляет 36.4 %, а антеанальное расстояние – 55.0 % длины тела. В целом, внешне морфологические признаки угря из р. Аракс (рис. 1) соответствуют приведенному Бергом [2] описанию речного угря в неполовозрелой стадии (желтая фаза развития).

Открытым остается вопрос, каким образом угри появились в р. Аракс. Из нескольких возможных вариантов (саморасселение, проникновение из прудовых хозяйств, выпуск рыбаками-любителями с целью акклиматизации и др.) нам наиболее вероятным кажется саморасселение этой рыбы, т.к. она имеет широкий диапазон обитания во внутренних водоемах, встречаясь в небольших ручьях и крупных реках и озерах. Известно, что молодь данного катадромного вида из моря заходит во все реки Европы от Балтийского и Баренцева морей до Черного, во все реки Средиземноморья и побережья Марокко и др. [2]. В России известен из рек бассейнов Белого, Балтийского и Черного морей. По каналам заходит в систему р. Волга, откуда проникает до южных районов Каспийского моря [1]. Учитывая вышесказанное, мы допускаем, что угри, проникшие через Волгу в Каспийское море, могли достичь устья р. Кура и оттуда – среднего течения р. Аракс.

*Автор выражает признательность Л.Ш. Геворгяну за предоставленную ценную информацию.*

### ЛИТЕРАТУРА

1. Атлас пресноводных рыб России. В 2 т. /Под ред. Ю.С. Решетникова/. М., Наука, 1, 379 с., 2003.
2. *Берг Л.С.* Рыбы пресных вод СССР и сопредельных стран. 4-е изд. М.-Л.: Изд-во АН СССР, Ч. 3. 930-1370 с., 1949б.
3. *Левин Б.А., Рубенян А.Р.* О новых ихтиологических находках в Армении. Российский журнал биологических инвазий, N 1. с. 39-45, 2012.
4. *Пипоян С.Х.* Ихтиофауна Армении: этапы формирования и современное состояние. Publishing-ISBN 978-3-8473-9977-3. p. 548, 2012.
5. *Пипоян С.Х., Тигранян Э.А.* Современная ихтиофауна Армении. Вопр. ихтиологии. Тигранян, Пипоян, 1998; 42, 5, с. 601-604, 2002.
6. *Тигранян Э.А., Пипоян С.Х.* Рыбоводные хозяйства и прудовые рыбы Армении. Тезисы докладов республиканской научной конференции по зоологии (14, 15 мая 1998г.). Зоол. ин-т НАН Армении. Ереван. с.106, 1998.
7. *Gabrielyan B.K.* An Annotated Checklist of Freshwater Fishes of Armenia. Naga, The ICLARM Quarterly (24, Nos. 3 & 4) July-Desember, p. 23-29, 2001.

*Поступила 24.06.2015*



Biolog. Journal of Armenia, 3 (67), 2015

## PHOTODYNAMIC INACTIVATION OF ANTIBIOTIC-RESISTANT PATHOGENS

M.H. PARONYAN

Scientific and Production Center "Armbiotechnology" of NAS RA  
paronyan\_marina@mail.ru

Nowadays methicillin-resistant strain *Staphylococcus aureus* (MRSA) is one of the most widespread multiresistant bacteria. Photodynamic inactivation (PDI) of microorganisms by photosensitizers (PS) may be an effective and alternative therapeutic option against antibiotic-resistant bacteria. The effectiveness of new PS cationic porphyrin Zn-TBut4PyP was tested on two strains of *S. aureus* (MRSA and methicillin-sensitive *S. aureus*). It is shown that Zn-TBut4PyP has high photodynamic activity against both strains.

*Photodynamic inactivation – methicillin-resistant Staphylococcus aureus – cationic porphyrin*

Ներկայումս մետիցիլինի նկատմամբ կայուն *Staphylococcus aureus* շտամը (MRSA) ամենատարածված պոլիռեզիստենտ բակտերիաներից մեկն է համարվում: Միկրոօրգանիզմների ֆոտոդինամիկ ինակտիվացումը (ՖԴԻ) ֆոտոսենսիբիլիզատորների (ՖՍ) կիրառմամբ հակաբիոտիկների նկատմամբ կայուն բակտերիաների դեմ կարող է հանդիսանալ արդյունավետ և այլընտրանքային թերապիայի տարբերակ: Նոր կատիոնային պորֆիրին Zn-TBut4PyP-ի արդյունավետությունը փորձարկվել է *S. aureus* -ի երկու շտամների (MRSA և մետիցիլինի նկատմամբ զգայուն *S. aureus*) նկատմամբ: Ցույց է տրվել, որ Zn-TBut4PyP-ը երկու շտամների նկատմամբ էլ ցուցաբերում է բարձր ֆոտոդինամիկ ակտիվություն:

*Ֆոտոդինամիկ ինակտիվացում – մետիցիլինի նկատմամբ կայուն Staphylococcus aureus – կատիոնային պորֆիրին*

В настоящее время метициллин-резистентный штамм *Staphylococcus aureus* (MRSA) является одним из наиболее распространенных полирезистентных бактерий. Фотодинамическая инактивация (ФДИ) микроорганизмов с применением фотосенсибилизаторов (ФС) может быть эффективной и альтернативной терапевтической возможностью против устойчивых к антибиотикам бактерий. Эффективность нового катионного порфирина Zn-TBut4PyP была протестирована на двух штаммах *S. aureus* (MRSA и метициллин-чувствительного *S. aureus*). Показано, что Zn-TBut4PyP проявляет высокую фотодинамическую активность в отношении обоих штаммов.

*Фотодинамическая инактивация – метициллин-резистентный Staphylococcus aureus – катионный порфирин*

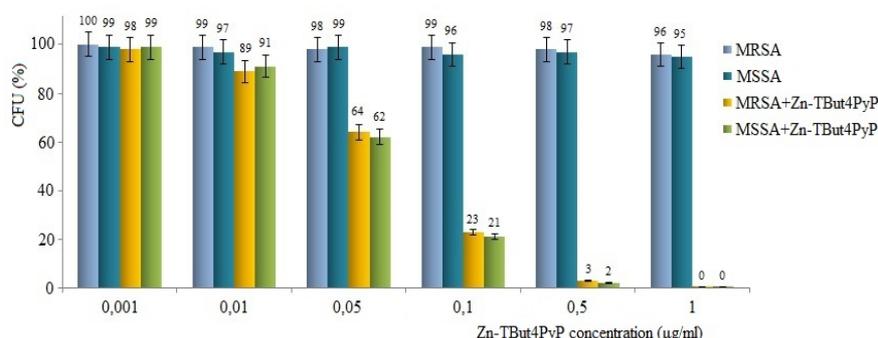
MRSA causes major clinical problems. In the USA, the number of deaths due to MRSA strains is equivalent to the total number of deaths from acquired immuno

deficiency syndrome (AIDS), tuberculosis and viral hepatitis [1]. Currently the PDI of microorganisms via photosensitizers (PS) is one of the most perspective directions for destruction of antibiotic resistant microorganisms [4, 5]. PSs are dyes of natural or synthetic origin, basically porphyrin-related compounds, which are able to generate reactive oxygen forms under illumination [2, 5].

The current study is aimed at the investigation of differences in response to photoinactivation between MRSA and methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA) strains. The new cationic porphyrin Zn-TBut4PyP (Zn-meso-tetra-[4-N-(2'-butyl)pyridyl]porphyrin) was used as PS. Zn-TBut4PyP had an inner tetracationic charge and high quantum yield of singlet oxygen generation (97 %) [3].

Bacterial suspensions consisting of  $10^9$  colony forming units (CFU) per milliliter were incubated for 10 min in the dark at room temperature with PS of different concentrations (from 0.001 to 1  $\mu\text{g/ml}$ ) and then irradiated 30 min with white light (30  $\text{mW/cm}^2$ ). Percent survival was performed by counting CFU from cells incubated with a photosensitizer after irradiation and dividing it by the number of CFU from cells incubated with a photosensitizer before irradiation.

Studies evaluating the susceptibility of photodynamic inactivation on sensitive and resistant strains revealed that both strains were susceptible to photodynamic therapy when the appropriate combination of photosensitizer and light was used. An incubation with 1  $\mu\text{g/ml}$  Zn-TBut4PyP followed by illumination, yielded a 9  $\text{Log}_{10}$  (100 %) decrease in the viable numbers of MRSA and MSSA strains, indicating that the Zn-TBut4PyP had a high degree of photodynamic inactivation (fig. 1).



**Fig. 1.** Response of MRSA and MSSA strains to Zn-TBut4PyP-mediated PDI. Each value is the mean from three independent experiments  $\pm$  standard deviation.

These data reinforce suggestions that PDI may be an alternative treatment for localized infections caused by multidrug-resistant pathogens.

## REFERENCES

1. Boucher H.W., Corey G.R. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Clin. Infect. Dis., Vol. 46(5), p. S344–S349, 2008.
2. Ergaieg K., Chevanne M., Cillard J., Seux R. Involvement of both type I and type II mechanisms in Gram-positive and Gram-negative bacteria photosensitization by a meso-substituted cationic porphyrin. Sol. Energy., 82, p. 1107-1117, 2008.

3. Gyulkhandanyan G.V., Ghazaryan R.K., Paronyan M.H., Gyulkhandanyan A. G., Sheyranyan M.A, Dzhagarov B.M., Tuchina E.S., Korchenova M. A., Tuchin V.V. Photophysical properties and photodynamic efficiency of cationic porphyrins. Proc. of SPIE, 8942, p. 894212-1-894212-9, 2014.
4. Kashef N., Ravaei Sharif Abadi G., Djavid G.E. Phototoxicity of phenohtiazinium dyes against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and multi-drug resistant *Escherichia coli*. Photodiagnosis. Photodyn. Ther., 9, 1, p. 11-15, 2012.
5. Maisch T., Hackbarth S., Regensburger J., Felgenträger A., Bäumlner W., Landthaler M., Röder B. Photodynamic inactivation of multi-resistant bacteria (PIB) – a new approach to treat superficial infections in the 21st century. J. Dtsch. Dermatol. Ges., 9, 5, p. 360-366, 2011.

Received on 24.06.2015