

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ
ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ
ՀԱՆԴԵՍ

БИОЛОГИЧЕСКИЙ
ЖУРНАЛ
АРМЕНИИ

ԲՈՎԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

Որդոխանյան Ա. Ա., Հաբուրյան Ռ. Մ., Դանիելյան Է. Ա. Վիճակագրական մեթոդական բերող լուրճատեսությունները մասնականից կենտրոնական հետազոտություններում	735
Մառտիրոսյան Ա. Ձ. Ոչ հիբարդիական կատար-անալիզը ստատիստիկ եղանակների հիման վրա երեխաների դասակարգման խնդիրների լուծման հարցում	744
Արեյան Տ. Կ., Ռաբոկյան Վ. Կ., Իունյանիցեր Ն. Ս., Չաբանյան Ա. Ս. Թվային սպեկտրալ անալիզի կազմակերպումը ֆիզիոլոգիական փորձի ավտոմատացման համակարգերում	747
Լուչանյան Կ. Ն. Երեխաների ամսան պրոցեսների խաղը հրկայնական-լայնական ուսումնասիրությունների էքսպրես-մեթոդը	752
Չաբանյան Ի. Մ. Օրգանաախտահարման արտահայտման բաղորդիվը արյան շիճուկում լակտատիդ-հիդրոգենազի մակարդակի մոնիթորինգի հետազոտությունների հիման վրա	753
Պողոսյան Կ. Ա., Զումարյան Կ. Մ., Մի քանի հարցեր նվիրված որոշակի նոդուլոցիաների ավտոմատ դասակարգմանը	763
Անան Ա. Վ., Ռեզիցյան Լ. Ս., Հակոբյան Փ. Ի. Պորինեուկենոլիդֆոսֆորիլազայի մաքրումը նազարի երկկամներից	769
Արմենյան Ս. Ա. ՇՆ-սուպերօքսիդիզմի անջատումը և մաքրումը փայծաղից	771
Պետրոսյան Ռ. Ռ., Իսկանյան Մ. Ա. Օ-ամինաթթվային օքսիդազի մաքրումը զորտի լյարդից	776
Խաչատրյան Գ. Գ., Զախարյան Ռ. Ա., Խաչատրյան Գ. Ս. Արտաբջային ցիկլիկ նուկլեոտիդները գլխուղեղում	781
Ղազարյան Տ. Ի. Առենաի ուղեղից և որոշ այլ օրգաններից անջատված պրոստեոլիպիդների սպիտակուցի C-ծալային ամինաթթուները	782

Համատար հաղորդումներ

Սպիտակուցային Լ. Մ. Օրգանների դասակարգումը հիբարդիական կատար-անալիզի մարմնի կազմվածքի փոփոխությունների կոորդինատների և նյութառաջան մարդաչափական եղանակների տարածության մեջ	791
Փոքրյան Ն. Լ. Ֆակտորային անալիզի կիրառման մասին դասակարգման եղանակով Այրիյան Ա. Պ., Հաբուրյան Ռ. Մ., Չաբանյան Ն. Ս., Սպիտակուցային Լ. Մ., Ռազախյան Ա. Ռ., Մուրադյան Լ. Մ. Հայկական ՍՍՀ Արարատի շրջանի պոպուլյացիաների զենետիկական դիֆերենցիացիայի մակարդակի գնահատումը ընտանիքների հանդիպման համախոսության հիման վրա	796
Գալստյան Կ. Ա., Խովսեյան Մ. Ա., Մուրադյան Ռ. Մ. Ներդրումներ Կ-ի ազդեցությունը առնետների լյարդի արգինազային ակտիվության վրա	798
Այվեռյան Ա. Ս. Պիրուլաթի, լակտատի և ըլ-կետոգլյուտարատի պարունակության հյուսվածքային փոփոխությունները ներստոսի Կ-ի ազդեցության ստվ	800
Խումարյան Զ. Գ., Մուրադյան Է. Ա. Արգինին-գլիցինի որանսմիթիլացումը կենսապական տարրեր օրգաններում	803
Տեր-Ղազարյան Ա. Շ., Տեր-Սիմոնյան Գ. Ս. Streptococcus Bovis Orla-Jensen և հարակից առնետների փոխադրումը Viridococcus Gen. nov, սեռ կապված ՍՍՀ կաթնաթթվային բակտերիաների ինվենտարիզացիայի հետ	806

ԵԼՔՆԵՐԱՄՆԵՐ

Շիրինյան Կ. Ա., Քումանյան Է. Ռ., Հաբուրյան Ռ. Մ. Ինքնաբեր ադորտների հաշվառումը քիմիական արդյունաբերության մեջ հարցազրույցի մեթոդով	812
Դրամյան Յ. Ս. Սրտի և թոքերի բազմաբանակ էմբոլիզացիայի վերաբերյալ	812
Ավալյան Ա. Կ., Տարապետյան Ն. Ս., Աղաջանյան Ա. Խ., Ավետիսյան Ս. Վ. Աղստապարանակող միացությունների գինամիական տոմատի արմատներում	813

Գրիգորյան Լ. Ա., Պետրոսյան Վ. Ս., Սարգսյան-Պետրոսյան Վ. Ն., Ձիթիկյան Բ. Կ. Հանքային պարարտանյութերի երկարատև կիրառման աղկերթվուները քիմիական խտանումների քիմիական կազմի և բերքատվության վրա	814
Պավլիսյան Փ. Ս. Բջջի քաղցրեղանյութի փրճակի և առուցքազրկացման ֆիզիկա-քիմիական, կառուցվածքային և խմածությունային հիմունքների շուրջ	815

Լրացում

Եղիաշչիկովա Ս. Ս., Սիլյան Ս. Ս., Օ. Գ. Բակավաձյան «Исперо-соматические диффе- рентные системы гипоталамуса». Л., изд. «Наука», 1985 г., 312 с.	817
---	-----

СОДЕРЖАНИЕ

Տրդուխանյան Ա. Ա., Արությունյան Ր. Մ., Դանիելյան Յ. Ա. Хarakterные особенности статистического подхода в современных биологических исследованиях	735
Մարտիրոսյան Ա. Յ. Ненерархический кластер-анализ в решении задач классифика- ции детей на основе соматометрических признаков	741
Արսիան Դ. Դ., Բարսեղյան Վ. Դ., Դուրաձիցի Ե. Բ., Շոբաչյան Ա. Ս. Организа- ция цифрового спектрального анализа в системах автоматизации физиоло- гического эксперимента	747
Պախաթյան Դ. Մ. Экспресс-метод смешанного продольно-поперечного исследования ростовых процессов у детей	752
Հարությունյան Ս. Մ. Алгоритм выявления органопоражения на основе модельных ис- следований уровня лактатдегидрогеназы в сыворотке крови	758
Սոսոյան Դ. Ս., Դեմիրճյան Կ. Մ. Некоторые вопросы автоматической классифи- кации внутри определенных нозологий	763
Անանյան Ա. Վ., Բեկիրճյան Խ. Օ., Առուստյան Զ. Մ. Очистка пуринопуриндезидро- фосфорилазы почек кролика	768
Սիմոնյան Մ. Ա. Выделение и очистка Су-, Зп-супероксиддисмутазы из селезенки	773
Սեդրակյան Դ. Ր., Դավթյան Մ. Ա. Очистка оксидазы D-аминокислот печени лягушки	776
Դանիելյան Դ. Դ., Զաքարյան Բ. Ա., Պախաթյան Դ. Մ. Внеклеточные циклические нук- леотиды в головном мозге	781
Կոչարյան Դ. Մ. С-концевые аминокислоты белка протелинлинов из мозга и некото- рых других органов крысы	787

Краткие сообщения

Երևանյան Լ. Մ. Классификация объектов нерархическим кластер-анализом и пространстве исходных антропометрических признаков и координатах фак- торов телосложения	791
Տորոսյան Ե. Ս. Об использовании факторного анализа в целях классификации	793
Այրիսյան Ա. Ս., Արությունյան Ր. Մ., Կոչար Դ. Ր., Երևանյան Լ. Մ., Բաժանյան Ա. Ր., Մուսաբեկյան Լ. Մ. Оценка уровня генетической дифференциации популяций Араратского района Армянской ССР на основе частот встречаемости фамилий	796
Դավթյան Կ. Ա., Դավթյան Մ. Ա., Տրդուխանյան Ր. Մ. Влияние нейрого르몬а К на ар- ганизмную активность печени крыс	798
Ալեքսանյան Ս. Ս. Гкапевые изменения содержания пирувата, лактата и α-кетоглу- тарата под влиянием нейрого르몬а К	800
Դանիելյան Դ. Դ., Դանիելյան Յ. Ա. Аргинин-глицин трансаминирование в раз- личных биологических объектах	803
Կեր-Կազարյան Ս. Մ., Կեր-Սիմոնյան Ս. Ս. О переносе <i>Streptococcus bovis</i> Orla- Jensen и родственных видов в род <i>Viridococcus</i> Gen. nov. в связи с инвентаризацией флоры молочнокислых бактерий СССР	806

Рефераты

Շիրինյան Դ. Ս., Կոչարյան Յ. Ր., Արությունյան Ր. Մ. Учет самопроизвольных збор- тов методом интервью на химическом производстве	812
Դրամիկ Գ. Ս. О множественном эхинококкозе легких и сердца	812
Ասատրյան Ա. Կ., Կոչարյան Ե. Օ., Կապուսյան Ա. Մ., Կապուսյան Ս. Վ. Динамика азотсодержащих соединений в корнях томата	813

<i>Григорян Л. А., Петросян В. А., Сухова-Петросян В. Ч., Чилингарян Е. К.</i> Влияние длительного применения минеральных удобрений на урожайность и химический состав природного сенокоса	814
<i>Давидян Д. Б.</i> К физико-химическим, структурным и системным основам функ- ционального состояния клетки и опухолеобразования	815

Хроника

<i>Мисахшикова С. С., Силва М. С. О. Г. Бакалавджян</i> «Висцеро-соматические дифференциальные системы гипоталамуса». Л., изд. «Наука», 1985 г., 312 с.	817
--	-----

C O N T E N T S

<i>Ordukhantian A. A., Arutyunyan R. M., Danteljan E. A.</i> Characteristic Peculiarities of Statistical Approach in Modern Biological Investigations	735
<i>Martirosian A. Z.</i> Non-Hierarchical Cluster-Analysis for the Solution of Children Classification Problems on the Basis of Somatometric Signs	744
<i>Areshian T. G., Barseghian V. D., Dunayvitser E. B., Chobanian A. S.</i> Organization of Digital Analysis in Systems of Physiological Experiment Automatization	747
<i>Khachatryan G. N.</i> Express-Method of Mixed Cross-Longitudinal Investigation of Growth Processes of Children	752
<i>Zaraphyan I. M.</i> Algorithms of Organ Affections Expression on the Basis of Model Investigations of Lactate dehydrogenase Level in the Blood Serum	758
<i>Poghosyan G. S., Juharyan K. M.</i> Some Aspects of Automatic Classification within Definite Nosologies	763
<i>Ananiev A. V., Bezirjan H. O., Akopyan J. I.</i> Purification of Purine Nucleoside Phosphorylase from Rabbit Kidney	768
<i>Symonjan M. A.</i> Isolation and Purification of Cu/Zn-Superoxide Dismutase from the Spleen	774
<i>Petolian R. R., Davtian M. A.</i> Purification of D-Amino Acid Oxidase from Frog Liver	776
<i>Galstian H. H., Zakarian R. A., Khachatryan G. S.</i> Exogenous Cyclic Nucleotides in the Brain	781
<i>Kazarian T. I. C.</i> Terminal Amino Acids of Proteolipids Proteins from Brain and Some Other Organs of Rat	787

Short Communications

<i>Yepiskoposian L. M.</i> Classification of Objects by Cluster-Analysis in the Space of Initial Anthropometric Signs and Coordinates of Factors of Blood	791
<i>Torosian E. Kh.</i> On the Application of Factor Analysis with the Purpose of Classification	793
<i>Atriyani A. P., Arutyunyan R. M., Kochar N. R., Yepiskoposian L. M., Badalyan A. R., Musayelian L. M.</i> Evaluation of Genetic Differentiation Level of the Armenian SSR Ararat Region Populations on the Basis of Families Names Frequencies	795
<i>Galoyan K. A., Davtian M. A., Srapionian R. M.</i> Influence of Neurohormone K on the Arginase Activity of Rats Liver	798
<i>Aleksanian S. S.</i> Tissue Changes in the Content of Pyruvate, Lactate and α -Ketoglutarate under the Influence of the Neurohormone K	800
<i>Zhamkharian H. G., Mantachian E. A.</i> Arginine-Glycine Transamidation in Various Biological Objects	803

<i>Ter—Kasarian S. Sh., Ter—Simontan P. S.</i> On the Transfer of <i>Streptococcus Bovis</i> Orla-Jensen and Relative Species into the <i>Viridococcus</i> Gen. nov. Genus in Connection with the Inventarization of the Flora of Lactic Acids Bacteria of the USSR	806
---	-----

Abstracts

<i>Shirtnian G. S., Tumanian E. R., Harutiunian R. M.</i> Registration of Self-Arbitrary Abortions by the Method of Interview in Chemical Industry . . .	812
<i>Dramplian F. S.</i> On Multiple Echinococcus of the Lungs and Heart	812
<i>Avagian A. G., Tarosova E. O., Aghajanian A. Kh., Avetisian S. V.</i> Dynamics of Nitrogen-containing Compounds in the Roots of Tomato	813
<i>Grigorian L. A., Petrosian V. A., Sukhova—Petrosian V. N., Chilingarian E. K.</i> Influence of Long Use of Mineral Fertilizers on the Chemical Composition and Productivity of Natural Haymaking	814
<i>Davidian D. B.</i> To Physico-Chemical, Structural and System Principles of the Cell Cancer Condition and Tumourformation	815

Chronics

<i>Musyashchikova S. S., Sinyaya M. S., O. I. Баклаваджян</i> „Висперо-соматические эфферентные системы гипоталамуса“. Л., изд. „Наука“, 1985 г., 312с.	817
---	-----

Биол. ж. Армении, т 39, № 9, с. 735—743, 1986

УДК 616.7:681.3+621.391.193

ХАРАКТЕРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СТАТИСТИЧЕСКОГО ПОДХОДА В СОВРЕМЕННЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

А. А. ОРДУХАНИЯН, Р. М. АРУТЮНЯН, Э. А. ДАНИЕЛЯН

РНБЦ МЗ Армянской ССР, Ереван, Ереванский государственный университет

Аннотация — Обсуждаются характерные особенности статистического подхода в биологии на современном этапе. Предложен сценарий биоматематического моделирования в качестве адекватного подхода при решении конкретных биологических задач. Универсальность подхода продемонстрирована на примерах его использования авторами в различных областях (фармакология, иммунология, физиология, цитогенетика).

Սեռույթիւր — Բնութագրվում են կենսաբանության մեջ ժամանակակից փուլի ճիշտ-կազմակերպման մոտեցման ընտրող յուրահատկությունները: Առաջարկվում է կենսամաթեմատիկական մոդելավորման սցենար, որը հանդիսանում է ադեկվատ մոտեցում կոնկրետ կենսաբանական խնդիրների լուծման համար: Մոտեցման բազմակողմանիությունը դրսևացրվում է տարբեր բնագավառներում Վերինսկիների փորձից բխող օրինակները վրա լծարվակողորմ, իմունոլոգիա, ֆիզիոլոգիա, ցիտոգենետիկա):

Abstract — The characteristic aspects of statistical approach in modern biological application are discussed. The scenario of biostatistical modelling is proposed. It shows its adequacy for the solving of concrete biological problems. The universality of the proposed approach is demonstrated on the examples, that are the result of authors own experience in various branches (pharmacology, immunology, physiology, cytogenetics).

Ключевые слова: моделирование биоматематическое, многокритерный статистический анализ, функциональные системы организма.

В моделировании биологических процессов выделяются два направления: детерминистическое и стохастическое (статистическое). Детерминистическое описание биологических объектов в условиях неопределенности обычно затруднено. В биомедицинских исследованиях неполнота информации о ряде процессов диктует необходимость при их моделировании использовать статистический подход.

Статистический подход в собственно биологии неоднократно обсуждался, мы же будем концентрировать внимание на накопленном опыте использования биоматематического моделирования (БММ) в интерпретации Пайла [20]. Обсуждение статистического подхода и моделирования на современном этапе позволяет выделить ряд особенностей и рекомендовать иллюстрированную примерами программу использова-

ния БММ в конкретных прикладных биологических исследованиях. На наш взгляд, при этом следует руководствоваться следующими положениями.

1. *Многомерность БММ*—отражает сложность биологических объектов, следствием чего является взаимосвязь параметров соответствующей математической модели; это диктует необходимость привлечения многомерного статистического анализа с элементами теории распознавания образов.

2. *Простота БММ*. Может создаться ложное представление, что решение все более общих задач в биологии влечет за собой усложнение математических моделей. Последнее должно диктоваться только невозможностью решения новых задач в рамках прежних моделей. Отказ от простой модели обоснован в случае, если неадекватность ее решаемой задаче доказана. Таким образом, одним из принципов моделирования является принцип простоты («брита Оккама»).

3. *Формирование словаря БММ*. В ряде работ неудовлетворительные или противоречивые результаты являются следствием применения неадекватного словаря. Верное определение терминологии является одной из основных предпосылок успеха анализа в целом.

4. *«Сценарий» БММ*. Как правило, комплексное применение определенных моделей обусловлено не решением группы частных вопросов, а необходимостью исследования иерархии подзадач. Определение иерархии подзадач и составляет «сценарий» БММ. Естественно, что такого рода сценарий не является жесткой схемой, а создается с целью варьирования модели в зависимости от решаемой задачи.

Теперь на примерах обсудим сформулированные выше положения.

Пример 1. Поиск биологически активных соединений. В конце XIX века в рамках одномерной регрессионной модели [14] была установлена зависимость местного анестезирующего эффекта от липофильности в узком гомологическом ряду. Множество подобных соотношений, подтверждающих идею взаимозависимости биологических свойств молекул с их физико-химическими свойствами, вселяли уверенность в возможность нахождения универсальной зависимости «структура—активность» методами одномерного статистического анализа. Однако «райский мираж» вскоре рассеялся [19].

Рост исследований по количественному анализу зависимости «структура—активность» (КАСА) в 60—70 гг. был связан с применением класса моделей множественной регрессии, в которых биологическая активность определяется уже в зависимости от ряда свойств структуры. Анализ зависимости от структуры не только основной активности, но и побочного действия препарата привел к усложнению математических моделей. Еще большее усложнение их необходимо, когда ограничения на количество анализируемых активностей отсутствуют (например, в рамках анализа канонической корреляции). Далее при поиске лекарственных препаратов с использованием методов распознавания образов математические модели еще более усложняются.

Пример 1 подтверждает тезис о многомерности БММ на современном этапе.

Пример 2. Иммунный ответ организма на ревакцинации против дифтерии и столбняка. Единственная модель долгосрочного иммунитета [13] имела сложное нелинейное математическое описание. В работах [3, 4] предложена и обоснована уже линейная (!) модель иммунного ответа в фиксированные моменты времени, получившая завершённый вид [3].

Пример 3а. (Подходы к параметризации структур для КАСА). Переход к математическим моделям множественной регрессии для КАСА в 60–70 гг. обусловил необходимость адекватной кодировки — параметризации определённых количественных характеристик химических структур

Из трёх возможных подходов к параметризации (эмпирического [11], полуэмпирического [15] и основанного на квантово-химических расчётах теоретического [16]) наиболее перспективным, на наш взгляд, является полуэмпирический, с которым и связан прогресс в современных исследованиях в данной области

Трудности, возникающие при практическом применении эмпирического подхода, связаны с невозможностью прогнозирования биологической активности новых членов анализируемого гомологического ряда [5]. К числу недостатков теоретического подхода относятся ограниченность и неоднозначность квантово-химического описания структуры в рамках существующих на сегодняшний день моделей [2]. Кроме того, как правило, расчёты производятся для молекул в вакууме и, тем более, не учитываются взаимодействия «препарат—рецептор», что вносит свою долю неопределённости.

Пример 3б. Эффект действия простагландинов на мозговое кровообращение. Существует множество работ, в которых утверждается сосудосуживающее действие простагландина E_1 ($PG E_1$) (см., например, [22]), в не меньшем числе работ доказывается обратное [18]). Наконец, имеются работы, вообще отрицающие вазоактивность простагландина E_1 [10].

С целью анализа реакции сосудов различных уровней пилальной системы вводится субъективная классификация по их калибру. Авторы [17] именно этим и пробуют объяснить разнонаправленность реакции сосудов. Однако, на наш взгляд, проблема обусловлена не столько различиями в калибрах сосудов, сколько различиями в их исходных функциональных состояниях. Действительно, один и тот же сосуд при введении препарата сначала может сузиться, а потом расшириться, что при измерении его в различные моменты фиксации не исключает противоположных выводов.

Примеры 3а и 3б обосновывают необходимость формирования словаря БММ.

Остановимся на общих положениях конструирования сценария БММ.

Сложные проблемы, возникающие при исследованиях в различных областях биологии (поиск лекарственных препаратов, действие физиологически активных веществ на отдельные функциональные системы

организма и т. д.), не всегда целесообразно решать в рамках отдельно взятой, даже весьма сложной математической модели. Поэтому более перспективно искать их решение путем реализации моделей в виде технологически и логически взаимосвязанных цепочек—сценариев БММ.

Наметим примерный сценарий, служащий ядром конкретных приложений, примеры которых приводятся ниже в качестве иллюстраций.

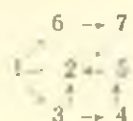


Рис. 1. Объяснение и текст.

На первом этапе (рис. 1) в силу принципа простоты апробируются линейные модели, т. е. восстанавливается вид функциональной зависимости (например, «доза—эффект»). Одним из приемов восстановления неизвестной функциональной зависимости является, например, полиномиальное сглаживание (пункт 1). Наличие адекватности линейного приближения явно упрощает последующий анализ (пункт 2—построение линейной модели). В большинстве задач биологии линейное приближение вполне приемлемо. Отсутствие адекватности можно объяснить следующим образом: а) процесс нелинеен; б) имеет место гетерогенность материала—случай, весьма часто встречающийся в биологических исследованиях.

В варианте а необходимо апробировать нелинейные модели (переход 3—2, построение нелинейной модели), естественно, более сложные. Однако зачастую нет необходимости в усложнении модели. Можно выявить более однородные подгруппы данных, внутри которых вполне возможно описание результатов в рамках линейных моделей.

В варианте б наличие гетерогенности (пункт 3) можно проверить разными способами, например, спроектировав данные на плоскость первых двух варимакс-факторов с последующим визуальным анализом проекции. Можно вычислить D^2 -расстояние Махаланобиса каждого объекта до общего среднего, что характеризует типичность объекта. Наконец, одним из общепринятых методов определения объективной классификации объектов является кластер-анализ.

При выявлении гетерогенности материала встает вопрос классификации, т. е. выделения более однородных групп в исходном материале (пункт 4), например, в рамках кластер-анализа. После выделения однородных групп следует определение решающих правил для отнесения того или иного объекта к одной из выделенных групп (пункт 5), что разрешается в рамках модели дискриминантного анализа. Далее для каждой из установленных групп возможен анализ на основе единой (например, регрессионной) модели (переход 5—2).

Отдельно можно выделить ветвь сценария, исследующую внутреннюю структуру параметров (пункты 6 и 7). Естественно, не все используемые в анализе параметры независимы. Корреляция параметров есть следствие взаимосвязанности их свойств. Еще более общий случай наблюдается, когда принципиальные свойства непосредственно не изме-

римы в эксперименте и о них можно составить представление лишь по имеющимся данным. Как правило, изучение внутренней структуры параметров, выявление непосредственно не измеримых в опыте принципиальных свойств и т. д. производятся с помощью факторного анализа (пункт 6). Если же интересующее свойство описывается набором показателей, то для нахождения их связи с экспериментальными переменными вместо ряда независимых регрессионных моделей предпочтительнее использовать модель канонической корреляции (рис. 1).

Приведем примеры применения предлагаемого сценария при решении конкретных биологических проблем.

Пример 4а. Поиск синтетических лекарственных препаратов (рис. 2).

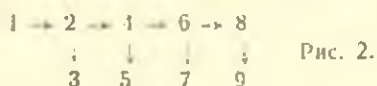


Рис. 2.

1—параметризация КАСА (параметры линейности соотношений свободных энергий); 2—доказательство адекватности КАСА для описания всего спектра (анализ канонической корреляции); 3—исследование внутренней структуры параметров (факторный анализ); 4—классификация по фармакологическому действию (кластер-анализ); 5—эталонные фармакологического действия (расчет D^2 -расстояния Махаланобиса); 6—классификация по физико-химическим свойствам (кластер-анализ); 7—эталонные по физико-химическим свойствам (D^2 -расстояние Махаланобиса); 8—взаимосвязь «класс фармакологического действия—физико-химические свойства» (линейный дискриминантный анализ); 9—дискриминантный анализ с более высокими членами.

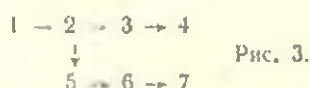
Проблема выдвигает специфические вопросы, связанные с многомерным описанием фармакологического действия и не свойственные классическому КАСА.

Во-первых, новую окраску принимает задача выброса параметризации структуры, ибо заранее не очевидно, что параметризация, удовлетворительно описывающая каждое из фармакологических свойств порознь, окажется приемлемой и при комплексном описании действия. С этим связана задача взаимосвязи физико-химических и фармакологических свойств.

Во-вторых, наиболее существенное отличие от КАСА—проблема определения понятия «предпочтительность». При анализе одного пика активности такой задачи не возникает: наиболее активное соединение, очевидно, является и наиболее предпочтительным. При одновременном анализе активности и токсичности задача усложняется—вводится индекс селективности, что сводит и этот случай к одномерному [21]. При анализе доступного спектра фармакологического действия эта задача требует специального внимания. Спецификой БММ в данном случае можно считать: 1) выбор адекватного базиса для описания структуры; 2) решение специфических задач, связанных с многопараметровым описанием действия, в частности, осмысление понятия «предпочтительность» в рамках данного подхода.

Реализация предлагаемого сценария для фармакологического действия (пять видов биологической активности) полусинтетических производных пенициллина приведена на рис. 2. Сценарий состоит из трех этапов: А. выбора адекватной параметризации и исследования взаимосвязей используемых параметров (пункты 1—3); В. определения аналога понятия «предпочтительность» (пункты 4—7); С. установления взаимосвязи фармакологического действия с физико-химическими свойствами структуры (пункты 8, 9). На этапе А доказывалась адекватность линейности соотношений свободных энергий для описания спектра действия; устанавливаются внутренние зависимости параметров [7]. На этапе В вводится многомерный аналог понятия «предпочтительность» — «препарат со схожим фармакологическим действием». Выделены основные классы фармакологического действия, определены эталоны для каждого из классов. Аналогичные результаты имеют место и в пространстве физико-химических параметров. Этап С приводит к статистически значимым соотношениям «спектр фармакологического действия» — физико-химические свойства структуры», что, видимо, и является решением проблемы [8].

Пример 4б. Иммунный ответ организма на ревакцинацию против дифтерии и столбняка. Недостатки варианта БММ из [13] уже отмечались. Для решения вопросов моделирования иммунного ответа общий сценарий нами модифицирован (рис. 3).



1—выбор анализируемых факторов (однофакторный дисперсионный анализ); 2—исследование выбранного базиса (мультиколлинированности); 3—внутренняя структура параметров (кластер-анализ); 4—взаимосвязь титров по дифтерии и столбняку (анализ канонической корреляции); 5—зависимость послепрививочного скачка (полиномиальное сглаживание);

$$\lg \frac{\text{Post}}{\text{Pre}} = a_0 + a_1 \lg \text{Pre} + a_2 (\lg \text{Pre})^2 + \dots;$$

6—исследование зависимости уровня титра в фиксированные моменты времени (линейная регрессия $\lg \frac{\text{Titer}}{\text{Pre}} = a_0 + a_1 \lg \text{Pre}$);

7—построение модели (множественная линейная регрессия).

В отличие от модели Готтлиба, на этапе 1 нашего сценария анализируется влияние такого рода факторов, как пол, группа крови, сезон ревакцинации и т. д. Ортогональность расширенного базиса обсуждается на этапе 2. Исследование внутренней структуры используемых параметров проводится на этапе 3. Выявлена значительная корреляция между дифтерийными и столбнячными титрами во все моменты фиксации. Поэтому на этапе 4 решается вопрос о взаимосвязи и динамике их изменения.

Наиболее существенным моментом в построении модели является исследование скачка послевакционного титра по сравнению с довакционным: $\lg \frac{\text{Post}}{\text{Pre}}$ от $\lg \text{Pre}$, который в модели Готтлиба постулируется в виде $10^{a_0 + a_1 + \lg \text{Pre}} \cdot a_2 (\lg \text{Pre})^2$, причем, как уже отмечалось, столь сложный вид зависимости не обоснован. На этапе 5 вопрос решается в пользу линейного приближения полиномиального сглаживания.

Следующий момент моделирования долгосрочного иммунитета — определение временной зависимости уровня антител. В предлагаемом сценарии [4] вместо сложной эмпирической зависимости, необоснованно вводимой Готтлибом и соавт., рассчитываются значения титров для определенных моментов фиксации (1,5, 6, 12, 24 и 36 месяцев). На основании результата предыдущего этапа на этапе 6 показана статистическая значимость линейности $\lg \frac{\text{Titer}}{\text{Pre}}$ от $\lg \text{Pre}$ с высокими коэффициентами корреляции.

На последнем этапе на основании анализа множественной регрессии строится модель иммунного ответа с отбором наиболее информативных параметров.

Пример 4а. Влияние вазоактивных простагландинов типа E₁ на пилальную систему мозгового кровообращения. Предлагаемая для исследования влияния PGE_1 на мозговое кровообращение модификация сценария приведена на рис. 4.

1 → 2 → 3 → 4

Рис. 4.

5 → 6 → 7 → 8

1—исследование зависимости «доза—эффект» (полиномиальное сглаживание); 2—построение линейной модели для описания изменения артериального давления и показателей кислотно-щелочного состояния крови (множественная регрессия); 3—исследование адекватности параметризации (каноническая корреляция); 4—зависимость «чистого» действия с эффектом на фоне базального уровня простагландинов (каноническая корреляция); 5—исследование внутренней структуры параметров и типичности поведения различных сосудов (факторный анализ; D^2 —расстояние Махаланобиса); 6—проверка различной параметризации для формирования термина «образ функционального поведения» (линейная разделимость, D^2 —статистика, мощность ЛДФ); 7—объективная классификация типов функционального поведения, определение эталонов (кластер-анализ, D^2 —расстояние Махаланобиса); 8—распознавание функционального поведения пилальных сосудов (дискриминантный анализ).

На основании данных о «колоколообразном» виде зависимости «доза—эффект» на этапе 1 исследуется зависимость изменения диаметров сосудов и артериального давления (АД) в фиксированные моменты времени. На этапе 2 строятся линейные модели для описания изменения АД и параметров кислотно-щелочного состояния крови.

Линейная модель описания изменения диаметров сосудов неадекватна экспериментальным данным. Поэтому на этапе 3 исследуется вопрос о принципиальной возможности описания изменения диаметров в рамках используемой параметризации. На этапе 4 изучается взаимосвязь действия Пг E_1 на фоне базального уровня простагландинов и при ингибировании их биосинтеза индометацином. Пункт 5 выявляет внутреннюю структуру параметров, а также сосуды с типичным и нетипичным поведением. Интересно отметить, что нетипичное поведение демонстрируют как крупные, так и мелкие сосуды [6, 12].

В пункте 6 апробируются три вида параметризации «образа функционального поведения», являющегося аналогом понятия вазоактивности: а) «чистого» действия, б) действия на фоне базального уровня простагландинов, в) комплексного описания. Адекватность параметризации проверяется с помощью тестирования объективной классификации по D^2 -статистике Махаланобиса или по интуитивно ожидаемому критерию — линейной разделимости классов. В пункте 7 дается объективная классификация функционального поведения пинальных сосудов и выявляются эталоны для всех пяти групп поведения. Наконец, на этапе 8 с помощью пошагового дискриминантного анализа находятся решающие правила для описания (и прогноза) поведения индивидуальных сосудов в течение 20 мин после введения определенной дозы Пг E_1 . Основные результаты применения сценария приведены в [6, 12].

Пример 4г. Исследование влияния протекторов на эффект действия мутагенов. На протяжении пятнадцати лет отлаживается методологический поиск математических подходов к моделированию механизмов действия протекторов на основе изучения кривых «концентрация мутагена — цитогенетический эффект» в отсутствие протектора и при его введении в культуру клеток.

Эмпирически отработанный сценарий полностью укладывается в предлагаемую нами схему. На этапе 1 выясняется возможность описания концентрационных кривых в рамках линейного регрессионного анализа. Этап обусловлен тем, что, как правило, зависимость «концентрация мутагена — эффект» для доли аберрантных клеток и количества разрывов в клетках имеет нелинейную форму. Поэтому необходимо путем определенного масштабирования линеаризовать кривую (например, один из возможных путей указан в [9]).

На этапе 2 тестируются одинаковые математические модели для вариантов, обработанных мутагеном с добавлением протектора и без него. Таким образом, на данном этапе решается вопрос о наличии влияния протектора на механизм действия мутагена. На этапе 3 исследуется внутренняя структура параметров, описывающих влияние протектора на эффект мутагена. Этап реализован в рамках модели кластер-анализа. На этапе 4 построение количественной модели влияния протектора на эффект действия мутагенов осуществляется в рамках множественного регрессионного анализа с пошаговым выбором информативных параметров [1].

Приведенные примеры, естественно, не исчерпывают имеющегося даже у авторов опыта применения предлагаемого подхода и подтверждают наличие достаточно широкого спектра применений универсального сценария БММ. В дальнейшем, очевидно, еще больше расширится спектр приложений, что будет способствовать проверке, уточнению и обогащению сценария БММ, наполняя его новым содержанием.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арцунян Р. М. Модификация химического мутагенеза в клетках человека. Ереван, 1985.
2. Ландиу М. А. Хим.-фарм. ж., 9, 112—114, 1982.
3. Манасян Е. В. Автореф. канд. дисс., М., 1984.
4. Ордуханян А. А., Манасян С. В. Биол. ж. Армении, 36, 7, 592—596, 1983.
5. Ордуханян А. А. Автореф. канд. дисс., М., 1979.
6. Ордуханян А. А., Налбандян С. Г. В кн.: I Всесоюз. конф. «Фитнохимия, патология и фармакология мотного кровопобращения». Ереван, 131—132, 1984.
7. Ордуханян А. А., Ландиу М. А., Миджоян Ш. Л., Тер-Захарян Ю. З. Хим.-фарм. ж., 2, 65—70, 1980.
8. Ордуханян А. А., Саркисян А. С., Ландиу М. А., Миджоян Ш. Л., Тер-Захарян Ю. З. Хим.-фарм. ж., 1, 63—66, 1983.
9. Чеботарев А. Н., Яковенко К. Н. Генетика, 10, 8, 150—157, 1974.
10. Carlson L. A., Ekelund L. G., Oro L. L. Acta Med. Scand., 183, 423—430, 1968.
11. Free S. N., Willson J. M. J. Med. Chem., 7, 395—399, 1964.
12. Gabrielyan E. S., Amroyan E. A., Nalbandian S. G., Ordukhanian A. A. In: Application of new electronic instruments in chemical and experimental pharmacology, Ithringen, 102—105, 1984.
13. Gottlieb S., Martin M., MacLaughlin F. Y., Panam R. Z., Levin L., Edsall G. Amer. J. Epidemiol., 85, 2, 207—219, 1967.
14. Grum-Braun A., Frazer T. Trans. Roy. Soc. Edinb., 25, 151, 1869.
15. Hansch C., Leo A., Elkins D. J. Chem. Soc., 14, 2, 57—69, 1974.
16. Kier L. B. In: Fundamental concepts in drug-receptor interactions, N. Y., 1970.
17. Mackenzie E. T., Strangward S., Graham D. J. Circulation Res., 39, 1, 33—41, 1976.
18. Nakano J., Chang A. C., Fisher R. G. J. Neurosurgery., 38, 32—39, 1973.
19. Parascandola J. Pharmacy in History, 18, 1, 3—10, 1971.
20. Pell J. Biom. J., 21, 1, 57—70, 1979.
21. Tichy M. In: Quantitative structure-activity analysis, 359, Berlin, 1978.
22. Yamamoto Y. I., Wolfe L. S., Hodge C. P., Feindel W. Excerpta Medica Intern. Congress Series, 293, 56, 1973.

Поступило 15.IV 1986 г.

НЕИЕРАРХИЧЕСКИЙ КЛАСТЕР-АНАЛИЗ В РЕШЕНИИ ЗАДАЧ КЛАССИФИКАЦИИ ДЕТЕЙ НА ОСНОВЕ СОМАТОМЕТРИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ

А. З. МАРТИРОСЯН

РНИЦ МЗ Армянской ССР, Ереван

Аннотация — Получена объективная классификация 17-летних мальчиков на основе 30 соматометрических признаков с помощью предложенной ранее неперархической модели кластер-анализа. На основе линейной разделимости полученных групп эта классификация сравнивалась с классификацией, полученной из перархической модели кластер-анализа в пространстве варимакс-факторов.

Անոտացիա — Ստացված է 17-ամյա տղաների օբյեկտիվ դասակարգումը 30 սոմատոմետրիկ նշանների հիման վրա՝ նախկինում առաջարկված կլաստեր-անալիզի ոչ հիերարխիական մոդելի միջոցով: Ստացված խմբերի զեմային բաժանելիության հիման վրա այդ դասակարգումը համեմատված է վարիմակս-ֆակտորների տարածության մեջ կլաստեր-անալիզի հիերարխիական մոդելից ստացված դասակարգման հետ:

Abstract—The objective classification of 17-year-old boys on the basis of 30 somatometric signs with the help of the earlier proposed non-hierarchical model of cluster-analysis has been obtained. On the basis of linear divisibility of the obtained groups this classification has been compared with those, obtained from hierarchic model of cluster-analysis in the space of varimax-factors.

Ключевые слова: кластер-анализ, варимакс-фактор, морфологический статус, дискриминальный анализ.

Последние годы характеризуются все более широким проникновением математических методов в биомедицинские исследования, причем антропологические данные в этих работах всегда занимали одно из ведущих мест.

Одной из интересных задач, решаемых с привлечением математических методов, является объективная классификация детей согласно морфологическому статусу. Наиболее приемлемой математической моделью для решения классификационных задач, как известно [5], является кластер-анализ. Необходимо отметить, однако, что несмотря на бурное развитие прикладных работ по кластеру-анализу [2, 6], применяемые модели носят в основном иерархический характер со всеми вытекающими из их природы ограничениями [3, 4].

В настоящей работе для объективной классификации на основе антропометрических признаков используется один из ранее предложенных неиерархических алгоритмов, преимущества которого были проиллюстрированы на искусственно сгенерированных данных [3].

Для апробации предложенной модели проведена классификация 100 мальчиков 17-летнего возраста, учащихся средних школ г. Еревана. Каждый объект представлен точкой в 30-мерном пространстве антропометрических признаков, в основном описы-

вающих его морфологический статус [1]. Количественная оценка работы алгоритма осуществлена на основе достигнутого уровня линейной разделимости классов с помощью результатов пошагового дискриминантного анализа.

В результате работы алгоритма выделено 7 четко различающихся групп численностью 30, 14, 13, 7, 7, 7 и 5 человек, которые обозначены буквами А, В, С, D, E, F, G.

Пошаговый алгоритм отбора наиболее информативных признаков позволил построить линейные дискриминантные функции (ЛДФ) для реклассификации и прогноза по методу скользящего контроля (табл. 1 и 2). Как следует из табл. 1, информативными оказались 9 признаков,

Таблица 1. Линейные дискриминантные функции

Группы	А	В	С	D	E	F	G
№ параметр- роп							
9	3.67	3.52	3.54	3.65	3.55	3.80	3.77
11	-0.29	-0.29	-0.31	-0.37	-0.18	-0.35	-0.29
17	5.73	6.00	5.56	5.81	5.41	5.74	6.12
18	-1.60	-1.55	-1.49	-1.58	-1.46	-1.65	-1.76
25	2.29	2.40	2.16	2.37	2.06	2.28	2.57
28	0.07	0.10	0.03	0.18	0.11	0.07	0.20
29	3.03	3.13	2.89	2.93	2.84	2.98	3.14
33	-0.76	-0.91	-0.53	-0.63	-0.14	-0.65	-0.94
СО	-4788.18	-5205.97	-4445.54	-4853.60	-4461.78	-4952.78	-5315.12

Примечание: 9—рост, 11—длина туловища, 17—длина кисти, 18—плечевой диаметр, 25—обхват грудной клетки, 28—обхват бедра, 29—обхват голени, 33—минимальный лобный диаметр, СО—константа.

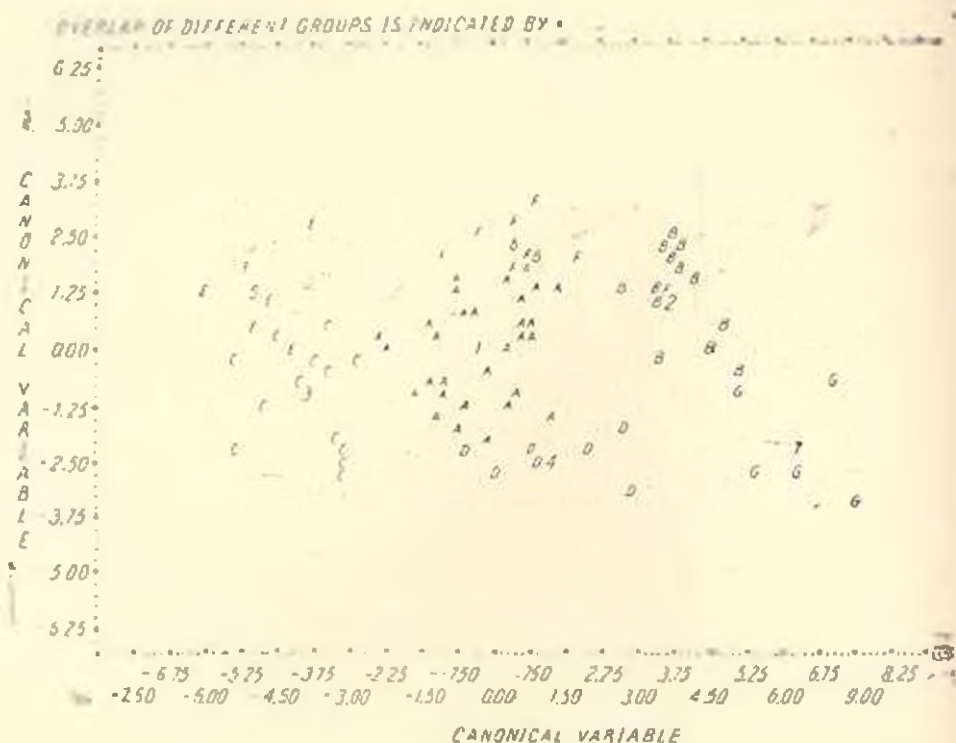
Таблица 2. Реклассификация и прогноз

Группы	Реклассификация								Прогноз							
	%	А	В	С	D	E	F	G	%	А	В	С	D	E	F	G
А	93.3	28						2	93.0	28						2
В	92.9		13					1	92.9		13					1
С	100.0			13					100.0			13				
D	85.7	1			6				85.7	1			6			
E	100.0					7			71.4					5		
F	100.0						7		85.7	1					6	
G	100.0							5	80.0		1					4
Средняя	95.2	29	13	13	6	7	10	5	90.4	30	14	15	6	5	9	4

описывающих основные длиннотные, широтные и обхватные размеры как головы, так и туловища и конечностей. Данные табл. 2 свидетельствуют о высокой описательной и прогностической мощности полученных ЛДФ: в среднем—95,2% реклассификации и 90,4% прогноза (результат, достаточно редко достигаемый в биомедицинских исследованиях). Графическая иллюстрация разделения групп представлена проекцией на плоскость двух первых канонических переменных (рис.).

Предметная интерпретация выделенных групп осуществлена на ос-

нове рисунка и анализа основных одномерных характеристик групп. Среди выявленных 7 групп можно выделить 3 класса детей, характеризующихся определенным уровнем соматического развития. Группы А, D и F представляют собой объекты, характеризующие так называемую норму, группы С и Е—микросоматики, В и G—макросоматики.



Проекция анализируемого множества на плоскость Фишера.

Интересно сравнить полученные результаты с данными иерархического среднесвязывающего кластер-анализа, проведенного на том же материале [1] и показавшего, что стандартный иерархический алгоритм не смог выявить статистически значимую классификацию в анализируемом 26-мерном пространстве соматометрических признаков (4 дополнительных параметра, использованных в нашей работе, имеют достаточно высокую корреляцию с рядом характеристик из 26 показателей). Даже применение этой модели в пространстве варимакс-факторов не привело к получению столь значимых результатов классификации и прогноза, какие достигнуты в настоящем исследовании. Автором достигнут уровень, равный приблизительно 80% (реклассификации и прогноза) [1].

Таким образом, полученные результаты позволяют утверждать, что предлагаемый неиерархический подход кластер-анализа предпочтителен, по меньшей мере, при решении задачи классификации объектов с использованием антропометрических признаков. Вместе с тем этот результат свидетельствует о применимости разработанных подходов не только для случаев ортогональных параметров (что показано

затор NTA-1024) и универсальной (EMG-666) мини-ЭВМ и позволяющего решать комплексные задачи обработки различных типов вызванных реакций нервной системы.

Исходной информацией является аналоговый биоэлектрический сигнал. После усиления он подается на аналого-цифровой преобразователь, где преобразуется в дискретную форму и после усреднения записывается в оперативное запоминающее устройство (ОЗУ) анализатора. Одновременно усредненный сигнал индицируется на экране дисплея анализатора, что дает возможность непосредственно контролировать ход эксперимента.

Для анализа и интерпретации исходных или усредненных кривых вызванных реакций с помощью мини-ЭВМ EMG-666 разработано программное обеспечение физиологического эксперимента в виде комплекса программных модулей (ПМ). На рис. 1 приведена блок-схема комплекса ПМ, разработанных в соответствии с алгоритмами, подробное описание которых содержится в работах [1—3].

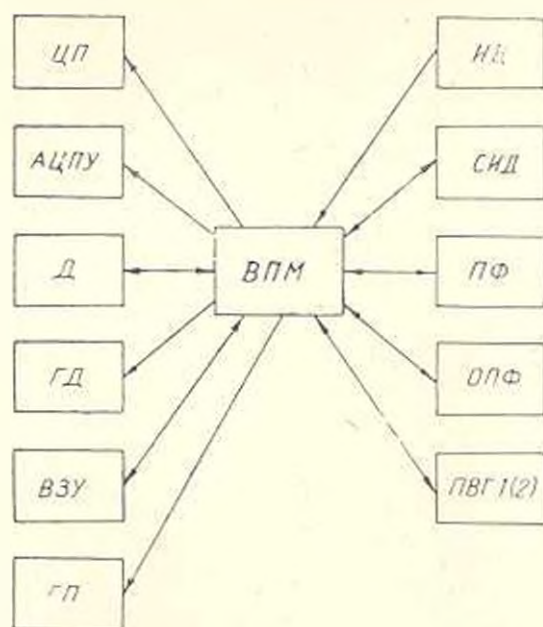


Рис. 1. Блок-схема комплекса программных модулей.

Рассмотрим ПМ в отдельности.

1. Для работы с ПМ сокращения избыточности данных (СИД) предварительно необходимо задать границу участка, на котором будет обрабатываться исходный сигнал. Границы задаются адресами ОЗУ анализатора. В этих границах вычисляется максимальный размах сигнала, который принимается за 100% при определении порога для сокращения избыточности. Порог соответственно задается в процентах, после чего начинается расчет аппроксимирующей кривой. На цифровое печатающее устройство (ЦП) выводятся заданный порог, количество каналов, в которых хранится результат обработки, и количество полученных неизбыточных отсчетов.

2. Для вывода аппроксимирующей кривой служит ПМ «Программа вывода графика 1» (ПВГ1), для которого исходной информацией являются число избыточных отсчетов, значение нулевой линии исследуемой кривой и информация, записанная в ОЗУ анализатора.

3. ПМ, осуществляющий преобразование Фурье (ПФ) от аппроксимирующей кусочно-ломаной кривой. Исходной информацией для ПФ являются адреса ОЗУ анализатора, в пределах которых находится подлежащая обработке часть аппроксимирующей кривой. Далее в диалоговом режиме с дисплея (Д) ЭВМ вводятся значения нулевой линии, масштабные коэффициенты по осям, минимальное, максимальное значения и логарифмический шаг по оси частот для расчета частотных характеристик. С помощью имеющегося у ЕМГ-666 программного переключателя регулируется вывод данных на алфавитно-цифровое печатающее устройство (АЦПУ). Могут быть выведены аппроксимирующая кривая в реальных числах и амплитудная частотная характеристика (АЧХ) с соответствующими частотами. На экран графического дисплея (ГД) анализатора выводятся графики АЧХ и минимой частотной характеристики (МЧХ).

4. ПМ «Программа вывода графика 2» (ПВГ2) предназначен для вывода АЧХ и МЧХ на графопостроитель (ГП). Исходная информация для программы извлекается из ОЗУ ЭВМ. В диалоге лишь запрашивается, которую из кривых необходимо вывести экспериментатору.

5. ПМ, предназначенный для выполнения обратного преобразования Фурье (ОПФ) от МЧХ. Исходная информация извлекается из ОЗУ ЭВМ, а в диалоговом режиме вводятся значения показателя фильтров Баттпорта, частота среза полосового фильтра, минимальное, максимальное значения и равномерный шаг по оси времени для расчета временного компонента, а также запрашивается, вывести ли на ГП компонент. Положением программного переключателя регулируется вывод на АЦПУ отсчетов компонента (время, амплитуда). На ГД компонент выводится во всех случаях.

Любой из перечисленных ПМ может быть запущен на выполнение при наличии необходимой исходной информации. Наличие в анализаторе и ЭВМ внешних запоминающих устройств (ВЗУ) на магнитной ленте позволяет записывать содержимое ОЗУ этих устройств на любом этапе обработки и продолжать обработку с любого этапа. Периферийные устройства, за исключением программно подключаемых, выбираются экспериментатором.

Данный комплекс используется нами для обработки следующих биосигналов: вызванных потенциалов головного мозга (ВП), электро-ретинограмм (ЭРГ), возбуждающих постсинаптических потенциалов (ВПСП), ассоциативных ответов (АО). Выбор ПМ, представленный на блок-схеме 1 как блок выбора ПМ (ВПМ), фактически осуществляется экспериментатором.

Рассмотрим несколько примеров обработки вызванных реакций нервной системы.



Для получения и обработки ЭРГ и ВП человека регистрация производилась с использованием кожных электродов по методике, описанной в работе [4]. Световой стимул, создаваемый импульсной лампой, подводился к исследуемому глазу посредством световода на расстоянии 2—3 см. Частота вспышки равнялась 0,4 Гц, дискретизация ЭРГ (ВП) проводилась с шагом 0,5 мс. После усреднения в анализаторе 20 суммаций для ЭРГ (100 суммаций для ВП) кривые записывались на ВЗУ или же сразу обрабатывались. Применение комплекса ПМ выявило три пика на частотных характеристиках (ЧХ) сигналов. Расчет полученных компонентов во временной области позволил разделить ЭРГ на три компонента—низкочастотный (собственно ЭРГ с волнами А и В), средне-частотный (обуславливающий раздвоение волн А и В) и высокочастотный (осцилляторный потенциал). Обработка производилась в диапазоне частот 0,1—500 Гц, логарифмический шаг равнялся 50 точкам на декаду. На рис. 2а показан исходный ЭРГ и его АЧХ, на которой видны три пика (первый в диапазоне частот до 50 Гц, второй—50—100 Гц и третий—свыше 100 Гц). На рис. 2б представлено ОПФ от этих трех компонент.

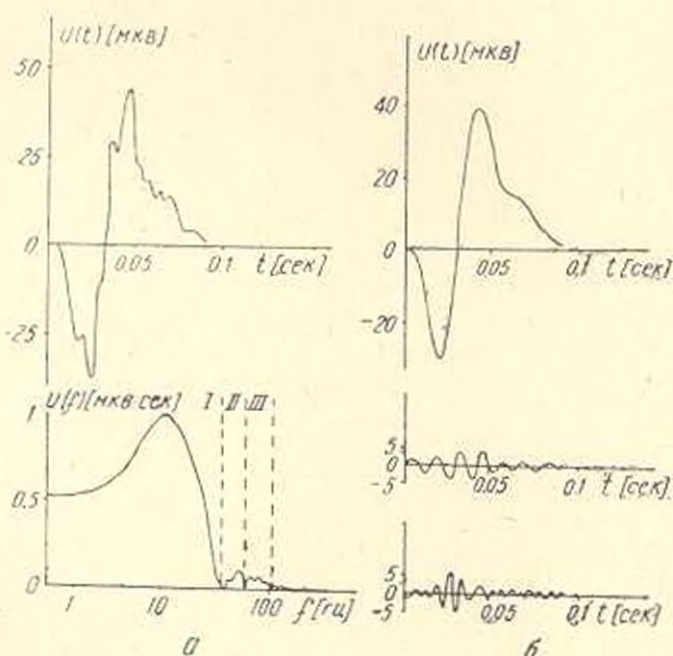


Рис. 2. Пример машинной обработки ЭРГ: а. исходный ЭРГ и расчетная АЧХ; б. временные характеристики выделенных компонент ЭРГ, полученные методом ОПФ.

ВПСП отводился внутриклеточно из нейронов крупноклеточной части красного ядра кошки. После усреднения в анализаторе (50 суммаций) кривые ВПСП хранились в ВЗУ или же сразу обрабатывались согласно комплексу ПМ. Полученные в результате обработки кривые ЧХ схожи с ЧХ апериодического звена первого порядка, которым можно представить модель нервной клетки [5]. По частоте излома логарифмической амплитудно-частотной характеристики (ЛАЧХ), а более точно

по минимуму мнимой составляющей амплитудо—фазовой частотной характеристики (АФЧХ), определялась постоянная времени мембраны нейрона Тм. На рис. 3 представлены исходная и сокращенная кривые ВПСП и его ЧХ. Обработка производилась в диапазоне частот 2—500 Гц, логарифмический шаг равнялся 50 точкам на декаду.

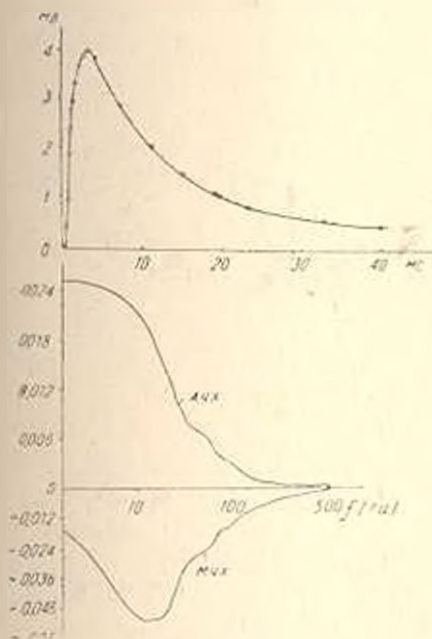


Рис. 3. Результаты машинной обработки ВПСП с использованием комплекса ПМ. Кружками обозначены избыточные отсчеты.

Сложные ассоциативные ответы, получаемые из разных точек супрасильвиевой извилины при контралатеральном раздражении лучевого нерва, и фокальные АО, получаемые по всему поперечнику коры, также подвергались обработке согласно комплексу ПМ. В зависимости от места регистрации АО имеют разные конфигурации, латенции и амплитуды. Обработка производилась в диапазоне частот 0—400 Гц, логарифмический шаг равнялся 50 точкам на декаду. Анализ компонентного состава АО по их ЧХ позволил выделить низкочастотный и высокочастотный компоненты, путем суммирования которых образуется АО. Различное место расположения пиков в частотной области говорит о том, что в формировании этих пиков участвуют разные системы: высокочастотный пик создается системой, вызывающей в коре ранний компонент, а низкочастотный—системой, вызывающей поздний компонент АО. Это предположение подтверждается данными анализа текущих спектров.

Приведенные параметры показывают, что разработанный комплекс ПМ можно применять для обработки широкого круга вызванных биоэлектрических реакций нервной системы.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Мелконян Д. С., Адамян С. Г., Арешян Т. Г., Роолийн Х. А., Шамшикова А. М. ДАН Арм ССР, 73, 3, 186, 1981.

2. Мелкоян Д. С. Биолог. ж. Армении, 35, 5, 480, 1982
3. Мелкоян Д. С., Арсисян Т. Г. Изв. АН АрмССР, сер. тех. наук, 5, 23, 1985.
4. Адамян С. Г., Барсегян Л. Г., Мелкоян Д. С., Роолайд Х. А. Журн. экспер. и клин. мед., 20, 2, 628, 1980.
5. Мелкоян Д. С., Мелкоян А. А., Мкртчян О. А., Саркисян Д. С., Хондкарян Н. С. В кн.: Нейронные механизмы интегративной деятельности мозжечка, Ереван, 242—247, 1979.

Поступило 30.I 1986 г.

Биолог. ж. Армении, т. 39, № 9, с. 752—757, 1986

УДК 577.151.64:577.152.111

ЭКСПРЕСС—МЕТОД СМЕШАННОГО ПРОДОЛЬНО-ПОПЕРЕЧНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ РОСТОВЫХ ПРОЦЕССОВ У ДЕТЕЙ

Г. Н. ХАЧАТРЯН

РИИЦ МЗ Армянской ССР, Ереван

Аннотация — Проведены продольно-поперечные исследования, в определенной степени решающие задачу классификации кривых роста путем разбиения на отдельные деревья. При помощи дискриминантного анализа выявлен информативный набор признаков. Получена возможность прогнозирования типа кривой роста конкретного ребенка и дефинитивной картины его морфофункционального статуса.

Անոտացիա — Անց են կացված երկայնական-լայնական ուղղմամբ ուսումնասիրություններ, որոնք որոշ առումով լուծում են կորերի աճման դասակարգման խնդիրը առանձին ծառերի բաժանման միջոցով: Դիսկրիմինանտ անալիզի միջոցով բացահայտված է տեսականիչների ինֆորմատիվ հավաքածուն: Ստացված է կոնկրետ երեխայի աճման կորի տեսակի և նրա մորֆոֆունկցիոնալ ստատուսի դեֆինիտիվ պատկերի կանխատեսման նախադրություն:

Abstract — The classification of growth curves by portioning them on different clusters was obtained using cross-longitudinal investigations. By discriminant analysis the informative set of signs was revealed. The possibility of prediction of the form of growth curve of a concrete child and the definitive picture of its morphofunctional status was obtained.

Ключевые слова: модель смешанная, продольно-поперечная, ближайший аналог, дублер, вырождение модели в дерево, дискриминантный анализ.

Изучение процессов роста и развития занимает одно из центральных мест в антропологии [5, 6]. Естественно, наиболее приемлемой с методологической точки зрения для подобных исследований является продольная схема [5]. Однако в целом эта схема практически трудно реализуема. Например, при исследовании перинубертатного периода онтогенеза человека (7—17 лет) данный подход требует 11-летних исследований. Поперечные же наблюдения, давая популяционную картину, непосредственно не приемлемы для построения кривых роста.

Значительный прогресс в исследовании роста и развития, наблю-

даемый в последние годы, большинство исследователей связывают с появлением смешанных продольно-поперечных моделей [1, 8]. Стыковка когорт в этих моделях представляет одну из основных проблем. В некоторых работах [8] эту проблему пытаются решить с помощью долгосрочного перекрывания исследуемых когорт (3—4-летних). Очевидно, что этот подход сближает смешанную схему с продольной, т. е. увеличивает сроки исследований.

Ранее [1] нами была предложена смешанная модель, основанная на одной точке перекрывания, что предполагает построение кривых роста в интервале 7—17 лет с помощью двухлетних поперечных исследований с наименьшими, в определенном смысле, потерями. Опишем предложенную модель.

Пусть $\{X_j^k\}$ ($k = 7, 8, \dots, 17$), ($j = 1, 2, \dots, M$), ($i = 1, 2, \dots, N_k$) матрица данных M соматических измерений $N = \sum N_k$ детей в K возрастных когортах в первый год исследований, а $\{Y_j^k\}$ — во второй год, т. е. область продольных исследований в предлагаемой смешанной модели ограничивается одним годом. Задача построения кривых роста в такой модели сводится к поиску наиболее схожих (в определенном смысле) объектов в $\{Y_j^k\}$ и $\{X_j^k\}$ наборах. Действительно, возьмем i -ого ребенка в 7-летней когорте— X_j^7 . Рост его в рамках продольной модели можно проследить лишь через год— Y_j^8 . Теперь, если в массиве $\{X_j^8\}$ отыскать наиболее близкий к Y_j^8 объект, например X_j^8 , то его дальнейшее развитие также можно проследить через год. Повторяя предыдущие рассуждения, можно построить последовательность X_j^7 ; X_j^8 и т. д., имитирующую наилучшим образом продольные исследования.

Поясним понятие схожести или «ближайшего аналога». Соматометрически каждый ребенок представляется точкой в 30-мерном пространстве своих параметров. Очевидно, чем ближе точки в соматометрическом пространстве этих координат, тем более схож морфологический статус детей. Под «морфологическим статусом» подразумевается как общий размер (крупность), так и пропорции (форма). Отметим, что существующие схемы анализа возрастной изменчивости длины тела обладают тем недостатком, что используемый признак характеризует в определенной мере лишь интегральный показатель размера, тогда как такой существенный показатель, как форма тела (пропорции), остается вне анализа. При многомерном описании объекта, при последующем анализе, учитываются как компоненты его размера, так и формы тела. Именно этот факт позволяет считать, что в анализируемом множестве соматометрических параметров заключена достаточная информация об интегральных показателях телосложения, обладающих высокой степенью генетической детерминации [2]. Поскольку сам процесс возрастных преобразований в организме ребенка (включая и хронологические аспекты этих явлений) наследственно обусловлен [3], можно предположить, что определенная часть генетической информации о ростовых процессах заложена в совокупности исследуемых признаков фиксированного возраста (статистические данные). Именно поэтому предлагаемая схема имитации приобретает биологический смысл.

Введем строгую меру схожести: объект i во множестве $\{X^k\}$ будет считаться «ближайшим аналогом» объекта j во множестве $\{Y^k\}$ если:

$$\varphi_{ij}^k = |X_i^k - Y_j^k| = \sum_{l=1}^n (X_{il}^k - Y_{jl}^k)^2 = \min_{\substack{l \in X^k \\ q \in Y^k}} \varphi_{l,q}^k.$$

Очевидно, что определение не совсем отвечает интуитивно ожидаемому. Действительно, возможен случай, когда почти все X_{il}^k и Y_{jl}^k близки. Тогда φ_{ij}^k будет минимальной, однако по какому-то параметру разница может достичь достаточно большой величины. Для исключения подобных ситуаций вводится дополнительное ограничение:

$$\max_i \left| \frac{X_{il}^k - Y_{jl}^k}{X_{il}^k + Y_{jl}^k} \right| < A;$$

Нормировка осуществляется для нивелирования масштаба различных показателей. Кроме того, возможен случай, когда даже «ближайший аналог» оказывается недостаточно близким. Для исключения большой ошибки вводится ограничение на «ближайшего аналога».

$$\varphi_{ij}^k = |X_i^k - Y_j^k| < B.$$

Параметры модели A и B подбираются эмпирически из машинных экспериментов (в настоящей работе оптимальным считается $A=0.4$ и $B=116$).

Необходимо отметить еще одну немаловажную деталь алгоритма. «Ближайший аналог» в когорте $\{X\}^k$ отбирается последовательно для объектов из $\{Y\}^k$, т. е. не исключается случай, когда тот же объект из $\{X\}^k$ будет ближайшим для нескольких из $\{Y\}^k$. Именно это соображение вынудило нас отказаться от строгой идеи взаимнооднозначного соответствия между $\{X\}^k$ и $\{Y\}^k$. Таким образом, в одну сторону соответствие неоднозначно. Это означает, что модель вырождается в дерево, т. е. один и тот же объект 7-летней когорты в рамках модели будет соответствовать нескольким 17-летним.

Машинные эксперименты показали, что в рамках описанной модели практически невозможно завершить имитацию. Это в основном связано с недостатками исходного материала (часть детей, переходящих в другие школы, выпадала из анализа второго года). Для преодоления этих трудностей вводится дополнительное понятие — «дублер», каковым является следующий по близости объект из $\{X\}^k$ когорты. Таким образом, если имитационное дерево обрывается на каком-то шаге (ввиду отсутствия данных второго года по «ближайшему соседу»), то имеется возможность его продолжения за счет «дублера». На рис. 1 представлены результаты проведенной имитации.

Очевидно, что предлагаемая модель должна быть весьма чувствительна к сензитивным периодам роста и развития, а количественной оценкой сензитивности может служить относительная суммарная ошибка имитации для данной когорты (рис. 2).

Заранее в модели не была заложена идея классификации кривых роста, однако, как видно из рис. 1, модель сама в процессе работы

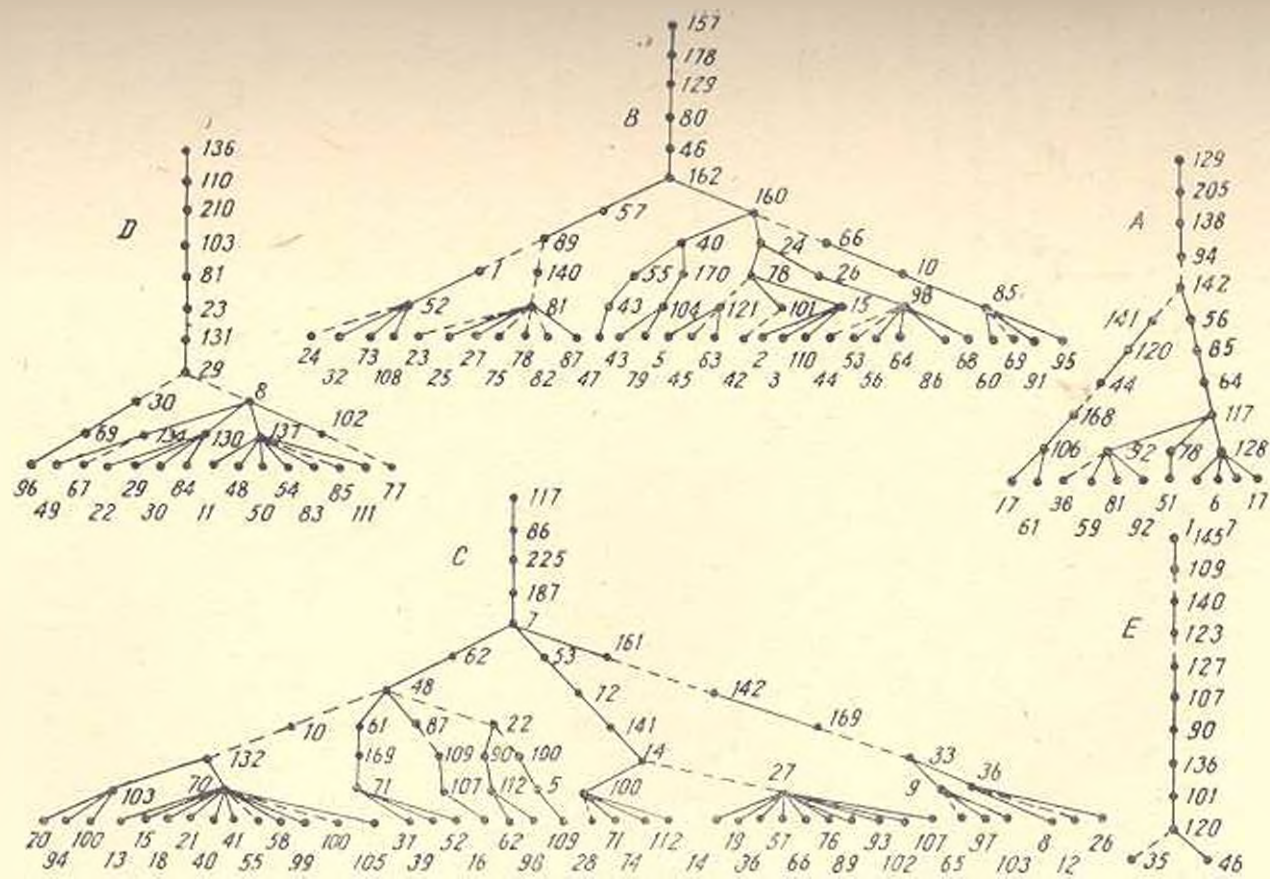


Рис. 1 Классификация кривых роста путем разбиения на деревья.

одновременно в определенной степени решала и задачу классификации, путем разбиения кривых на отдельные деревья. Общим для большинства полученных деревьев является тот факт, что до определенного возраста (11—13 лет) процесс построения кривой роста однозначен, дискретность появляется на следующих этапах, в период полового созре-

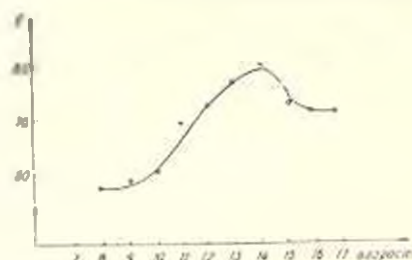


Рис. 2. Возрастная ошибка суммарной динамики.

вания. Из полученных типов кривых 2, по всей вероятности, являются крайними вариантами, соответствующими росту наиболее крупных (класс E) и, наоборот, наиболее низкорослых, но с относительно большой массой (класс D) детей.

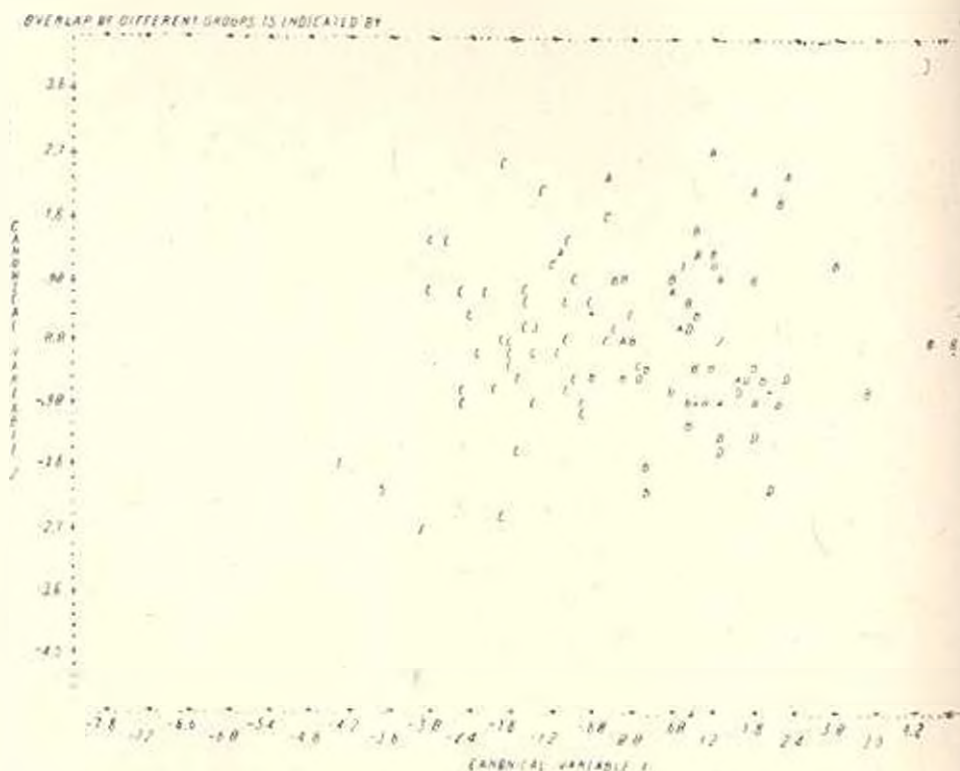


Рис. 3. Проекция анализируемого множества на плоскость Фишера.

Для оценки значимости различий между группами детей, принадлежащих к одному дереву, по сравнению с группами, относящимися к разным деревьям, был проведен ДА с пошаговым выявлением информативных признаков. Оценка разделения с помощью F-аппроксимации U-статистики Уилкса дает достоверность более чем на 99,9% -ном

уровне. В информативный набор входит 6 признаков, описывающих основные линейные (длина тела и предплечья), широтные (плечевой диаметр, эпифиз предплечья) и обхватные (обхват плеча и предплечья) размеры. Полученные ЛДФ обеспечивают в среднем около 80% реклассификации и свыше 70% верного прогноза. На рис. 3 представлена проекция анализируемого множества на плоскость Физнера. На основании одномерных статистик и анализа этого рисунка можно считать, что, согласно кривым роста, выявлено 3 основных варианта типизации 17-летних детей и 2 промежуточных. Отметим, что основные типы распознаются достаточно хорошо (100% — С, 97% — В), тогда как ошибки в основном приходится на промежуточные классы (40% — А, 47% — D).

Практический выход полученных результатов заключается в принципиальной возможности прогнозирования типа кривой роста конкретного ребенка с получением дефинитивной картины его морфофункционального статуса. Очевидно, что на основании этих данных можно прогнозировать также популяционную картину на заданный промежуток времени.

Практическая ценность полученных результатов, на наш взгляд, заключается в следующем.

В литературе отражен ряд безуспешных попыток аналитического описания кривых роста в рамках единой модели, для которой оценка параметров проводится либо на всем материале (регрессионная модель), либо же осуществляется индивидуальное сглаживание, результаты которого непосредственно не могут быть перенесены на другой объект. Одной из основных причин этих неудач, по-видимому, является большая гетерогенность кривых для анализа их в рамках одной модели и практическая нецелесообразность индивидуального расчета. Полученный в данной работе результат занимает фактически промежуточное положение в терминах вышеописанных подходов анализа роста кривых.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ордуханян А. А., Хачатрян Г. Н. Тез. III Всесоюз. конф. «Физиология развития человека», 260, М., 1985.
2. Bergman P., Orczykowska Scortkowska Z. *Stud Phys. Anthropology*, 8, 61—78, 1976.
3. Geddal. 4th Congr. Human Genetics, Paris, 6—11, sept, 1971. *Experta Medical Congr. Ser.* № 2 3, 72—73, Amsterdam, 1971.
4. Geddal, Branci G. *Acta genetic Med. gemehol*, 24, 15—30, 1975.
5. Kowalski C. G., Gutre K. E. *Longitudinal data analysis Growth*, 131, 169, 38, 1974.
6. Preece M. A., Baines M. J. *Annales of Human Biology*, 1, 5, 1—24, 1978.
7. Relthford H. J., Lees F. C., Byard P. J. *Human Biol.*, 4, 50, 461—475, 1978.
8. Van't Hoff M. A., Ronde M. J., Kowalski C. J. *Human Biolog.*, 4, 49, 165—179, 1977.
9. Wright S. *Genetical group and special size factors genetics*, 12, 5, 603—619, 1932.

Поступило 15.IV 1986 г.

АЛГОРИТМ ВЫЯВЛЕНИЯ ОРГАНОПОРАЖЕНИЯ НА ОСНОВЕ МОДЕЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ УРОВНЯ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

И. М. ЗАРАФЯН

Институт экспериментальной биологии АН Армянской ССР,
лаборатория молекулярной энзимологии, Ереван

Аннотация — Предложен алгоритм, позволяющий осуществлять дифференциацию активности изоферментов лактатдегидрогеназы по органам и тканям, вовлеченным в патологический процесс гиперферментемии, на основе математической модели динамики количества фермента в сыворотке крови.

Անոտացիա — Արվան շինուկի հիպերֆերմենտեմիայի մակարդակի մաթեմատիկական մոդելի հիման վրա աշխատանքում առաջարկված է ակտրիվմ, որը թույլ է տալիս իրադրծել լակտատդեհիդրոգենազի իզոֆերմենտների ակտիվության դիֆերենցիացիա՝ ըստ պաթոլոգիկ պրոցեսում ընդգրկված օրգանների և հյուսվածքների:

Abstract — The algorithme - has been proposed, realizing the differentiation of lactatedehyrogenase isoenzymes activities in organs and tissues, which are affected by hyperfermentemia pathological processes, on the basis of the mathematical model of dynamics of the enzyme level in blood serum.

Ключевые слова: алгоритм, изоферменты ЛДГ, математическая модель, сыворотка крови, органопоражение.

На основе современных представлений о механизме гиперферментемии и данных о взаимосвязи между факторами, влияющими на этот процесс [2, 4—6], нами была предложена математическая модель динамики количества фермента в сыворотке крови, описываемая системой дифференциальных уравнений [1]. Верификация модели, проведенная на конкретном ферменте—ЛДГ, показала, что построенная модель с достаточной степенью точности отражает изменение количества фермента в сыворотке крови как в норме, так и при патофизиологических изменениях организма. Проведенный анализ позволяет ставить обратную задачу определения количественных характеристик переменных модели по динамике активности ЛДГ в сыворотке крови.

Рассмотрим уравнение модели, описывающее изменение количества фермента в сыворотке крови.

$$\frac{dX}{dt} = \sum_{i=1}^n m_i E_i + \sum_{i=1}^n p_i M_i E_i - \beta X, \quad (1)$$

где X —количество фермента в сыворотке крови; M_i —масса нормально функционирующей части i -го органа; m_i —скорость лизиса клеток i -го органа; p_i —скорость изменения проницаемости клеточных мембран i -го органа; E_i —концентрация фермента в i -ом органе; β —коэффициент деградации фермента в сыворотке крови.

При нормальном функционировании организма все E_i и m_i можно считать постоянными величинами (E_i^0 и m_i^0 , соответственно), а значе-

ния p_i приравнять к нулю, поскольку в норме мембраны клеток не про-
ницаемы для изучаемого фермента. Тогда уровень его в норме (X^0) бу-
дет описываться следующим уравнением:

$$\frac{dX^0}{dt} = \sum_{i=1}^n m_i^0 E_i^0 - \beta X^0. \quad (2)$$

Выделив переменные модели, относящиеся к пораженному органу,
и вычтя уравнение (2) из уравнения (1), получим уравнение, описыва-
ющее поведение величины $Y = X - X^0$, характеризующей изменение ко-
личества фермента в сыворотке крови, обусловленное только патологи-
ческим процессом.

$$\begin{aligned} \frac{dY}{dt} = & (m_{п.о.} E_{п.о.} - m_{п.о.}^0 E_{п.о.}^0) + \sum_{i \neq п.о.} (m_i E_i - m_i^0 E_i^0) + p_{п.о.} M_{п.о.} + \\ & + \sum_{i \neq п.о.} p_i M_i E_i - \beta Y, \end{aligned} \quad (3)$$

где п. о.—индекс принадлежности пораженному органу.

Первый член правой части уравнения характеризует некроз пора-
женного органа; второй—ту часть привнесенной активности, которая
определяется некрозом других органов и тканей, возможно, сопутству-
ющим патологическому процессу; третий—ту часть активности, кото-
рая определяется выходом фермента через мембраны клеток поражен-
ного органа; четвертый—выход фермента через клеточные мембраны
других органов, вызванный общим стрессовым состоянием организма
либо сопутствующими заболеваниями.

Наша задача заключалась в определении влияния выделенных чле-
нов данного уравнения на уровень активности фермента в сыворотке
крови, исходя из экспериментальных данных динамики активности
ЛДГ и ее изоферментов.

Формализуем схему определения динамических характеристик про-
цесса поражения органа в виде алгоритма, пригодного для ее програм-
мной реализации на ЭВМ. Исходными данными для работы алгорит-
ма являлись экспериментальные кривые динамики ферментативной ак-
тивности изоферментов ЛДГ, привнесенной патологическим процес-
сом, а также изоферментные спектры ЛДГ-содержащих органов.

Отметим, что в экспериментальных исследованиях сравнение отно-
сительных количеств фермента в образцах, как правило, ведется на ос-
нове сравнения его активности [2, 4, 6]. Кроме того, все использован-
ные нами экспериментальные данные перерасчитаны с учетом вычета
нормы [3] для приведения их в соответствие с величиной Y уравнения
(3).

Обозначим через t_k , $k=0,1,\dots,n$ —временные точки, в которых за-
мерены экспериментальные значения. Напишем разностное уравнение

$$Y_{k+1} = Y_k + b_{k+1} (t_{k+1} - t_k) - \beta Y_k (t_{k+1} - t_k), \quad (4)$$

соответствующее уравнению (3), где b_{k+1} означает привнесенное ко-
личество фермента к моменту времени t_{k+1} , и равно

$$b_{k+1} = \sum_i [m_i(t_{k+1}) E_i(t_{k+1}) - m_i(t_k) E_i(t_k)] + \sum_i [p_i(t_{k+1}) M_i(t_{k+1}) E_i(t_{k+1}) - p_i(t_k) M_i(t_k) E_i(t_k)]. \quad (5)$$

Подставив вместо Y экспериментальное значение активности j -го изофермента ЛДГ в сыворотке крови (после перерасчета) из уравнения (4), получим

$$b_{k+1}^j = \frac{A_{k+1}^j - A_k^j}{t_{k+1} - t_k} + \beta A_k^j. \quad (6)$$

Перейдем к описанию алгоритма.

Шаг 1. Определение значений b_k^j для всех $k=1, 2, \dots, n$; $j=1, 2, 3, 4, 5$ (по числу изоферментов ЛДГ) по экспериментальным данным о динамике ферментативной активности.

Шаг 2. Определение изоферментного спектра ЛДГ, выраженного в %, в каждый момент времени t_k .

$$C_k^j = \frac{b_k^j}{\sum_j b_k^j} \times 100\%.$$

Шаг 3. Сравнение изоферментного спектра пораженного органа с полученными значениями C_k^j для всех моментов времени t_k , для чего определяем среднеквадратическое отклонение полученных спектров от изоферментного спектра пораженного органа

$$\delta_k = \sum_{j=1}^5 (C_k^j - C_{п. о.}^j)^2.$$

Шаг 4. Определение близости изоферментного спектра привнесенной активности ЛДГ к изоферментному спектру пораженного органа. Для каждого k значение δ_k сравнивается с наперед заданным малым числом ε . По этому условию вектор $b^j = \{b_k^j\}$ разбивается на два вектора. Первый — $\bar{b}^j = \{\bar{b}_k^j\}$ включает в себя те значения b_k^j , для которых $\delta_k < \varepsilon$, т. е. изоферментный спектр соответствует спектру пораженного органа. Второй — $\tilde{b}^j = \{\tilde{b}_k^j\}$ включает в себя те значения b_k^j , для которых $\delta_k > \varepsilon$, т. е. в соответствующих временных интервалах на изоферментный спектр оказывает влияние поражение и других органов.

Шаг 5. Разложение вектора $\tilde{b}^j$ на изоферментные спектры основного пораженного органа и органов, сопутствующих патологическому процессу. Разложение осуществляется на основе поиска наиболее вероятной комбинации вкладов органов в процесс гиперферментемии по степени близости теоретически полученных спектров для возможных парных сочетаний вкладов к экспериментальным данным. Таким образом, определив процентное содержание вкладов органов, из компонент вектора $\tilde{b}^j$ выделяются $\bar{b}_k^j$, соответствующие вкладу основного пораженного органа.

Шаг 6. Построение изоферментных спектров, соответствующих пора-

женному органу и органам, вовлеченным в патологический процесс.

На этом шаге выделенные из $\bar{b}_k$ изоферментные спектры основного пораженного органа вносятся в вектор $\bar{b}^j$. Таким образом осуществляется построение вектора $\bar{b}^j$, который содержит ферментативную активность, привнесенную только основным пораженным органом, и вектора $\bar{b}^j = b^j - \bar{b}^j$, содержащего значения активности, привнесенной другими органами.

Шаг 7. Вектор $\bar{b}^j$ запоминается вместе с идентификатором соответствующего органа. Если для всех k компоненты вектора $\bar{b}_k^j > \varepsilon$, то переходим к следующему шагу. В противном случае, осуществив замену векторов $b^i = \bar{b}^j$, переходим к шагу 2.

Шаг 8. Определение степени поражения всех органов, вовлеченных в патологический процесс.

Шаг 9. Конец.

Алгоритм дает возможность определить вклады органов, оказывающих влияние на уровень гиперферментемии, причем каждая циклическая процедура алгоритма (шаг 2—шаг 7) выделяет тот орган, вклад которого на данном этапе оказывается наиболее значимым. На шаге 8 алгоритма определяется характер и степень поражения каждого органа, связанные с вопросом дифференциации активности по функциям $m(t)$ и $p(t)$. Такая дифференциация для конкретной патологии может проводиться исходя из патогенеза и принятых на его основе гипотез.

Алгоритм был апробирован на литературных данных о динамике активности ЛДГ и ее пяти изоформ при инфарктах сердца [7]. Экспериментальные значения для примера обширного инфаркта миокарда приведены в табл. с предварительным вычетом фона нормы. Вычисления, произведенные по описанному алгоритму, показали, что в данном процессе поражена только сердечная мышца. Для вектора $\bar{b}^j$, начиная с 4-х суток, значения $\bar{b}_k^j$ близки к нулю, поэтому можно сделать вывод, что ферментативная активность, начиная с 4-х суток, изменяется только за счет естественного распада изоферментов ЛДГ с коэффициентами деградации, определенными из соотношения.

$$\beta_j = \frac{\ln 2}{T_{0,5}^j},$$

где $T_{0,5}^j$ — период полужизни j -го изофермента ЛДГ [5].

Таким образом, можно предположить, что поражение органа было однократным, а восстановление его происходило естественным путем за счет восстановительной деятельности организма, ввиду отсутствия изменений функций $m(t)$ и $p(t)$ после пика ферментативной активности.

Экспериментальные значения для примера субэндокардиального инфаркта с их перерасчетом (табл.) показывают, что и в данном процессе поражена только сердечная мышца. Однако значения компонент

Динамика уровня ЛДГ и ее изоферментов в сыворотке крови при различных случаях инфарктов сердца

День болезни	ЛДГ _{общ.}	ЛДГ ₁	ЛДГ ₂	ЛДГ ₃	ЛДГ ₄	ЛДГ ₅
Обширный инфаркт миокарда						
1/2	35	32	3	—	—	—
1	385	257	110	1	9	8
2	735	500	232	—	—	3
3	585	427	153	2	—	3
4	435	326	114	—	4	2
6	285	224	59	—	—	6
8	185	52	45	—	—	—
10	145	109	30	—	2	3
12	105	84	20	—	—	4
14	75	67	5	1	3	6
18	15	6	—	—	—	—
Субэндокардиальный инфаркт						
3	1370	624	557	171	14	6
6	790	414	329	36	6	7
8	590	331	255	15	—	—
10	455	278	179	6	—	—
12	385	232	142	16	—	—
15	220	150	70	6	—	—
Инфаркт миокарда с печеночной гипоксией						
3	1615	491	301	—	76	749
5	715	340	218	15	8	133
9	150	93	15	—	—	—
11	70	38	15	16	2	1

вектора $\bar{b}^i$ отличны от нуля во всем рассматриваемом интервале времени. Отсутствие дополнительных пиков на экспериментальной кривой свидетельствует о том, что острое поражение было однократным, и некротический процесс, характеризующийся функцией $m(t)$, протекал в промежутке времени от начала его до пика активности. В последующие моменты времени изменение ферментативной активности может зависеть только от функции $p(t)$, характеризующейся значением вектора $\bar{b}^i$. В данном случае для всех изоферментов в каждый момент времени, начиная с пика активности, полученные для $\bar{b}_k^i$ значения достаточно близки. Для фракции ЛДГ₁, несущей основную нагрузку, эти изменения колеблются в пределах 100—140 ед. активности. Это свидетельствует о том, что несмотря на падение экспериментальных значений активности ЛДГ₁ значение функции $p(t)$ остается практически постоянным в течение всего рассматриваемого промежутка времени.

Рассмотренный пример показателен в том смысле, что модельные исследования позволяют выявить продолжающийся патологический процесс в ишемической зоне сердца, несмотря на то, что в экспериментальных кривых эта информация явно не выражена.

Рассмотрим случай инфаркта миокарда, сопровождающийся печеночной гипоксией (табл.). Значения b_k^i для 6-х и 8-х суток после пика близки к нулю. Для всех b_k^i в пике и в точке $K=2$ изоферментный спектр ЛДГ не соответствует спектру сердца. Разложение его по по-

раженным органам и выделение изоферментного спектра сердца производится на шаге 5 алгоритма. Наиболее вероятной комбинацией в точке пика является сочетание 40% ЛДГ сердца и 60% печени, а в точке $K=2-30\%$ ЛДГ сердца и 70% печени. В соответствии с данной комбинацией осуществляется построение векторов $\vec{b}^I$ и $\vec{b}^J$, где $\vec{b}^I$ и $\vec{b}^J$ характеризуют влияние сердца и печени на изменение ферментативной активности ЛДГ в сыворотке крови. На основании проведенного анализа можно сделать вывод, что на повышение ферментативной активности после пика в течение двух суток влияет функция $p(t)$ сердца и печени, отражающая реакцию этих органов на гипоксию организма.

Таким образом, разработанный алгоритм на основе построенной математической модели осуществляет дифференциацию активности изоферментов ЛДГ по органам, вовлеченным в процесс гиперферментемии. На примере инфарктов сердца показана возможность использования этого алгоритма в клинической практике при определении степени поражения органов и динамических характеристик патологических процессов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акопян Ж. И., Зарафян И. М., Казанчян Г. П. Биолог. ж. Армении, 39, 2, 97, 1986.
2. Вилкинсон Д. Принципы и методы диагностической энзимологии. 256, М., 1981.
3. Зарафян И. М., Акопян Ж. И. Вопросы молекулярно-клеточной биологии. 48, Ереван, 1983.
4. Иванов И. И., Коровкин Б. Ф., Маркелов И. М. Введение в клиническую энзимологию. 80, Л., 1974.
5. Комаров Ф. И., Коровкин Б. Ф., Меньшиков В. В. Биохимические исследования в клинике. 40, Л., 1981.
6. Мосс Д. В., Баттерворт П. Дж. Энзимология и медицина. 14, М., 1978.
7. Zondag H. A. Determination and diagnostic significance of lactate dehydrogenase isoenzymes., 5. Assen, 1963.

Поступило 15.IV 1986 г.

Биолог. ж. Армении, т. 39, № 9, с. 763—768, 1986

УДК 616.7:681.3+621.391.193

НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ АВТОМАТИЧЕСКОЙ КЛАССИФИКАЦИИ ВНУТРИ ОПРЕДЕЛЕННЫХ НОЗОЛОГИЙ

Г. С. ПОГОСЯН, К. М. ДЖУГАРЯН

РИВЦ МЗ Армянской ССР, Ереван

Аннотация — С помощью математических методов и ЭВМ проведена классификация объектов биомедицинских исследований с выделением среди них гомогенных групп. Использован иерархический среднесвязывающий кластер-анализ с последующим применением дискриминантного анализа для получения решающих правил отнесения объекта исследования к одной из выделенных гомогенных групп.

Անուագիր—Մաթեմատիկական մեթոդների և էՀՄ-ի միջոցով առաջված է կենսաբժշկական հետազոտությունների ենթարկված օբյեկտների դասակարգումը՝ նրանցում հոմոգեն խմբերի առանձնացմամբ:

Կիրառված է հիերարխիական միջին կապող կլաստեր-անալիզի դրան հաջորդող դիսկրիմինանտ անալիզով որոշող կանոններ առանալու համար, որոնք թույլ են տալիս ուսումնասիրվող օբյեկտի ներդրավումը դասակարգումից առաջված հոմոգեն խմբերից որն է մեկուս:

Abstract — The classification of biomedical investigations objects with the isolation of homogeneous groups among them is proposed using mathematical methods and computers. Hierarchic average linkage cluster-analysis followed by the discriminant analysis has been used for the development of decisive rules to forecast the object of investigation to one of the isolated homogeneous groups.

Ключевые слова: моделирование биоматематическое, кластер, линейная дискриминантная функция, реклассификация, расстояние Мехалюковиса, плоскость Физнера.

Одной из важнейших задач применения математических методов и ЭВМ является создание принципов построения и использования различных моделей, имитирующих описание объектов биомедицинских исследований, взаимосвязи параметров и протекание реальных процессов. Однако гетерогенность медико-биологических данных требует обоснования необходимости и правомочности применения той или иной модели в конкретных приложениях [2, 6], основным критерием которого является биомедицинская интерпретируемость параметров модели и полученных результатов. В этом отношении биоматематическое моделирование (БММ) [3] является достаточно интересным и результативным подходом. Для решения задач БММ необходимо выделить гомогенные группы, поскольку каждая модель адекватна лишь в определенной области данных. Именно поэтому вопрос объективной классификации (т. е. выделения гомогенных групп) является одним из основных этапов БММ. При этом возможны три подхода к ее решению:

1. Класс может описываться перечнем своих членов;
2. Класс может определяться некоторым общим набором свойств своих членов;
3. Класс может определяться тенденцией к образованию кластеров в пространстве параметров [9].

Очевидно, что третье определение наиболее применимо в различных приложениях, когда число членов класса неизвестно и список общих свойств также не определен.

Цель настоящего исследования состояла в выявлении гомогенных групп больных острым инфарктом миокарда (ОИМ), исследовании их статистической значимости, а также получении решающих правил для отнесения нового больного к одной из групп.

Нами были проанализированы истории болезни больных ОИМ, госпитализированных в НИИ кардиологии МЗ АрмССР с 1976 по 1982 гг. Математической базой настоящего исследования служили методы теории распознавания образов, которые по праву считаются одним из наиболее адекватных при решении подобных задач [7, 8].

На начальном этапе в анализ были включены 56 параметров (данные радикардиограмм, лабораторных анализов, физических исследований и т. д.), характеризующих изучаемые объекты. Для последующего анализа были отобраны лишь объекты, обладающие полным набором исследуемых характеристик. Таким образом, анализируемая выборка была представлена 219 объектами.

Как известно [10, 12], одним из наиболее результативных методов выявления гомогенных групп является кластер-анализ. К сожалению, в настоящее время не существует методологических основ для объективного выбора одного из существующих на сегодняшний день многочисленных методов кластер-анализа [13]. Кроме того, выбор критерия существования и статистической значимости выявляемых кластеров далеко не однозначен [16]. Однако, как свидетельствуют большинство авторов [11, 14, 15], во многих случаях иерархический среднесвязывающий кластер-анализ является одним из лучших. В [4] показано, что лишь на множестве, представленном в основном радиокардиографическими параметрами, удастся достигнуть удовлетворительной картины кластирования.

В свете сказанного в настоящей работе объект исследования представляется вектором X из десяти компонент: МОС, УН, СН, УО, ОЦК1, ОЦК2, пульс, рост, вес и возраст. Результаты проведенного кластирования представлены в виде дендрограммы (рис. 1).

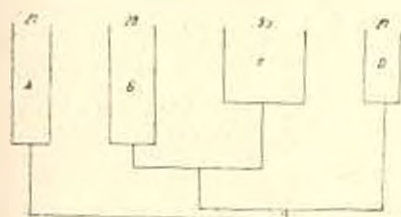


Рис. 1. Результаты проведенного иерархического среднесвязывающего кластер-анализа.

Обратимся теперь к анализу полученной дендрограммы в смысле выявления статистически значимых кластеров. На сегодняшний день не существует однозначных критериев для выявления статистически значимых кластеров, однако большинство авторов сходятся на том, что «время жизни» (промежуток от образования анализируемого кластера до его слияния с другим) и «населенность» (число объединяемых объектов) могут служить объективными критериями. На рис. 1 представлены кластеры, удовлетворяющие указанным двум критериям. Выбор для последующего анализа лишь относительно крупных кластеров обосновывается еще и тем, что, как отмечено [17], малочисленные кластеры приводят к артефактам.

Таким образом, анализ рис. 1 свидетельствует о существовании четырех—А, В, С, Д—кластеров с населенностями 21, 28, 55 и 21 соответственно. Разделимость выявленных четырех кластеров может быть оценена по данным табл. 1.

Таблица 1. Разделимость выявленных кластеров

Кластеры	А	В	С
В	14.79	—	—
С	27.24	6.35	—
Д	6.21	7.28	12.31

Примечание: приведены значения F-критерия [1].

Центры выделенных кластеров различаются статистически более, чем на 99%-ном уровне.

На следующем этапе работы была поставлена задача изучения линейной разделимости полученных кластеров в пространстве радиокардиографических параметров и получения решающих правил для отнесения нового объекта к одной из четырех выделенных групп. Поставленная задача решается в рамках модели дискриминантного анализа, применимость которого для изучения сердечно-сосудистых заболеваний нами была показана [5]. Поскольку представительность выявленных объективных групп в генеральной совокупности больных ОИМ неизвестна, то априорная вероятность появления объекта любого класса принимается равной. Решающие правила основаны на линейных дискриминантных функциях (ЛДФ). Для выявления относительной информативности того или иного параметра применен пошаговый алгоритм на основе F-критерия для ввода параметра в качестве предиктора. Вычисленный F-критерий равен 10,5, что значительно превышает $F_{30,329}$ (99%). Таким образом, полученное кластер-анализом разбиение статистически значимо более чем на 99%-ном уровне в пространстве радиокардиографических параметров.

Реклассификация анализируемого материала проводится по максимуму апостериорной вероятности. Прогностические возможности полученных соотношений оцениваются по методу скользящего контроля. Основные результаты реклассификации и прогноза приведены в табл. 2.

Таблица 2. Результаты реклассификации и прогноза

Наименование классов	Процент верной реклассификации	А	В	С	Д
А	90,5	19	0	0	2
В	79,3	0	23	4	2
С	83,9	0	9	47	0
Д	78,9	3	1	0	18
Общий	83,2	22	33	51	19
Процент верного прогноза					
А	71,4	15	0	2	4
В	62,1	1	18	7	3
С	82,1	0	9	46	1
Д	68,4	5	1	0	13
Общий	73,6	21	28	55	21

Примечание: приведено также количество объектов, реклассифицируемых или прогнозируемых в тот или иной класс.

Как видно из табл. 2, полученные средние значения верной реклассификации и прогноза (83,2 и 73,6% соответственно) достаточно велики. Наилучшая реклассификация ЛДФ достигается для класса А

(90,5%), а наихудшая—для класса *Д* (78,9%). В случае же прогноз-
стических возможностей ЛДФ картина несколько меняется. Наилуч-
ший прогноз достигается для класса *С* (82,1%), наихудший—для клас-
са *В* (62,1%).

Для геометрической интерпретации взаимного расположения вы-
деленных кластеров была получена проекция анализируемого множе-
ства на плоскость первых двух канонических переменных (плоскость
Фишера), дающую наилучшее разделение классов среди всех линейных
проекций [1] (рис. 2).

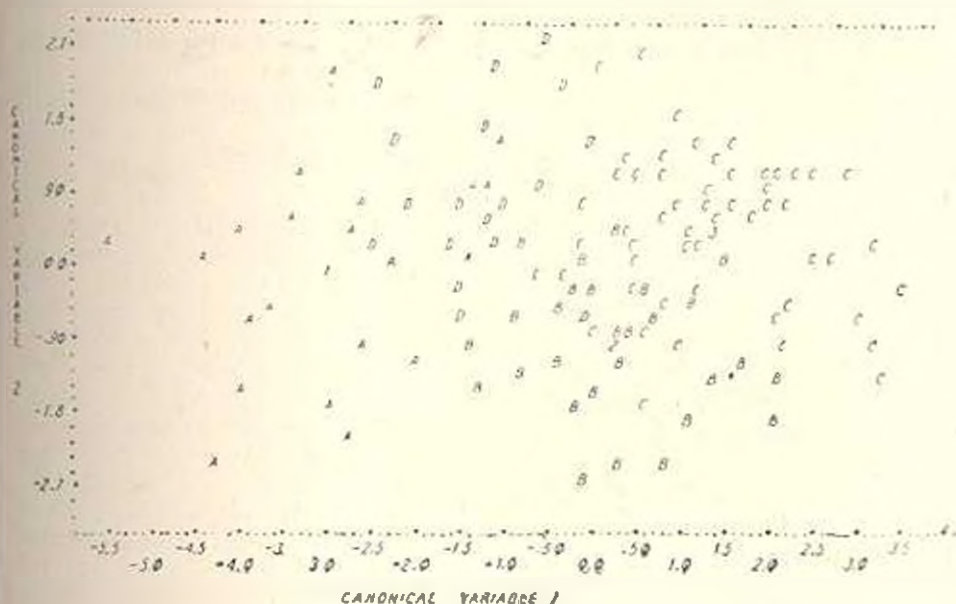


Рис. 2. Проекция анализируемого множества на плоскость Фишера.

Как и следовало ожидать (табл. 1), наиболее далеко отстоящими
классами являются *А* и *С*, тогда как *В* и *Д* занимают промежуточное
положение. Кроме того, можно заметить, что классы *В* и *С* хуже раз-
деляются, чем *А* и *Д*. Классы *А* и *В* вообще линейно не разделяемы.

После полученной плоскостной картины взаимного расположения
выделенных кластеров, т. е. перехода от линейного представления с по-
мощью древа кластеризации к плоскостному (от рис. 1 к рис. 2), воз-
можен визуальный анализ исследуемого многомерного материала.

Для численной оценки разброса объектов по классам были расчи-
таны D^2 —расстояния Махаланобиса.

Таким образом, на основании приведенного визуального и количе-
ственного анализа можно выделить три группы объектов: 1. наиболее
типичные для данного класса; 2. обладающие переходными между
классами свойствами; 3. обладающие экстремальными свойствами.

Естественно, что необходимо дифференцированное отношение к
объекту в зависимости от принадлежности его к одной из выделенных
гомогенных групп. А отнесение, как уже было отмечено, возможно до-
статочно четко на основе полученных ЛДФ.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Афифи А., Эйзен С. Статистический анализ. Подход с использованием ЭВМ. М., 1982.
2. Ластей Л. Введение в проблему принятия решений и медицине. М., 1971.
3. Ордукхян А. А., Налбандян С. Г. 1-я Всесоюз. конф. «Физиология, патофизиология и фармакология мозгового кровообращения». Тез. докл., 131. Ереван, 1984.
4. Ордукхян А. А., Джугарян К. М., Степанян К. Г. В сб.: Актуальные вопросы кардиологии, 34—35, Ереван, 1982.
5. Ордукхян А. А., Джугарян К. М., Оганесян Н. М., Бабалян А. С., Степанян К. Г. 1-й Всесоюз. биофиз. съезд, 2, 175. М., 1982.
6. Розен Р. Принцип оптимальности в биологии. М., 1969.
7. Сокал Р. В сб.: Классификация и кластер. Под ред. Дж. Вэн Райзинга, 7—18. М., 1980.
8. Соломон Г. В сб.: Классификация и кластер. Под ред. Дж. Вэн Райзинга, 129—117, М., 1980.
9. Ту Дж., Гонсалес Р. Принципы распознавания образов, М., 1978.
10. Хант Э. Искусственный интеллект, М., 1978.
11. Bayne C. et al. *Phil. Rec.*, 12, 2, 51—63, 1980.
12. Bourne L. *Human conceptual behavior*, Boston, 1966.
13. Conlgham K. *Computer J.*, 15, 3, 209—213, 1972.
14. Dubes R., Jain A. *Phil. Rec.*, 8, 4, 247—261, 1976.
15. Dubes R., Jain A. *Phil. Rec.*, 11, 4, 235—255, 1979.
16. Milligan G. *Psychometrika*, 46, 2, 187—199, 1981.
17. Smith S., Dubes R. *Phil. Rec.*, 12, 3, 177—189, 1980.

Биолог. ж. Армении, т. 39, № 9, с. 768—772, 1986

УДК 577.154.5

ОЧИСТКА ПУРИННУКЛЕОЗИДФОСФОРИЛАЗЫ ПОЧЕК КРОЛИКА

А. В. АНАНЬЕВ, Х. О. БЕЗИРДЖЯН, Ж. И. АКОПЯН

Институт экспериментальной биологии АН Армянской ССР,
лаборатория молекулярной энзимологии, Ереван.

Аннотация — Выделена пуридинуклеозидфосфорилаза (КФ—2.4.2.1) из почек кролика. В результате шести стадий очистки с использованием фракционирования сульфатом аммония и колоночной хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе и гидроксилапатите получен электрофоретически гомогенный препарат. Фермент специфичен к нуклеозидам гипоксантина, гуанина, а также к ксантозину, но не расщепляет нуклеозиды аденина.

Անոտացիա — Կատարվել էրիկամներից անջատված է պուրինուկլեոզիդֆոսֆորիլազա (ԿՖ— 2. 4. 2. 1)։ Օգտագործելով մաքրման վեց փուլեր, որոնք ընդգրկում էև բաժանումը ամոնիումի սուլֆատով և զրոմատոգրաֆիան ԴեԱԷ-ցելլուլոզի ու հիդրոքսիլապատիտի սյուներում, ստացված է էլեկտրաֆորետիկ հոմոգեն պատրաստով։ Ֆերմենտը սպեցիֆիկ է հիպոքսանտինի և գուանինի նուկլեոզիդներին, ինչպես նաև քսանտոզինի նկատմամբ, բայց չի տրոհում ադենինի նուկլեոզիդները։

Abstract — Purine nucleoside phosphorilase (EC—2.4.2.1) from rabbit kidney has been isolated. The six-step purification procedure by $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

fractionation and column chromatography on DEAE-cellulose and hydroxylapatite has resulted in the receipt of an electrophoretically homogeneous preparation.

Enzyme is specific to nucleosides of hypoxanthine, guanine, and xanthosine, too, but is not specific to nucleosides of adenine.

Ключевые слова: пури nukлеозидфосфорилаза, гомогенность фермента, субстратная специфичность.

Пури nukлеозидфосфорилаза (КФ—2.4.2.1) выполняет и анаболическую, и катаболическую функции в метаболизме пуриновых нуклеозидов. Возросший интерес к ней обусловлен еще и тем обстоятельством, что недостаточность клеточного иммунитета, по-видимому, связана также с понижением уровня активности этого фермента [10]. Пури nukлеозидфосфорилаза выделена из ряда биологических объектов [3, 5—9, 11—13, 15, 17]. Данные по очистке из почек кролика представляются впервые.

Материал и методика. Работа была выполнена в лаборатории молекулярной энзимологии ИЭВ АН АрмССР в 1985 г. Все операции по очистке фермента проводили при 1°. На всех стадиях очистки центрифугирование проводили при 15000 г в течение 20 мин. Колонки были предварительно уравновешены стартовыми буферами.

Кроликов забивали деканитацией. Почки быстро извлекали, кровь удаляли перфузией буфером А (0.1 М трис—HCl, pH 7.2, 2 mM ЭДТА). Затем почки (47 г) измельчали ножницами, промывали буфером А, добавляли 180 мл того же буфера, гомогенизировали в гомогенизаторе MPW 302 (ГНР) в течение 7 минут. Гомогенизат центрифугировали. Белки на осадочной жидкости фракционировали сульфатом аммония (35—80% насыщения). Осадок растворяли в буфере Б (20 mM трис—HCl, pH 7.6, 2 mM ЭДТА) и диализовывали в течение 14 ч против буфера Б. Диализованный препарат наносили на колонку с ДЭАЭ-целлюлозой (1.6×34 см). Фермент элюировали линейным градиентом NaCl (40—0.1 М) на буфере Б. Скорость элюции—9 мл/ч. Активные фракции объединяли и наносили на колонку с гидроксилапатитом (1.6×15 см). Колонку промывали 40 mM Na-фосфатным буфером, pH 6.9. Пури nukлеозидфосфорилазу элюировали линейным градиентом Na-фосфатного буфера (40—160 mM). Объединенные активные фракции вновь фракционировали сульфатом аммония (45—70% насыщения). Осадок растворяли в буфере Б и диализовывали против этого же буфера. Диализованный ферментный препарат наносили на колонку с ДЭАЭ-целлюлозой (1.6×22 см). Колонку промывали 40 mM NaCl на буфере Б, а затем фермент элюировали линейным градиентом NaCl (40—250 mM) на буфере Б. Фракции, обладающие ферментативной активностью объединяли и наносили на колонку (1.6×7 см) с гидроксилапатитом. Колонку промывали 40 mM Na-фосфатным буфером, pH 6.9, а затем элюировали линейным градиентом Na-фосфатного буфера (40—100 mM). Объединенные активные ферментативные фракции для концентрирования наносили на колонку (0.9×2.5 см) с гидроксилапатитом и элюировали 200 mM Na-фосфатным буфером. Активные фракции объединяли и хранили в 40%-ном глицерине при —18°.

Пури nukлеозидфосфорилазную активность определяли колориметрически.

1 метод—по приросту окисления [2].

II метод—по приросту рибозы-1-фосфата, по цветной реакции рибозы с орпинном [1]. Реакционная смесь содержала 100 mM Na-фосфата, pH 7.0, 1.5 mM рибонуклеотид, 12 ME фермента в конечном объеме 0.3 мл. Реакцию останавливали 0.3 мл 0.1 М NaAc, pH 3.8, содержащим 10% активированного угля. Смесь кипятили 30 сек, фильтровали, в фильтрате определяли содержание рибозы [1]. Для стабилизации окраски объем раствора доводили до 2.8 мл 95%-ным этанолом.

III метод—по приросту дезоксирибозо-1-фосфата, по цветной реакции окисленной дезоксирибозы тиобарбитуровой кислотой [14]. Реакционная смесь содержала 50 mM $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{--NaOH}$, pH 6.8, 1.5 mM дезоксирибонуклеозид, 0.8–1.2 ME фермента; концен-

ный объем—0,2 мл. Реакцию останавливали добавлением 80 мкл 15 М H_2IO_6 в 0,03 н. H_2SO_4 , а не 0,125 н. во избежание неферментативного расщепления нуклеозидов, при этом pH снижался до 2,5. Далее, как в оригинальном методе [14]. Для стабилизации окраски объем раствора доводили до 2,8 мл изопропанолом. Во всех экспериментах по колориметрическому определению ферментативной активности элиты инкубации, проводимой при 37°, была равна 6 мин.

Концентрацию белка определяли по методу Лоури [16], используя в качестве стандарта бычий сывороточный альбумин.

Электрофорез в полиакриламидном геле проводили при pH 8,9 в 6,2%-ном ПЛАГ. Белки окрашивали 0,2%-ным водным раствором кумасси R-250, содержащим 10% уксусной кислоты, 25% этанола. Для идентификации пуриннуклеозидфосфорилазной активности после электрофореза гели инкубировали в течение 1 ч при 37° в 80 мМ натрий-арсенитном буфере, pH 6,8, содержащем 1 мМ гуанозин, затем свободную рибозу окрашивали трифенилтетразолием [4].

Результаты и обсуждение. По описанной выше методике из почек кролика была выделена пуриннуклеозидфосфорилаза: двукратным фракционированием сульфатом аммония, двукратной хроматографией на ДЭАЭ-целлюлозе и двукратной хроматографией на гидроксилапатите.

Схема очистки пуриннуклеозидфосфорилазы из почек кролика

Стадия очистки	Объем, мл	Концентрация, ед/мл	Общее число, ед.	Общее количество белка, мг	Удельная активность	Выход, %	Степень очистки
Исходный экстракт	210	0,24	50,82	2316,3	0,022	100	0
I осаждение $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, фракция 35–80%	130	0,35	45,11	983	0,016	89	2,1
I хроматография на ДЭАЭ — целлюлозе	93	0,48	44,64	231,1	0,188	85	8,5
I хроматография на гидроксилапатите	53	0,42	22,10	23,2	0,954	44	43,4
II осаждение $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, фракция 45–70% насыщенный	21	0,92	19,26	13,7	1,41	31	61,1
II хроматография на ДЭАЭ — целлюлозе	255	0,07	18,18	10,2	1,75	31	80,7
II хроматография на гидроксилапатите	—	1,63	13,06	1,1	12,28	26	558,1

Активность определяли методом 1; субстрат—1 мМ гуанозин и 50 мМ Δ -фосфатного буфера.

литс. Кривые элюирования белка и пуриннуклеозидфосфорилазы с колонок ДЭАЭ целлюлозы и гидроксилапатита припедены на рис. 1, 2. Схема очистки пуриннуклеозидфосфорилазы из почек кролика приведена в таблице.

В результате всех использованных этапов достигнута 558-кратная очистка фермента, с выходом общей активности 26%. При диск-электрофорезе очищенного препарата фермента обнаруживается одна белковая полоса, совпадающая с пуриннуклеозидфосфорилазной активностью (рис. 3).

Субстратная специфичность пуриннуклеозидфосфорилазы из почек кролика была изучена как по фосфоролizu, так и по синтезу нуклеозидов. Относительная скорость фосфоролiza (pH инкубационной смеси 7) для инозина—100, гуанозина—73, дезоксигуанозина—66, дезоксиинозина—55, ксантозина—4, дезоксиаденозина—4, аденозина—0%.

При отсутствии в реакционной смеси ионов фосфата не происходит расщепления нуклеозидов, что свидетельствует о фосфоролитическом характере реакции. Относительная скорость синтеза (рН инкубационной

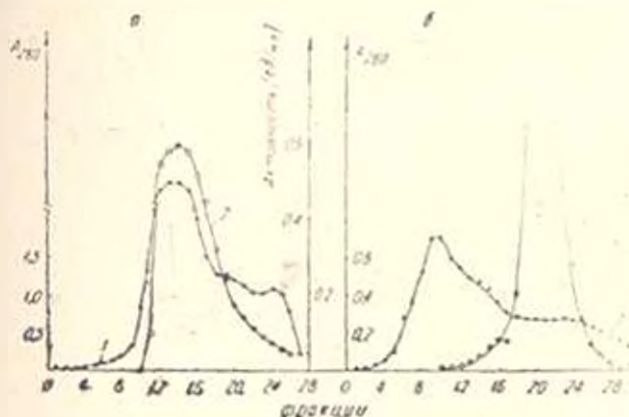


Рис. 1 а) Кривые элюирования белка и пурииннуклеозидфосфорилазы при последовательной хроматографии экстракта почек кролика на I ДЭАЭ-целлюлозе. 1—оптическая плотность при 280 нм, 2—пурииннуклеозидфосфорилазная активность (ед/мл), определявшаяся методом I. б) Кривые элюирования белка и пурииннуклеозидфосфорилазы при последовательной хроматографии на I гидроксипатите. 1—оптическая плотность при 280 нм, 2—пурииннуклеозидфосфорилазная активность (ед/мл), определявшаяся I методом.

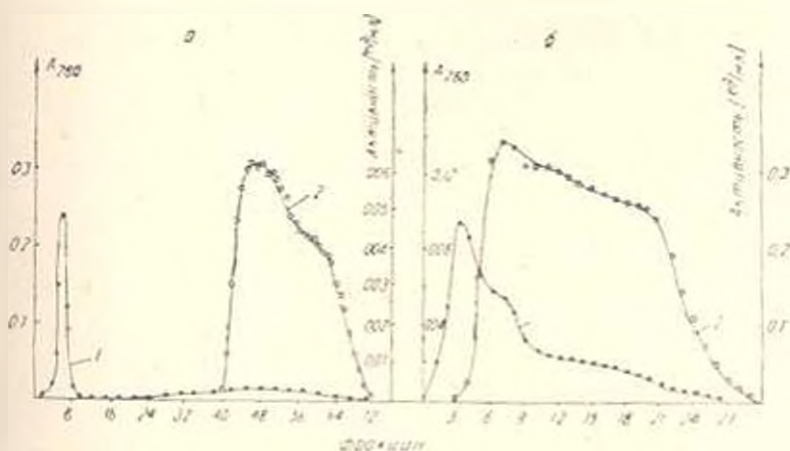


Рис. 2. а) Кривые элюирования белка и пурииннуклеозидфосфорилазы при последовательной хроматографии на II ДЭАЭ-целлюлозе. 1—оптическая плотность при 280 нм, 2—пурииннуклеозидфосфорилазная активность (ед/мл), определявшаяся методом I. б) Кривые элюирования белка и пурииннуклеозидфосфорилазы при последовательной хроматографии на II гидроксипатите. 1—оптическая плотность при 280 нм, 2—пурииннуклеозидфосфорилазная активность (ед/мл), определявшаяся методом I.

смеси 7) инозина—100, гуанозина—26, ксантозина—10, аденозина—0. Субстратную специфичность пурииннуклеозидфосфорилазы к нуклеозидам определяли II методом, а к дезоксирибонуклеозидам—III методом.

Настоящая работа является первым этапом исследований пури-
нуклеозидфосфорилазы из почек кролика. Так как были обнаружены
различия в физико-химических свойствах пури-нуклеозидфосфорилазы

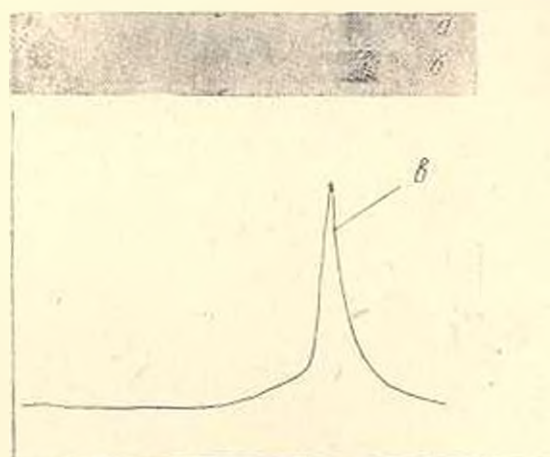


Рис. 3. Определение гомогенности пури-нуклеозидфосфорилазы методом
диск-электрофореза и полиакриламидном геле: а—окраска по белку, б—
окраска по пури-нуклеозидфосфорилазной активности, в—денситограм-
ма гели «а».

почек и других органов кролика, дальнейшее изучение этого фермента
считаем целесообразным.

ЛИТЕРАТУРА

1. Филиппович Ю. Б., Есорова Т. А., Севастьянова Г. А. В кн.: Практикум по об-
щей биохимии. 222, 1982.
2. Ahmad S. I., Pritchard R. H. Mol. and Gen. Genet., 104, 351—356, 1969.
3. Edwards P. H., Edwards P. A. and Hopkinson D. A. FEBS letters, 23, 235—244
1973.
4. Gabriel O., Wang S.-F. Anal. Biochem., 27, 545—554, 1969.
5. Hoffes P. A., Jones H. E. In: Methods in Enzymol., New York e. a., Acad. Press
51, 524—530, 1978.
6. Lewis A. S. Arc. of Biochem. and Biophys., 190, 2, 662—670, 1978.
7. Lewis A. S., Glantz M. D. Biochemistry, 15, 20, 4451—4457, 1976.
8. Lewis A. S. and Lowy B. A. Journal of Biol. Chem., 254, 19, 9927—9932, 1979.
9. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Journal of Biol. Chem.
193, 1, 265—275, 1951.
10. Martin D. W., Jr. In: Ann. Rev. Biochem., 50, 351—356, 1981.
11. Milman G., Anton D. L. and Weber J. L. Biochemistry, 15, 23, 4967—4972, 1976.
12. Moyer T. P., Fisher A. G. Arc. of Biochem. and Biophys., 174, 2, 622—629, 1976.
13. Murakami K., Tsushima K. Biochim. Biophys., acta., 453, 205—211, 1976.
14. Saslow L. D., Waravdekar V. S. Methods Enzymol., 12, 108—113, 1976.
15. Savage D. and Sprhiser N. Biochemistry, 15, 20, 4451—4457, 1976.
16. Schimadle C. M., Tanigoshi L., Mole L., Sherman I. W. J. of Biol. Chem., 260,
7, 4455—4460, 1985.
17. Unemura S., Nishino T., Murakami K., Tsushima K. J. of Biol. Chem., 257, 22,
13374—13378, 1982.

Поступило 26.11 1986 г

ВЫДЕЛЕНИЕ И ОЧИСТКА Cu-, Zn-СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ ИЗ СЕЛЕЗЕНКИ

М. А. СИМОНЯН

Институт биохимии АН Армянской ССР, лаборатория
физической химии белков, Ереван

Аннотация — Из селезенки крупного рогатого скота была выделена и очищена до электрофоретически гомогенного состояния Cu-, Zn-супероксиддисмутаза, оптические, ЭПР спектры, молекулярный вес и активность которой соответствовали таковым Cu-, Zn-супероксиддисмутаза, выделенной из других объектов. Однако фермент из селезенки более чувствителен к инактивирующему действию перекиси водорода, чем фермент из крови или печени. Количество Cu-, Zn-супероксиддисмутаза в селезенке составляет 30—35 мг/кг ткани

Անոտացիա — հեղուր եղջերավոր անասունի փայծաղից անջատվել է մինչև էլեկտրաֆորետիկորեն հոմոգեն վիճակը մաքրվել է Cu-, Zn-սուպերօքսիդդիսմուտազան, որն օժտված է այլ օրգաններից անջատված Cu-, Zn-սուպերօքսիդդիսմուտազաների բնորոշ օպտիկական, էՊՐ սպեկտրներով, մոլեկուլային կշռով և ակտիվությամբ: Անկայն փայծաղից անջատված ֆերմենտը արյունից և լյարդից ստացված նույն ֆերմենտի համեմատությամբ ավելի զգայուն է H_2O_2 -ի ակտիվացրկող ազդեցության նկատմամբ: Cu-, Zn-սուպերօքսիդդիսմուտազայի քանակությունը 1 կգ փայծաղում կազմում է 30—35 մգ:

Abstract — Cu/Zn-superoxide dismutase has been isolated and purified from bovine spleen to electrophoretically homogeneous state. This preparation has optical, EPR spectra, molecular weight and enzymatic activity, which are characteristic of the superoxide dismutases, isolated from other sources. However, hydrogen peroxide more easily inactivates this enzyme, than superoxide dismutase from blood or liver. The quantity of Cu/Zn-superoxide dismutase in the spleen is 30—35 mg/kg of the tissue.

Ключевые слова: селезенка, Cu-, Zn-супероксиддисмутаза.

Почти во всех органах животного, в том числе и в селезенке, обнаружена супероксиддисмутазная активность [1, 5]. Медь-, цинксодержащая супероксиддисмутаза (Cu-, Zn-СОД) выделена и очищена из различных тканей: печени и почек [1, 6], мозга [2], сердца [8], глаза [4], крови [9] и других объектов [3]. По своим ферментативным свойствам эти Cu-, Zn-СОД в основном не отличаются друг от друга. Однако до настоящего времени в литературе не описан метод препаративного выделения и очистки Cu-, Zn-СОД из селезенки.

Цель настоящей работы состояла в разработке методики препаративного выделения, очистки и идентификации Cu-, Zn-СОД из селезенки крупного рогатого скота. Это позволит изучить характерные изменения свойства фермента в указанном органе при различных патологических состояниях.

Материал и методика. Для выделения Cu-, Zn-СОД из селезенки были использованы ацетон, хлороформ, этанол и сульфат аммония. Очистку фермента проводили на целлюлозах ДЭ-52 и КМ-52 (Whatman, Англия) и сефадексах G-75 и ДЭАЭ А-50

(Pharmacia, Швеция). Содержание белка во фракциях оценивали по поглощению при 260 нм. Содержание меди в полученном ферменте определяли при помощи тетраэтилтиурамидсульфата [11], а также методом двойного интегрирования ЭПР спектров замороженных растворов, используя в качестве стандарта комплекс меди с ЭДТА. Молекулярный вес белка определяли электрофоретически после его предварительной инкубации в смеси S-меркаптоэтанола, мочевины и додецилсульфата по методу Вебера-Осборна [15]. Аналитический электрофорез в 7%-ном полиакриламидном геле проводили по методу Дэвиса [6].

В целях изучения влияния перекиси водорода на активность супероксиддисмутазы последнюю инкубировали (30 сек при 20°) в растворе 0.1 М H_2O_2 и 0.05 мл фермент добавляли к 2 мл раствора супероксидных радикалов ($\text{O}_2^{\cdot -}$), генерированных при расщеплении 0.1 М H_2O_2 при pH 11. Концентрацию $\text{O}_2^{\cdot -}$ определяли путем сравнения интегральных интенсивностей ЭПР спектров $\text{O}_2^{\cdot -}$ и низкоэнергетических радикалов определяемой концентрации.

ЭПР спектры регистрировали при -190° на приборе «Varian E-4» (США) в кварцевых ампулах с внутренним диаметром 3 мм при следующих условиях: микроволновая частота—9.08 Гц, микроволновая мощность—10 мВт, амплитуда модуляции—10 гаусс, постоянная времени—0.3 сек.

Оптические спектры поглощения записывали на приборе «Beckman-26» (США) в сантиметровых кюветках при комнатной температуре.

При выделении фермента из селезенки использовали центрифугу К-70 м (ГДР).

Результаты и их обсуждение. 5 кг селезенки гомогенизировали в 10 л холодного ацетона. Гомогенат центрифугировали при 3000 об/мин, 10 мин. Полученный осадок в аналогичных условиях повторно гомогенизировали в ацетоне. Гомогенат центрифугировали, и осадок высушивали проветриванием до получения сухого порошка. После добавления к последнему 10 л 0.05 М калий фосфатного буфера (pH 7.4) и перемешивания смеси в течение 3-х ч (при 10°) ее центрифугировали при 6000 об/мин в течение 40 мин. К полученным 6 л супернатанта добавляли 1.5 л спирта и 0.9 л хлороформа. После интенсивного перемешивания смеси в течение 20 мин ее центрифугировали при 6000 об/мин 20 мин. Далее к полученному супернатанту добавляли сульфат аммония (при 20°) до насыщения. Через 30—40 мин, центрифугированием в течение 30 мин при 6000 об/мин, собирали осадок. Последний смешивали с водой и ставили на диализ против воды в течение 22—24 ч с трехкратной сменой ее.

После диализа смесь центрифугировали в аналогичных условиях и полученный супернатант (1,2 л) пропускали через колонку с КМ-52 целлюлозой (4×6 см), уравновешенную 0.01 М калий фосфатным буфером, pH 7.4 (в дальнейшем использовали этот буфер разной молярности). Не задерживающуюся на КМ-52 фракцию наносили на колонку с ДЭ-52 целлюлозой (5×12 см), уравновешенную 0.01 М буфером. Фракцию с супероксиддисмутазной активностью элюировали 0.01 М буфером (0.7 л) и после разбавления ее водой в 4 раза пропускали через ДЭ-52 целлюлозу (4×6 см). Cu-, Zn-СОД элюировали 0.2 М буфером.

Таким образом получали 6 мл раствора супероксиддисмутазы с поглощением при 680 нм (A_{680}), равным 0.208. Далее белок очищали гель-фильтрацией на колонке с G-75 (3×90 см), уравновешенной 0.01 М буфером. СОД-активные фракции собирали и наносили на колонку с ДЭАЭ А-50 сефадексом (4×6 см), уравновешенную 0.01 М буфером. Затем эту колонку промывали 0.005 М (200 мл), далее 0.008 М буфером,

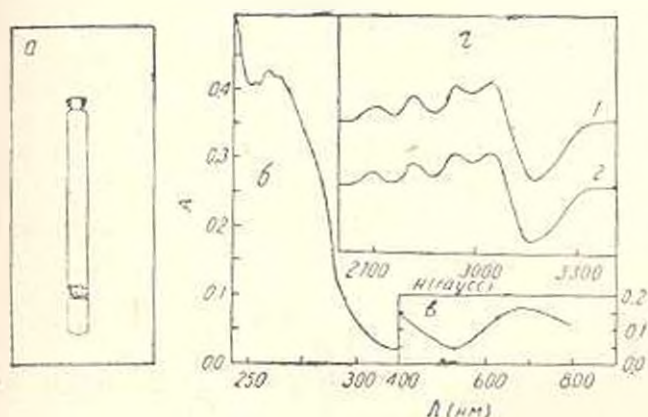
и Cu -, Zn -СОД (15 мл) элюировали 0,2 М буфером. После разбавления этой фракции СОД в 100 раз ее дополнительно очищали и концентрировали на ДЭ-52. На этой стадии получали 6,2 мл СОД с $A_{680} = 0,163$, а отношение $A_{260}/A_{680} = 35$.

Ход очистки фермента поэтапно приведен в табл. 1. В результате такой очистки был получен электрофоретический гомогенный препарат супероксиддисмутазы (рис., а).

Таблица 1. Ход выделения и очистки Cu -, Zn -супероксиддисмутазы из селезенки крупного рогатого скота

Этапы очистки	Объем, мл	Поглощение при 680 нм	Выход, %
Супернатант после смешивания ацетонового порошка с буфером	10 000	—	—
Супернатант после обработки спирт-хлороформом	11 000	—	—
Супернатант после осаждения белков сульфатом аммония, растворения осадка в воде и диализа	1200	0,0013	100
Белковая фракция после хроматографирования на КМ-52 и ДЕ-52	700	0,0012	92
Белковая фракция после гель-фильтрации на О-75	6	0,208	84
Cu -, Zn -СОД после хроматографирования на ДЕАЕ А-50	15	0,08	73
Фермент после хроматографирования и концентрирования на ДЕ-52	6,2	0,163	67

Количество атомов меди на молекулу белка, оцененное по методу [11] и по ЭПР спектрам, равно двум. Оптические и ЭПР спектры СОД из селезенки (рис., б, в и г) полностью совпадают с таковыми СОД из других источников. Молекулярный вес Cu -, Zn -СОД из селезенки равен 32600 дальтон.



Электрофореграмма из 7%-ном полиакриламидном геле (а), оптические (б, в) и ЭПР (1—2) спектры Cu -, Zn -СОД из селезенки (в) печени или крови—г—1). При записи спектра 1-6 раствор фермента разбавляли в 14 раз.

Cu -, Zn -СОД, полученные из селезенки, крови и печени, имеют одинаковую ферментативную активность. Однако СОД, выделенная из селезенки, более чувствительна к инактивирующему действию перекиси водорода [12, 14], чем СОД из печени и эритроцитов крупного рогатого скота (табл. 2).

Таблица 2. Влияние перекиси водорода на активность Cu-, Zn-СОД

Cu/Zn—СОД (10^{-8} М)	Количество дисмютированных O_2^- (М)	
	без инкубации фермента с H_2O_2	при инкубации фермента (30 сек) с 0,1 М H_2O_2
Из селезенки	$4,2 \times 10^{-4} \pm 0,2$	$2,5 \times 10^{-4} \pm 0,5$
Из печени или эритроцитов	$3,6 \times 10^{-4} \pm 0,4$	$4,1 \times 10^{-4} \pm 0,2$

Таким образом, в одном кг селезенки крупного рогатого скота содержится 30—35 мг Cu-, Zn-СОД, и по предлагаемому методу из 5 кг селезенки можно выделить и очистить 100—120 мг гомогенного препарата СОД.

ЛИТЕРАТУРА

1. Григорян Н. А., Гюльхандянк Г. В., Симонян М. А., Налбандян Р. М. Биохимия, 42, 8, 1499—1506, 1977.
2. Шаролян С. Г., Шалджян А. А., Налбандян Р. М., Бумягян Г. Х. Вопросы биохимии мозга, 2, 105—115, Ереван, 1976.
3. Фридоович И. В кн.: Свободные радикалы в биологии. 1, 273—311, 1979.
4. Bensinger R. E., Crabb J. W. Exp. Eye. Res., 34, 4, 623—627, 1982.
5. Davis B. Y. N.-Y., Acad. Sci., 121, 424—427, 1964.
6. Gershon D. Eur. J. Biochem., 63, 2, 617—623, 1976.
7. Hartz J. W., Funakoshi S., Deutsch H. F. Clin. Chim. Acta, 46, 2, 125—132, 1973.
8. Keele B. B., McCord J. M., Fridovich I. J. Biol. Chem., 246, 2875—2880, 1971.
9. McCord J. M., Fridovich I. J. Biol. Chem., 244, 22, 6045—6055, 1969.
10. Marklund S. L. Biochem. J., 222, 3, 649—655, 1984.
11. Matsuba J., Takahashi J. Anal. Biochem., 36, 1, 182—191, 1970.
12. Stet P. M., Garber P. Arch. Biochem. Biophys., 212, 2, 68—72, 1981.
13. Symonjan M. A., Nalbandyan R. M. Biochim. Biophys. Acta, 583, 3, 279—286, 1979.
14. Symonjan M. A., Nalbandyan R. M. FEBS Letters, 28, 1, 22—24, 1972.
15. Weber K., Osborn M. J. Biol. Chem., 244, 16, 4406—4412, 1969.

Поступило 13.III 1985 г.

Биолог. ж. Армении, т. 39, № 9, с. 776—780, 1986

УДК 577.1:577.151

ОЧИСТКА ОКСИДАЗЫ D-АМИНОКИСЛОТ ПЕЧЕНИ ЛЯГУШКИ

Р. Р. ПЕТОЯН, М. А. ДАВТЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии

Аннотация — Разработан способ очистки оксидазы D-аминокислот печени лягушки без использования стабилизаторов. Степень очистки фермента равна 1013,5.

Անոտացիա — Մշակվել է զորտի լյարդից D-ամինաթթվային օքսիդազի ակտիվ չափանշանների մաքրման մեթոդը, Ֆերմենտի մաքրման աստիճանը հավասար է 1013,5:

Abstract — The method of purification of D-amino acid oxidase from frog liver without stabilizers has been developed. The degree of purification of the enzyme is 1013,5.

Ключевые слова: лягушка *Rana ridibunda*, оксидаза D-аминокислот, КМ-целлюлоза.

Изучение оксидазы D-аминокислот приобретает в настоящее время прикладное значение в связи с возможностью использования этого фермента для разрушения D-стереоизомеров рацемических смесей и получения чистых L-аминокислот.

Данные Болангера и Дукоробла [4] указывают на высокую активность оксидазы D-аминокислот тканей лягушки по сравнению с таковой млекопитающих, птиц, рыб и на сравнимость фермента лягушек с оксидазой млекопитающих. Ранее нами исследовалась оксидазная активность тканей лягушек [1], причем установлено, что активность оксидазы D-аминокислот выше. Несмотря на большой экспериментальный материал [6, 10], касающийся очистки почечного фермента млекопитающих, в литературе отсутствуют аналогичные сведения об оксидазе D-аминокислот из печени, вообще и у земноводных, в частности.

В настоящей работе приводится разработанный нами способ очистки оксидазы D-аминокислот печени лягушек. На всех этапах очистки фермент остается связанным с ФАД, поэтому в добавлении кофермента к очищенному ферменту не было необходимости.

Материал и методика. Работа выполнена на кафедре биохимии ЕГУ в 1985—1986 гг. Объектом исследований служила лягушка *Rana ridibunda* (лягушка озерная).

Свежевырезанную печень гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе типа Поттер-Эльвехеда в 0,1 М калий-фосфатном буфере, pH 8,3, в холодных условиях (0—5°), в течение 1 мин. Белок определяли на спектрофотометре СФ-16, по поглощению при 280 нм и методом Лоури [5]. Активность оксидазы D-аминокислот определяли по количеству выделившегося аммиака при инкубации фермента с субстратом, D-метионином, при температуре 37° в течение 2 часов. Инкубационная смесь содержала 1,5 мл калий-фосфатного буфера, pH 8,3, и 50 мкмоль субстрата, D-метионина. После инкубации реакцию останавливали 20%-ном ТХУ, и выделившийся аммиак определяли методом Зелингсона в модификации Силаковой [3]. Активность выражали в мкмоль выделившегося аммиака на мг белка.

Результаты и обсуждение. Предварительные данные показали, что оксидаза D-аминокислот печени лягушек при гомогенизации в относительно разбавленных буферных растворах или дистиллированной воде быстро переходит в раствор.

Ниже описывается разработанный способ очистки фермента.

На первой стадии очистки 10%-ный гомогенат подвергали 10-минутной экстракции на магнитной мешалке. Затем весь объем гомогената подвергали термообработке при 50° в течение 20 мин. Балластные белки удаляли центрифугированием при 18000 g в течение 30 мин, в результате чего удельная активность несколько повышалась.

На втором этапе очистки осуществляли фракционирование белков на досадке сульфатом аммония.

Оказалось, что активность осаждается при 35—55%-ном насыщении среды сульфатом аммония. Следы $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ удаляли гельфиль-

Таблица 1. Стадии очистки печеночной оксидазы D-аминокислот лягушки (субстрат D-метионин)

Стадии очистки	V, мл	Общий белок, мг	Общая активность, мкмоль	Удельная активность, мкмоль/мг/ч	Степень очистки
Гомогенат (42 г печени)	320	7980	1772.8	0.222	1
Надосадок гомогената после термообработки и центрифугирования при 18000g, 30 мин	240	5943.2	1447.2	0.242	1.09
Фракционирование $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (35—55%) и обес- соливание на колонке с сефадексом (1—25)	280	179.2	890.4	4.97	22.39
Хроматография на КМ—целлюлозе					
19 фракция	32	3.52	62.1	17.73	79.86
22 фракция	32	4.0	94.4	23.6	106.3
Рехроматография на КМ—целлюлозе					
11 фракция	28	0.54	126	225	1013.5
22 фракция	28	0.704	64.4	91.48	412.07

трацией на колонке с сефадексом G-25, для чего осадок растворяли в минимальном объеме (1—2) 0,05 М Na-ацетатного буфера, pH 5,5, и наносили на колонку с сефадексом G-25. Предварительное уравнивание и элюцию проводили тем же буфером. В итоге значительное количество балластных белков удалялось, что приводило к повышению удельной активности фермента до 4,97 мкмоль/мг/ч против 0,242 мкмоль/мг/ч на предыдущем этапе.

В дальнейшем проводили фракционирование методом ионообменной хроматографии на колонке (2,5×60 см) с КМ-целлюлозой, предварительно уравновешенной 0,05 М Na-ацетатным буфером, pH 5,5. Градиентную элюцию проводили NaCl (0,0—0,3 М) в 0,05 М Na-ацетатном буфере, pH 5,5, общий объем которого равнялся 300 мл. Скорость элюции—1,7 мл в мин; объем фракций—4 мл.

Все активные фракции были объединены для вторичной хроматографии на колонке (1,5×30 см) с КМ-целлюлозой, предварительно уравновешенной 0,025 М Na-ацетатным буфером, pH 5,5. Градиентную элюцию проводили NaCl (0,075—0,615 М) в 0,025 М Na-ацетатном буфере, общий объем которого составлял 180 мл. Скорость элюции—0,65 мл в мин; объем фракций—3,5 мл.

После первой хроматографии на КМ-целлюлозе, как видно из рис. 1, фермент выходит двумя пиками активностей (I и II), отстающими друг от друга незначительно. Первый пик активности (I) выходит при 0,095 М NaCl, тогда как второй (II)—при 0,11 М. При этом удельная активность первого пика достигает 17,73 мкмоль/мг/ч [степень очистки около 79,86], а второго—23,6 мкмоль/мг/ч [степень очистки около 106,3].

При рехроматографии активных фракций (рис. 2) они четко разграничиваются, хотя выходят при тех же ионных силах элюирующего раствора (0,095 и 0,11, соответственно). В результате удельная активность первого пика повышается до 225 мкмоль/мг/ч [степень очистки около 412,07]. Это происходит главным образом вследствие удаления

определенного количества балластных белков. Примечательно также то, что при рехроматографии значительно, почти в два раза, повышается активность первого пика. Она достигает 126 мкмоль против

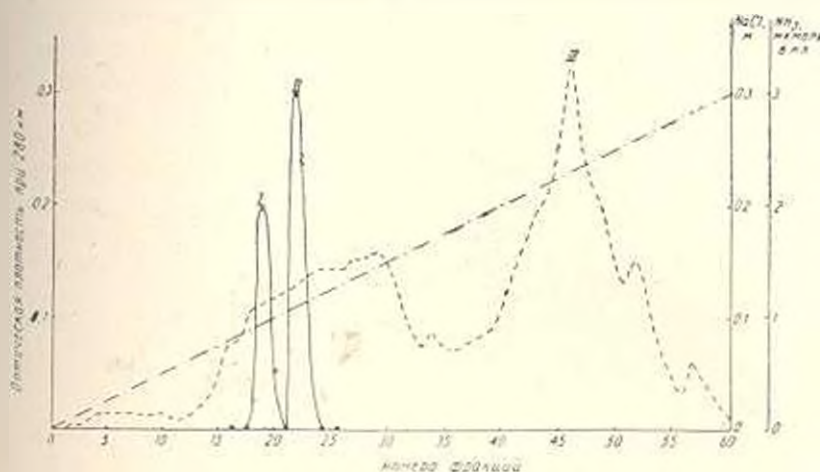


Рис. 1. Хроматография оксидазы D-аминокислот на КМ-целлюлозе. I и II—пики активностей, III—белок.

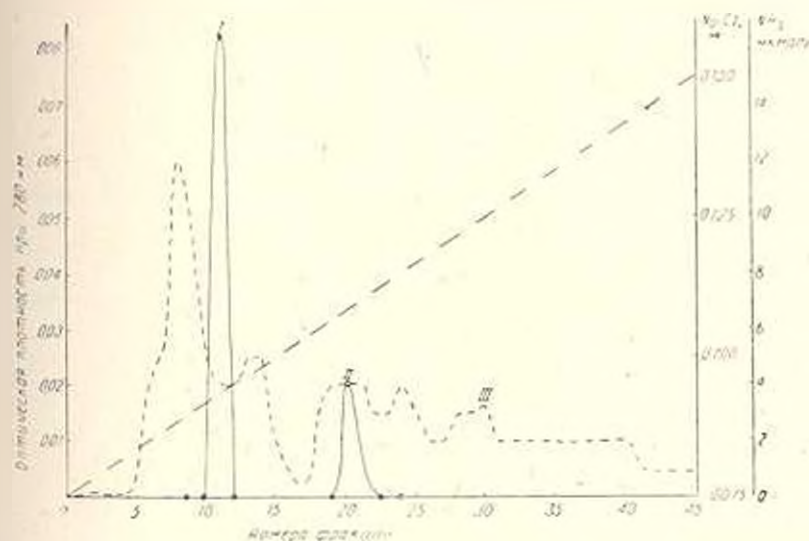


Рис. 2. Рехроматография оксидазы D-аминокислот на КМ-целлюлозе. I и II—пики активностей; III—белок.

62,4 мкмоль. В то же время активность второго пика, наоборот, значительно снижается, это можно объяснить обычной потерей активности при рехроматографии фермента. Трудно объяснить повышение активности первого пика, ибо при рехроматографии в среду разделения не вносились дополнительные компоненты. Можно лишь сделать предположение об удалении возможных ингибиторов белковой природы.

Полученные данные свидетельствуют о том, что в печени лягушки содержатся два изофермента оксидазы D-аминокислот, отличающиеся по заряду белка, хотя и имеющие одинаковую молекулярную массу [2].

Следует подчеркнуть, что, согласно литературным данным, существ-

вуют разновидности оксидазы D-аминокислот у млекопитающих [8, 9]. В частности, Шига и др. [8] при ионообменной хроматографии на ГАП экстрактов почек свиньи установили наличие второй активности оксидазы D-аминокислот, незначительно отстающей от первой. Показано, что при световом облучении часть оксидаз D-аминокислот почек свиньи переходит в новую молекулярную форму фермента, лишенную активности [9].

Таблица 2. Субстратная специфичность очищенной оксидазы D-аминокислот, NH_2 мкмоль/мл

Аминокислоты	Пики активности	
	I	II
DL-лизин	1.18	0.31
DL-лейцин	1.14	0.35
DL-тирозин	1.02	0.29
DL-серин	2.75	0.76
DL-изолейцин	0.96	0.31
DL-аспарагин	2.07	0.63
DL-треонин	1.07	0.33
DL-аргинин	1.68	0.45
DL-орнитин	1.81	0.26
DL-г-глютаминовая кислота	1.21	0.37
D-лизин	1.08	0.31
D-метионин	4.13	1.02
D-серин	2.76	0.73
D-аланин	1.85	0.52

В дальнейшем нами было установлено, что полученные высокоочищенные препараты оксидазы D-аминокислот также обладают строгой стереоспецифичностью в отношении D-изомеров аминокислот.

При изучении активностей двух изоэнзимов (I и II) полученной нами оксидазы D-аминокислот в отношении различных аминокислот (табл. 2) оказалось, что по этому показателю изоферменты весьма близки: проявляют максимальную активность в отношении D-метионина, далее D-серина, D-аланина, D-аргинина и слабую — в отношении D-орнитина и D-изолейцина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Никогосян Ф. Ц., Петоян Р. Р., Давтян М. А. Биол. ж. Армении, 39, 3, 176, 1986.
2. Петоян Р. Р., Давтян М. А. (в печати).
3. Силакова Я. Н., Трещ Г. П., Являкова А. Вопрос мед. хим., 8, 538, 1962.
4. Boullanger P. et Ducloux J. Société de Biolog. de Lille, 1204, 1949.
5. Lowry O. M., Rosenbrough M. S., Farrar A., Ronda L. R. S. J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.
6. Massey V., Palmer G. and Benner P. Biochem. Biophys. Acta, 48, 1, 1961.
7. Meister A., Wallner D. and Scott J. J. Natl. Cancer Inst., 24, 31, 1960.
8. Shiga K., Nishida J., Horike K., Tojo H., Watari H. and Yamano T. Med. Journ. of Osaka Univ., 30, 71, 1980.
9. Tu, S. Ch. and McCormick D. B. J. Biol. Chem., 148, 6339, 1973.
10. Yagi K., Naoi M., Harada M. J. Biochem., 61, 580, 1967.

Поступило 26.III 1986 г.

ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ЦИКЛИЧЕСКИЕ НУКЛЕОТИДЫ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ

Г. Г. ГАЛСТЯН, Р. А. ЗАХАРЯН, Г. С. ХАЧАТРЯН

Институт экспериментальной биологии АН Армянской ССР,
лаборатория нуклеиновых кислот, Ереван

Аннотация — Установлено, что внеклеточный cAMP в нейронах и глиальных клетках головного мозга в основном стимулирует синтез рРНК, а cGMP — синтез гяРНК. Глиальные клетки являются предпочтительным местом первичного действия внеклеточных циклических нуклеотидов. Их влияние на метаболизм клеток головного мозга реализуется в результате взаимодействия с рецепторами на внешней поверхности плазматических мембран. Рецепторы идентифицированы фотоаффинным маркированием.

Սեռագրում — Փարզվել է, որ շրջակայի ներքոններում և դիմացի բջիջներում cAMP գլխավորապես խթանում է ռիբո-ի սինթեզը, իսկ cGMP-ն՝ լեւերոգեն կորիզային ՌՆԲ-ի սինթեզը: Պրիայ բջիջները նախասանում են արտաբջջային ցիկլիկ նուկլեոտիդների նախնական ազդեցության նախընտրելի տեղը: Նրանց ազդեցությանը շրջակայի բջիջները փոխանակության վրա միջնորդում է ճիտալուսավաշի թաղանթի արտաքին մակերևույթի վրա գտնվող ունցապոթերների հետ փոխազդեցությանը: Ռեցեպտորները նույնազվել են ֆոտոաֆինային նշանակ:

Abstract — It was established that exogenous AMP in neurones and glial cells mainly stimulated the synthesis of rRNA, and cGMP promoted the synthesis of nonribosomal forms of RNA. It was supposed that the initial place of action of exogenous AMP and cGMP were the cells of neuroglia. Their action was realized in the result of the interaction with receptors on the surface of plasmatic membranes. The receptors were identified by photoaffine marking.

Ключевые слова: мозг головной, внеклеточные циклические нуклеотиды, нейроны, глиальные клетки, РНК, РНК-полимераза.

Известно, что циклические нуклеотиды у высших животных служат важными внутриклеточными модуляторами и участвуют в трансформации физиологического, в частности гормонального, сигнала, получаемого клеткой извне [17, 18]. А исследования последних лет показали, что в некоторых тканях млекопитающих циклические нуклеотиды наряду с функцией внутриклеточного проводника сохраняют и свою эволюционно более древнюю внеклеточную функцию, т. е. принимают непосредственное участие в системе межклеточных взаимодействий [3—6]. Эта функция реализуется как их взаимодействием с поверхностными рецепторами [3, 9], так и поступлением внутрь клеток [5, 6]. Очевидно, вопрос о механизме действия внеклеточных циклических нуклеотидов может быть решен для каждой ткани в отдельности.

Обнаруженные ранее факты эффекторной активности внутриклеточно введенных циклических нуклеотидов [7, 8] побудили нас более подробно исследовать их возможную роль внеклеточных сигналов для клеток головного мозга. Неоднородность клеточного построения

головного мозга обусловила раздельное изучение его основных составных элементов—нейронов и глиальных клеток.

Материал и методика. Работа выполнена в 1984 г. Эксперименты проводили на белых беспородных 3—4-недельных крысах-самцах. В работе использовали сАМР, сGMP, аденозин, 5'-АМР, дибутрил-сАМР, дибутрил-сGMP, АТР, ГТР, СТР, УТР, уридин, спермидин (Sigma, США), фикол, сефарозу 4В, В-CN-активированную сефарозу (Pharmacia, Швеция), набор для электрофореза в ПААГ, 1,6-дигидрохлорид дифениламин (Serva, ФРГ), [^3H] сАМР—28 Ки/мМ, [^3H] сGMP—28 Ки/мМ, [^{14}C] оротовую кислоту—40,5 мКи/мМ, [^{14}C] УТР—232,5 мКи/мМ, [^3H] уридин—28 Ки/мМ (Amersham, Англия). Остальные реактивы отечественного производства.

При определении скорости усвоения предшественника *in vivo* животным п/в вводили 100 мКи оротовой кислоты, а через 30 мин—50 мкг исследуемого вещества. После 30 мин инкубации животных усыпляли уретаном и быстро замораживали в жидком азоте. РНК-полимеразную активность ядер определяли после 20 мин инкубации. Обогащенные фракции нейронов и глиальных клеток выделяли по модифицированному методу Бломстранда и Хамбергера [11]. Субклеточное фракционирование и очистку ядер проводили по модифицированной прописи [7]. Активность I и II форм РНК-полимеразы определяли по методу [2] при разных ионных силах и pH. Определяли количество РНК [7], ДНК [12] и белка [15]. Синтез РНК в изолированных клетках головного мозга изучали в 1 мл смеси, содержащей 38 мМ трис-HCl буфера (pH 7,4), 2 мМ Na фосфатного буфера (pH 7,4), 120 мМ NaCl, 5 мМ KCl, 1 мМ MgCl₂, 1,8 мМ CaCl₂, 10 мМ глюкозы, 50 мкм меченого уридина, 0,35 мкм меченого уридина и aliquоту клеток из расчета 450—500 мкг по белку. сАМР и сGMP добавляли до конечной концентрации 10^{-4} М, а их дибутрил аналоги— 10^{-5} М. Реакцию проводили при 35° в течение 30 мин и останавливали добавлением равного объема 10%-ного раствора ТХУ. При определении активности РНК-полимеразы объем смеси увеличивали до 2,5 мл, а количество клеток—до 1,5 мг по белку. Смесь (без уридина) инкубировали 20 мин, реакции останавливали во льду добавлением 5 мМ ЭДТА.

Синтез 8-аминоклетосамина производных сАМР и сGMP и их связывание с В-CN-активированной сефарозой проводили по прописи [15]. Концентрация иммобилизованных сАМР и сGMP в реакционной смеси (объем смеси—2,5 мл, количество клеток—1,5 мг по белку) составляла 10^{-5} М. После инкубации отделение клеток от частиц аффинной сефарозы проводили в холодных условиях пропусканием смеси через колонку с нейлоновым фильтром в присутствии 10^{-4} М сАМР или сGMP, 0,25 М NaCl и 5 мМ ЭДТА. Фотоаффинное маркирование проводили по методу [10]. Маркированные белки идентифицировали по связной радиоактивности после электрофореза, а ПААГ в присутствии ДЭС-Na.

Весы пипеточной материал (15—20 животных, 5—6 экспериментов в каждой серии) обрабатывали статистически по Стьюденту-Фишеру.

Результаты и обсуждение. Изменение синтеза РНК является одним из наиболее общих показателей глубоких метаболических перестроек клеток. Ранее было показано, что фракция яРНК, условно обозначаемая как яРНК I типа, по своему составу принадлежит ГЦ типу и является предшественником рРНК. яРНК II типа характеризуется ДНК-подобным составом, часть этой РНК служит предшественником мРНК [7].

Как показали проведенные исследования, внутринтернальное введение сАМР и сGMP значительно стимулирует синтез практически всех изучаемых типов РНК в клетках головного мозга (табл. 1). При этом при действии сАМР как в нейронах, так и глиальных клетках в большей степени стимулируется синтез рРНК—активность I формы РНК-полимеразы, ответственной за синтез рРНК, а также удельная радиоактивность яРНК I типа и РНК из микросомной фракции по срав-

Таблица 1. Влияние внеклеточных сАМР и сГМР на синтез РНК в нейронах и глиальных клетках головного мозга

Иссле- дуемое вещество	Усвоение предшественника, нмн/мин/мг РНК				РНК-полимеразная ак- тивность ядер, пМ [14 C] сГМР/мг ДНК	
	яРНК I типа	яРНК II типа	микросом- ная фрак- ция	цитозоль	I форма РНК-поли- меразы	II форма РНК-поли- меразы
Нейроны						
Контроль	25572±2237	21636±2034	7015±638	2082±211	109.6±10.53	295.4±28.72
сАМР	52701±6444	35715±4381	15894±1965	3580±465	235.6±30.45	416.5±47.53
Р*	<0.01	=0.01	<0.01	=0.02	<0.01	<0.1
сГМР	33276±3650	38570±4085	11025±1453	2681±153	139.2±16.42	439.3±48.15
Р	=0.2	<0.01	<0.05	=0.1	<0.2	<0.05
Глиальные клетки						
Контроль	19225±1634	17485±1923	5617±515	1565±196	75.2±8.05	198.4±19.58
сАМР	42365±5248	28150±3096	13593±1644	3255±348	147.5±15.12	307.5±33.54
Р	<0.001	=0.01	=0.001	=0.01	<0.01	<0.05
сГМР	27735±4360	32207±3018	10845±1037	2195±234	94.7±10.32	408.7±51.55
Р	<0.1	<0.001	<0.1	<0.1	<0.2	<0.01

Примечание: *—достоверность.

нению с контролем повышаются более чем в два раза. Примерно на 80—100% повышается также удельная радиоактивность цитозольной РНК, основную часть которой составляет яРНК. При этом активность II формы РНК-полимеразы, ответственной за синтез мРНК, повышается всего на 40—50%. сГМР, в отличие от сАМР, в обеих клеточных фракциях главным образом стимулирует синтез мРНК—активность II формы РНК-полимеразы в нейрональных ядрах по сравнению с контролем повышается примерно на 50%, а в глиальных ядрах—более чем в два раза. По сравнению с другими фракциями РНК более значительным представляется и увеличение удельной радиоактивности яРНК II типа. В целом сАМР является более активным стимулятором синтеза РНК в клетках головного мозга, чем сГМР. Учитывая высокую фосфодиэстеразную активность спинномозговой жидкости, для контроля мы проводили эксперименты по изучению действия продуктов гидролиза сАМР-5'-АМР и аденозина на синтез РНК в клетках головного мозга. Полученные результаты дали основание заключить, что эффективная роль внутриклеточно введенных циклических нуклеотидов обусловлена именно их циклической структурой.

Примечательно, что изменения в синтезе РНК в нейронах и глиальных клетках головного мозга под действием соответствующих циклических нуклеотидов практически одинаковы. Можно предположить, что нейроны и глиальные клетки идентичным механизмом реагируют на действие внеклеточных циклических нуклеотидов. С другой стороны, можно предположить, что ответ одного типа клеток является производным от другого. Исследование кинетики усвоения меченого предшественника не внесло ясности в этот вопрос. Первые изменения в синтезе

РНК регистрируются через 8—10 мин после введения циклических нуклеотидов, причем одновременно в обеих клеточных фракциях.

Для выяснения особенностей взаимодействия внеклеточных циклических нуклеотидов с нейронами и глиальными клетками были проведены эксперименты по изучению их действия на синтез РНК в изолированных клетках. Как видно из данных табл. 2, характер изменений синтеза РНК в изолированных глиальных клетках при действии как свободных, так и иммобилизованных сАМР и сГМР практически не отличается от такового в экспериментах *in vivo*. При этом свободный сАМР способствует повышению активности I формы РНК-полимеразы более чем на 50%, тогда как активность II формы повышается всего на 20%. Внеклеточный сГМР стимулирует только активность II формы РНК-полимеразы. Примерно такие же изменения выявляются при действии иммобилизованных сАМР и сГМР. Правда, практически во всех случаях иммобилизованные циклические нуклеотиды оказываются менее активными стимуляторами синтеза РНК, чем свободные.

При действии внеклеточных циклических нуклеотидов в изолированных нейронах выявляются только изменения скорости усвоения меченого предшественника без изменения РНК-полимеразной активности ядер. При этом сАМР усиливает, а сГМР ингибирует усвоение [³H] уридина. Тут следует отметить, что в процессе препарирования клетки головного мозга неизбежно повреждаются, причем нейроны — в большей степени. В обогащенной нейрональной фракции часть нейронов лишена нервных окончаний. Можно предположить, что, лишившись нервных окончаний, они теряют способность адекватно реагировать на действие внеклеточных циклических нуклеотидов. Тем не менее сравнение полученных результатов с некоторыми литературными данными [13, 14] дает основание предположить, что глиальные клетки служат местом первичного действия внеклеточных циклических нуклеотидов.

Известно, что дибутирил производные сАМР и сГМР проникают внутрь клеток, и, ингибируя фосфодиэстеразу, способствуют повышению внутриклеточной концентрации циклических нуклеотидов [1]. Как видно из данных табл. 2, дибутирил-сАМР и -сГМР способствуют повышению РНК-синтезирующей активности как нейрональных, так и глиальных ядер, при этом во всех случаях в большей степени стимулируется активность II формы РНК-полимеразы. Сравнение этих результатов с данными, характеризующими действие иммобилизованных сАМР и сГМР, дает основание предположить, что клетки головного мозга имеют поверхностные рецепторы к внеклеточным сАМР и сГМР. В то же время у нас нет оснований исключить возможность поступления части внеклеточных циклических нуклеотидов внутрь клеток как *in vivo*, так и *in vitro*. Более того, можно предположить, что действие сГМР на скорость усвоения предшественника изолированными нейронами обусловлено его поступлением внутрь клеток (табл. 2).

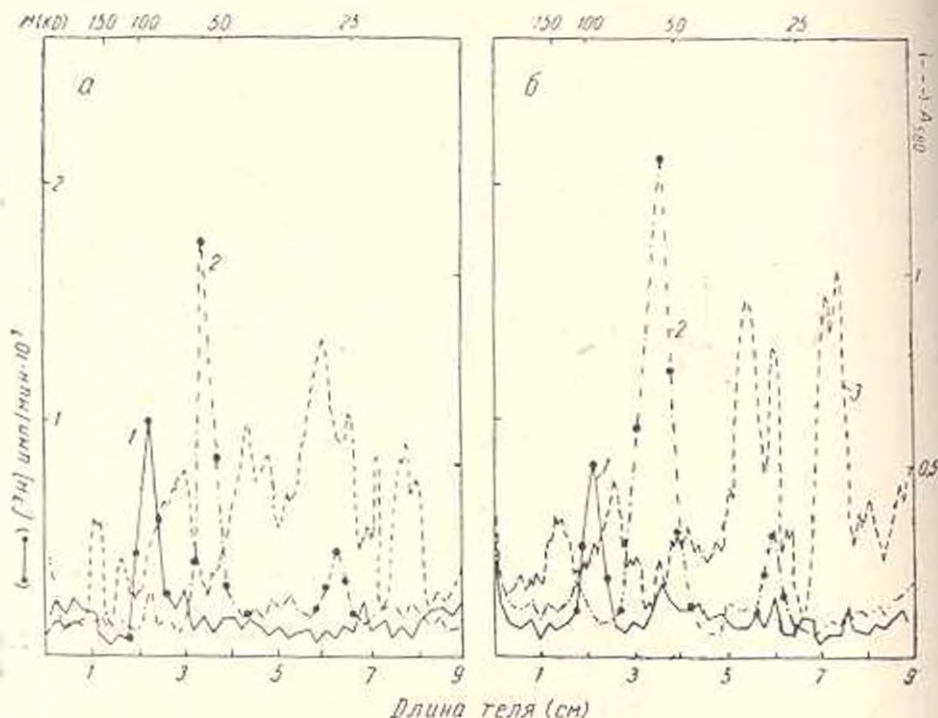
Мы попытались идентифицировать рецепторы внеклеточных циклических нуклеотидов прямым фотоаффинным маркированием. Как видно из рисунка, сАМР в обеих фракциях связывается с белком, молекулярная масса которого составляет 55 кД, а сГМР — с белком 75 кД.

Таблица 2. Влияние внеклеточных сАМР и сОМР и их аналогов на синтез РНК в нейронах и глиальных клетках головного мозга

Исследуемое вещество	Нейроны			Глиальные клетки		
	усвоение предшественника, пмп/мпп мкг ДНК	РНК-полимеразная активность ядер, пМ [¹⁴ C] УМР мкг ДНК		усвоение предшественника, пмп/мпп мкг ДНК	РНК-полимеразная активность ядер, пМ [¹⁴ C] УМР мкг ДНК	
		I форма РНК полимеразы	II форма РНК полимеразы		I форма РНК полимеразы	II форма РНК полимеразы
Контроль	2035±217	91.5±9.17	250.3±26.05	5274±596	73.7±7.52	189.5±18.19
сАМР	2240±367	105.7±13.41	352.5±25.36	10197±1549	111.5±13.03	232.1±20.18
Р*	<0.5	н.д.	н.д.	<0.05	0.05	<0.2
сОМР	1675±215	98.5±11.35	273.7±30.61	7545±674	79.2±9.45	201.4±28.12
Р	<0.5	н.д.	н.д.	<0.05	0.05	<0.1
Дибутирин сАМР	3722±385	125.2±13.44	352.9±38.15	9402±921	96.5±11.14	344.1±38.57
Р	<0.05	<0.2	<0.2	<0.02	0.3	<0.05
Дибутирин сОМР	2687±255	123.9±11.63	430.7±48.21	8270±946	102.7±12.31	294.7±28.05
Р	<0.5	<0.2	<0.05	=0.05	0.2	<0.1
сАМР сефароза	2367±248	—	—	6470±706	105.2±11.57	248.6±25.70
Р*	<0.5	—	—	0.1	0.2	<0.5
сОМР-сефароза	2098±235	—	—	5986±615	84.5±9.25	264.1±27.46
Р*	н.д.	—	—	<0.2	н.д.	<0.2
Сефароза 4В	19.5±217	84.5±9.35	241.7±28.51	4765±524	79.4±8.93	205.8±21.65

Примечание. * — в качестве контроля принимается действие сефарозы 4В

Хотя эти величины хорошо соответствуют молекулярным массам регуляторных субъединиц сАМР- и сGMP-зависимых протеинкиназ, у нас нет других доказательств их идентичности.



Фотоаффинное маркирование глиальных клеток (а) и нейронов (б).
1—сАМР; 2—сGMP. Электрофорез проводили в присутствии ДДС-Na
и 10% ПААГ. Гель маркировали стандартным набором метчиков.

Полученные результаты могут пролить свет на некоторые стороны взаимодействия нейронов и глиальных клеток головного мозга. Внеклеточные циклические нуклеотиды, основным источником которых в спинномозговой жидкости являются поступления из нейронов, воздействуют на глиальные клетки, которые в свою очередь оказывают влияние на нейроны.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильев В. Ю., Гуляев Н. Н., Северин Е. С. Ж. Всесоюз. хим. об-ва им. Менделеева, 20, 306—322, 1975.
2. Гаузе Л. Н., Экизаидов В. К., Кафиани К. А. Биохимия, 45, 1017—1026, 1980.
3. Исаев Э. И. Тез. докл. II Всесоюз. симп. «Циклические нуклеотиды», Ташкент, 1978.
4. Салганик Р. И. Тез. I Всесоюз. симп. «Циклические нуклеотиды», Красноярск, 1976.
5. Федоров Н. А. Укр. биохим. журн. 53, 63—70, 1981.
6. Федоров Н. А., Корешкова Н. А., Стенанова С. Б., Гуляев Н. Н. Докл. АН СССР, 250, 250—252, 1980.
7. Хачатрян Г. С. Биохимия нуклеиновых кислот и высшие функции головного мозга. Ереван, 1981.

- в. Хачатрян Г. С., Бахунц Г. Г. Биолог. ж. Армении, 38, 222—227, 1985.
9. Amana F., Kitagawa T., Akamatsu L. Cell. Struct. and Funct., 8, 459—463, 1983.
10. Antonoff R. S., Fergusson J. J. J. Biol. Chem., 229, 3319—3321, 1974.
11. Blomstrand C., Hamberger A. J. J. Neurochem., 16, 1401—1407, 1969.
12. Burton K. Biochem. J., 62, 315—323, 1956.
13. Chang R. S. L., Tran N. T., Podaslu S. E., Snyder S. H. Soc. Neurosci., 4, 511, 1978.
14. Henn F. A. Adv. in Cell Neurobiol., 1, 379—403, 1981.
15. Lowe C. R. Eur. J. Biochem., 73, 265—274, 1977.
16. Lowry O. H., Rosebrough N. H., Faer A. L., Randell R. J. J. Biol. Chem., 193, 265—275, 1951.
17. Robison G. A., Butcher R. W., Sutherland E. W. Cyclic AMP. New York, Academic Press, 1971.
18. Tata J. R. Mol. and Cell Endocrinol., 36, 17—27, 1984.

Поступило 29.IV 1986 г.

Биолог. ж. Армении, т. 39, № 9, с. 787—790, 1986

УДК 547.263

С-КОНЦЕВЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ БЕЛКА ПРОТЕОЛИПИДОВ ИЗ МОЗГА И НЕКОТОРЫХ ДРУГИХ ОРГАНОВ КРЫСЫ

Т. Н. КАЗАРЯН

Институт биохимии АН Армянской ССР, Ереван

Аннотация — С-концевыми аминокислотами белка протеолипидов из головного мозга являются фенилаланин и лизин, а из сердца, печени, почек (корковый, мозговой слой) и скелетной мышцы — только лизин.

Մանրագիր — Տեսչ 1 տրվել, որ գլխուղեղի պրոտեոլիպիդների սպիտակուցի С-ալիանյի ամինաթթուներն են ֆենիլալանինը և լիզինը, իսկ սրտի, լյարդի, երիկամ-
ների (ալիզոլային և կեղևային մասերի) և կմախքային մկանիկների՝ լիզինը:

Abstract — Phenylalanine and lysine have been identified as the C-terminal amino acids of the proteolipids from brain and lysine-as the C-terminal amino acid of proteolipids from heart, liver, kidney (cortical and medullary parts) and skeletal muscle.

Ключевые слова: протеолипиды, С-концевые аминокислоты, органы крыс.

В связи с разной локализацией и предполагаемой функцией гидрофобных мембранных липопротенинов — протеолипидов (ПЛ) в различных органах и субклеточных образованиях представляет интерес выяснение сходства и различий белкового и липидного компонента ПЛ, выделенных из разных источников. Ранее нами были представлены данные, касающиеся N- и С-концевых аминокислот ПЛ из серого и белого вещества мозга и сердца крупного рогатого скота и С-концевых аминокислот ПЛ, изолированных из некоторых субклеточных образований мозга крысы. В продолжение этих исследований мы изучали С-концевые аминокислоты ПЛ, выделенных из различных органов крысы (головной мозг, сердце, печень, почки — корковый, мозговой слой, скелетная мыш-

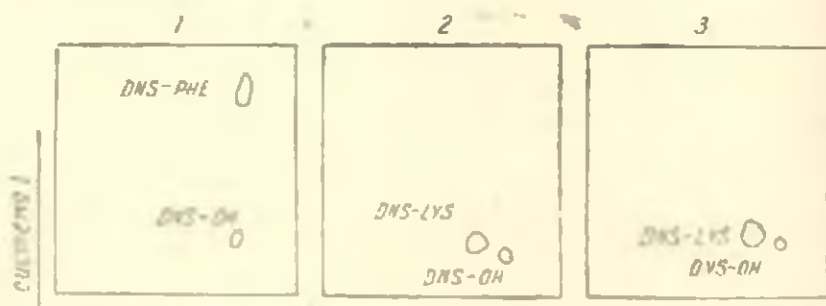
на—смешанная). Имеющиеся в литературе данные относительно С-концевых аминокислот ПЛ, выделенных из различных органов, малочисленны и несколько разноречивы [11, 12].

Следует отметить, что изучение N- и С-концевых аминокислот ПЛ представляет определенные трудности вследствие необычных свойств их белковой части. В силу своей гидрофобности, обусловленной высоким содержанием неполярных аминокислот, белок ПЛ имеет тенденцию к агрегации и потере растворимости, особенно по мере удаления липидов.

Материал и методика. Исследования проводили на 3—6-месячных крысах. Животных декапитировали, извлекали головной мозг целиком, сердце, печень, почки (корковый, мозговой слой), мышцы бедра и очищали на льду от крови и оболочек. Липидные экстракты, содержащие ПЛ, получали и очищали по методу Фолча и др. [7]. ПЛ выделяли из промытых липидных экстрактов методом эмульгирования—центрифугирования [4, 8] с той разницей, что опускали последнее центрифугирование при 200 g. Полученные препараты неочищенных ПЛ (НПЛ), содержащих 30% белка, подвергали лиофилизации и даже не очищали, так как предварительные исследования показали, что по мере очистки, ведущей к удалению липидов, количество выделяемых N- и С-концевых аминокислот резко снижается.

Для определения С-концевых аминокислот лиофилизированные осадки препаратов НПЛ предварительно окислили надмуравьиной кислотой [9], затем подвергали ферментативному гидролизу карбоксипептидазами А (фирма Sigma, США) и Б (фирма Sigma, США или Serva, ФРГ) и мл 0,2 М N-этилморфин-ацетатном буфере (рН 8,0) в соотношении фермент—субстрат 1:40 для карбоксипептидазы А и 1:20 для карбоксипептидазы Б. Смесь инкубировали при 37° в течение 30 мин. Реакцию останавливали добавлением 0,3 мл 20%-ной ТХУ. Последнюю удаляли из супернатантов экстракцией 2 раза с 2 мл диэтилового эфира [3, 12]. Пробы высушивали, подвергали даяскарированию и дальнейшей тонкослойной хроматографии на пластинках, покрытых силикагелем G (фирма Sigma, США), размером 6×6 см [1].

Результаты и обсуждение. После инкубации с карбоксипептидазой А НПЛ, выделенных из головного мозга, на тонкослойных хроматограммах выявлялось одно пятно, соответствующее фенилаланину (рис., 1). Ферментативный гидролиз тех же препаратов с карбоксипептидазой Б приводил к высвобождению также одной аминокислоты—лизина (рис., 2).



система II

Двухмерная тонкослойная хроматограмма: 1—ПЛ из головного мозга крысы после ферментативного гидролиза карбоксипептидазой А; 2—после ферментативного гидролиза карбоксипептидазой Б с последующим даяскарированием; 3—ПЛ из сердца, печени, почек (корковый, мозговой слой) и скелетной мышцы—после ферментативного гидролиза карбоксипептидазой Б. Система I: диэтиловый эфир—метанол—лимонная кислота, 100:5:1. Система II: метилацетат—пропанол—аминный гидроксид, 9:7:4.

Таким образом, при исследовании С-концевых аминокислот ПЛ из головного мозга были обнаружены две аминокислоты—фенилаланин и лизин (табл.).

Аминокислоты, высвобожденные из ПЛ различных органов при обработке КПБ и КПА

Органы	Применен- ные карбоксипепти- дазы	Высвобож- денные ами- нокислоты
Целый мозг	КПА КПБ	PHE LYS
Сердце	КПА КПБ	— LYS
Почки	КПА	—
корковый слой	КПБ	LYS
мозговой слой	КПА КПБ	— LYS
Печень	КПА КПБ	— LYS
Скелетная мышца (смешанная)	КПА КПБ	— LYS

При ферментативном гидролизе с карбоксипептидазой А ПЛ, выделенных из сердца, печени, почек (корковый, мозговой слой) и скелетной мышцы, высвобождения аминокислот не наблюдалось (табл.). Инкубация с карбоксипептидазой Б приводила к высвобождению только одной аминокислоты—лизина (рис., 3, табл.). На основании этих данных можно прийти к заключению, что в отличие от ПЛ мозга, ПЛ, выделенные из остальных органов, характеризуются наличием одной С-концевой аминокислоты—лизина.

Полученные результаты в основном согласуются с данными Викар-та и Лис [12], согласно которым С-концевой аминокислотой ПЛ, выделенных из сердца, печени и почек, является лизин. Кроме лизина этими авторами в составе С-концевых аминокислот ПЛ указанных органов были обнаружены также небольшие количества глицерина и треонина. Однако они полагают, что С-концевой аминокислотой ПЛ этих органов является именно лизин, так как при гидролизе он также был преобладающей аминокислотой наряду со следовыми количествами других аминокислот.

Ранее нами, а также другими авторами было показано, что С-концевой аминокислотой ПЛ, выделенных из миелина мозга крысы и крупного рогатого скота, является фенилаланин, а митохондрий—лизин [2]. Полученные в настоящей работе результаты вполне согласуются с этими данными и подтверждают высказанное предположение о существовании двух типов ПЛ: миелинового и митохондриального [6]. В головном мозге, где распределение ПЛ гетерогенно, и они, являясь в основном компонентами миеллина, входят также в состав митохондрий и других субклеточных частиц [5, 10], обнаружены две С-концевые аминокислоты: фенилаланин и лизин. В других же органах, где ПЛ являются в основном компонентами митохондрий, выявлена только одна С-концевая аминокислота—лизин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Казарян Т. Н., Манукян К. Г. Биолог. ж. Армении, 34, 5, 502—504, 1981.
2. Казарян Т. Н. IX Всесоюзн. конф. по биохимии нервной системы, 57, Ереван, 1983.
3. Казарян Т. Н., Левонян К. Л., Манукян К. Г. Биолог. ж. Армении, 36, 4, 322—325, 1984.
4. Манукян К. Г., Киракосян Л. Г., Левонян К. Л. Вопросы биохимии мозга, 7, 140—149, Ереван, 1972.
5. Манукян К. Г., Левонян К. Л., Степанян А. А., Киракосян А. Г., Казарян Т. Н. Вопросы биохимии мозга, 12, 68—80, Ереван, 1977.
6. Манукян К. Г. Вопросы биохимии мозга, 13, 86—106, Ереван, 1979.
7. Folch J., Webster G. R., Lees M. Federn. proc., 18, 1, 228, 1959.
8. Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G. H. J. Biol. Chem., 127, 497—509, 1957.
9. Hirz C. H. W. In: Methods in Enzymology, 11, 197—199, New York, 1957.
10. Lapelina E. G., Soto E. F., De Robertis E. I. Neurochem., 15, 437, 1968.
11. Wiggan R. C., Del Valle G., Joffe S. I. Neurochem., 22, 337, 1974.
12. Wikehart D. H., Lees M. H. J. Neurochem., 20, 1303—1315, 1973.

Поступило 2.VII 1985г.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОБЪЕКТОВ ИЕРАРХИЧЕСКИМ КЛАСТЕР-АНАЛИЗОМ В ПРОСТРАНСТВЕ ИСХОДНЫХ АНТРОПОМЕТРИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ И КООРДИНАТАХ ФАКТОРОВ ТЕЛОСЛОЖЕНИЯ

Л. М. ЕПИСКОПОСЯН

Ереванский государственный медицинский институт, НИИ кафедры гигиены санитарно-гигиенического факультета

Ключевые слова: антропометрические признаки, варимакс-факторы, кластер-анализ, расстояние Евклида.

Проблема классификации биологических объектов, имеющих, как правило, многомерное описание, решается использованием в большинстве случаев двух подходов теории распознавания образов: Q-факторного и кластер-анализа. Под «классификацией» в данном случае понимается разбиение объектов на подмножества, внутри которых сходство между составляющими их элементами больше, чем между объектами из различных групп. Именно такую задачу призван решать кластер-анализ — один из методов построения объективной классификации.

В биологии наибольшее распространение получил иерархический алгоритм кластер-анализа: процедура классификации начинается с образования кластеров, состоящих из одного объекта, и каждое последующее объединение уменьшает количество кластеров на единицу до получения одного кластера, охватывающего все элементы. Среди разновидностей иерархического кластер-анализа чаще всего используется среднесвязывающий метод Кинга, при котором взаимная удаленность объектов определяется как расстояние между их центрами. Как правило, в этом случае в качестве меры расстояния при многомерном описании объектов привлекается евклидова метрика. Важнейшим условием корректного применения данной метрики, как известно, является обязательный учет взаимной коррелированности признаков. Однако в практической работе в качестве исходного предположения принимается взаимная ортогональность показателей, в то время как между ними существует значимая корреляция.

Целью настоящего исследования явилось сравнение результатов классификации биологических объектов (детей) по уровню соматического развития с использованием в качестве инструмента разбиения иерархического среднесвязывающего алгоритма кластер-анализа, в качестве метрики — расстояния Евклида. В одном случае разбиение проводилось в пространстве исходных признаков, в другом — в координатах ортогональных интегральных показателей.

Объектом исследования явились мальчики в возрасте 7—17 лет (общее количество обследованных составило 1100 человек—по 100 детей в каждой возрастной группе), у которых получены результаты измерения 26 антропометрических признаков, описывающих основные линейные, широтные и обхватные размеры головы, туловища и конечностей. Разработка материала осуществлена в РИВШ МЗ Армянской ССР на базе ЭВМ ЕС-1033 с использованием пакета прикладных статистических программ ВМОР.

Кластер-анализ объектов в пространстве исходных признаков не привел к какой-либо упорядоченности детей по подмножествам. Иными словами, не удалось достичь существенного разбегания, характеризующегося компактностью выделенных групп. Причина этого, в частности, в неучете при использовании привлекаемого алгоритма взаимной корреляции антропометрических признаков.

Новые результаты получены при классификации детей в пространстве интегральных показателей соматического развития, выделенных при факторном анализе исходных характеристик (табл. 1). Начальные

Таблица 1. Результаты классификации мальчиков 7—17 лет по возрастным периодам с помощью линейных дискриминантных функций

Возрастные периоды	Процент верной классификации	Число классифицированных по периодам случаев			
		7—10	11—12	13—14	15—17
7—10	85,0	340	59	1	0
11—12	74,0	21	148	30	1
13—14	64,5	1	40	129	30
15—17	81,7	6	4	42	254
Всего	79,2	362	251	202	285

обобщенные векторы изменчивости выявлены проведением анализа главных компонент, для облегчения предметной интерпретации выделенные факторы подвергнуты варимакс-вращению [1], при котором взаимная ортогональность интегральных показателей сохраняется.

В процессе классификации выделена следующая упорядоченность возрастных групп: 7—10, 11—12, 13—14, 15—17 лет. Результаты пошагового дискриминантного анализа обнаружили достаточно высокую степень линейной разделяемости выделенных классов детей: в среднем уровень реклассификации (с помощью линейных дискриминантных функций (табл. 1) и прогноза (по методу «скользящего контроля») (табл. 2) составил около 80%, что находится в пределах, типичных для классификации объектов с помощью ЛДФ на основе антропометрических признаков [2, 3].

Таким образом, иерархическая процедура кластер-анализа с использованием в качестве метрики расстояния Евклида весьма чувствительна к нарушению исходных предположений относительно характера взаимосвязи признаков, описывающих классифицируемые объекты. Для обеспечения соответствия анализируемого материала определенным требованиям с целью достижения линейно разделяемой—на высоком

Таблица 2. Результаты классификации мальчиков 7—17 лет с использованием процедуры «скользящего контроля»

Возрастные группы	Процент верной классификации	Число классифицированных по периодам случаев			
		7—10	11—12	13—14	15—17
7—10	84.2	337	62	1	0
11—12	71.0	21	142	36	1
13—14	63.5	1	42	127	30
15—17	84.0	0	4	44	252
Всего	78.0	359	250	208	283

уровне—классификации предлагается перейти от исходных (скоррелированных) признаков к их ортогональным интегральным показателям, выделяемым при факторном анализе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Никогосян Г. Г., Епископосян Л. М., Кочарова С. Г. Гигиена и санитария, 12. 65—67, 1985.
2. Трубников В. И. Автореф. канд. дисс., М., 1978.
3. Fötsch-Schneider L., Schmidt H. Z. Rechtsmed., 24. 1. 21—30, 1935.

Поступило 15.IV 1986 г.

Вспомог. ж. Армении, т. 39, № 9, с. 793—796, 1986 УДК 616—056—071—616—053.2/313.13

ОБ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ФАКТОРНОГО АНАЛИЗА В ЦЕЛЯХ КЛАССИФИКАЦИИ

Е. Х. ТОРОСЯН

Ереванский государственный медицинский институт, кафедра педиатрии

Ключевые слова: факторный анализ, классификация, биомедицинские исследования

Современный подход к решению задач научных исследований связан с накоплением больших массивов информации, статистическая обработка которых предполагает применение методов многомерного статистического анализа с привлечением ЭВМ.

Необходимым условием исследований с применением ЭВМ является разработка машинно-ориентированного унифицированного документа—карты учетных признаков, пригодной для последующего создания банка данных. Принципиальная необходимость его создания обусловлена тем, что ни один из общеупотребительных документов не может служить основной формой учета информации для последующего ее введения в ЭВМ.

Создание банка данных по заболеваемости достигается несколькими условиями: унификацией и стандартизацией документации, предельной формализацией записи, квантованием информации (т. е. представлении различных характеристик некоторых учетных признаков в качестве отдельных параметров), преобразованием получаемых при исследовании объекта сведений в форму, пригодную для ввода в ЭВМ [2, 8]. Большое внимание при разработке машинно-ориентированной карты уделяется отбору входящих в нее признаков, поскольку это определяет масштабы создаваемого архива исходных данных и возможности применяемых в последующем математических методов. При отборе признаков возможно применение как субъективных оценок параметров, так и объективных методов определения их информативной ценности для последующих этапов статистической обработки. Нецелесообразно «минимизирование» вносимой в карту информации, сканирование величин с цифровыми значениями; кроме того, необходимо обеспечение значности ответов при кодировке [3].

После создания информационного массива в памяти ЭВМ на основе машинно-ориентированной документации становится принципиально возможным применение методов многомерного статистического анализа, подчиненных конкретным задачам исследования. Одним из высокоэффективных подходов многомерного статистического анализа является факторный анализ [4, 6], который позволяет в определенной степени произвести оценку величин, не поддающихся количественному измерению, сформировать гипотезы о наличии определенных закономерностей, представлений о природе процесса и построить его математическую модель. В настоящее время факторный анализ нашел применение в различных областях биологии и медицины, в том числе и при разработке классификации объектов [4, 5, 7].

Нами изучалась периодическая болезнь в детском возрасте с помощью методов многомерного статистического анализа, в том числе факторного. В разработанной машинно-ориентированной «Карте обследования больного хроническим соматическим заболеванием», рассчитанной на 546 параметров, была принята унифицированная система кодировки важнейших симптомов заболевания, включающая начало (на каком месяце от начала заболевания) и длительность (в месяцах) симптомов.

Характеристика качественного признака (наличие или отсутствие симптома) с помощью количественных параметров, включение в набор учетных признаков для факторного анализа важнейших симптомов заболевания, определяющих его клинический вариант, позволили выявить определенные взаимосвязи между длительностью заболевания, сроками присоединения и длительностью различных симптомов.

Анализ группы полученных варимакс-факторов выявляет высокую положительную корреляцию между длительностями лихорадки, абдоминалгии, артралгии, а также сроками присоединения артралгии и торакалгии. Данное сочетание параметров характерно для смешанной формы заболевания, причем указанная тенденция является наиболее

значимой при периодической болезни. Таким образом, оба эти обстоятельства можно рассматривать как косвенное доказательство преобладания смешанных форм заболевания. Кроме того, при периодической болезни получены варимакс-факторы, выявляющие положительную корреляцию длительности абдоминалгии и торакалгии с лихорадкой, т. е. выявленное сочетание симптомов характерно для изолированных абдоминального и торакального вариантов. Причем не получено свидетельств, указывающих на существование изолированных—лихорадочного или артралгического—вариантов.

Таким образом, полученная классификация включает в себя лишь три клинических варианта периодической болезни в детском возрасте: смешанный (наиболее частый), абдоминальный и торакальный, что согласуется с клиническими данными [1].

Предложенная классификация получена не на основе распределения объектов (хотя и подтверждается им), а в результате выявления закономерностей самого процесса. Таким образом, правильный отбор и кодировка важнейших признаков с учетом их количественных характеристик определили успешность нетривиального применения факторного анализа в целях классификации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Айвазян А. А. Периодическая болезнь. Ереван, 1982.
2. Амосов Н. М., Зайцев Н. Г., Мельников В. Г. и др. Медицинская информационная система. 2-е изд., испр. и доп., Киев, 1971.
3. Ашхикузе В. Г., Карл В. П., Кацева В. П., Левинская М. М. В кн.: III Всесоюз. конф. по биол. и мед. кибернетике. Тез. докл., 4, 51, 4, Москва—Сухуми, 1978.
4. Голубев Л. Н. Вопросы онкологии, 29, 3, 1983.
5. Жилинская М. В., Большакова Г. С., Фельдман А. Е. и др. Использование математических методов в комплексной оценке состояния детского организма (Методические рекомендации). М., 1977.
6. Иберла К. Факторный анализ. М., 1980.
7. Малахов Б. Б. В кн.: Математические методы в психиатрии и неврологии. 111—2, Л., 1972.
8. Неймарк Ю. И., Баталова З. С., Васин Ю. Г., Брейдо М. Д. Распознавание образцов и медицинская диагностика. М., 1972.
9. Харман Г. Современный факторный анализ. М., 1972.

Поступило 15.IV 1986 г.

ОЦЕНКА УРОВНЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ПОПУЛЯЦИЙ АРАРАТСКОГО РАЙОНА АРМЯНСКОЙ ССР НА ОСНОВЕ ЧАСТОТ ВСТРЕЧАЕМОСТИ ФАМИЛИЙ

А. П. ЛИРИЯН, Р. М. АРУТЮНЯН, Н. Р. КОЧАР, Л. М. ЕПИСКОПОСЯН,
А. Р. БАДАЛЯН, Л. М. МУСАЕЛЯН

Ереванский государственный медицинский институт, лаборатория социально-гигиенических проблем села, Ереванский государственный университет, Институт археологии и этнографии АН Армянской ССР

Ключевые слова: популяции АрмССР, семейная структура, генетическая дифференциация

Анализ генетической дифференциации популяций Араратского района Армянской ССР является одним из необходимых этапов комплексного исследования генетической структуры одного из крупных районов республики.

Отбор критериев для оценки генетической структуры и уровня генетической дифференциации популяций проводился с учетом доступности, надежности и чувствительности используемых тестов. В этом плане недостаточно испытанным показателем является учет семейной дифференциации. Согласно Рычкову и соавт. [2], «родовая (семейная) дифференциация популяций—не только аналог генетической дифференциации, но и имеет общую с ней основу в исторически обусловленной структуре популяции, в том числе и в структуре миграций». Кочар и соавт. [1] была получена средняя из 85-ти оценок стандартизированной дисперсии частот фамилий, равная $fon = 0,0600 \pm 0,0033$ для популяций Армении. Этот показатель лишь на 2,5% отличается от аналогичного параметра, полученного на основе анализа дерматоглифики. Было выявлено, что эмпирические данные для этих систем соответствуют теоретически ожидаемым значениям дисперсии при «островном» типе структуры миграций и достоверно отличаются от них при «ступенчатом» типе.

Материалом исследования явились данные о распространенности 70-ти наиболее частых фамилий в 17-ти населенных пунктах Араратского района, полученные из регистрационных книг сельсоветов. Фиксировались все фамилии 20000 жителей этих пунктов без отсела фамилий матерей. Оценка степени генетической дифференциации популяций проведена с использованием анализа семейной структуры [1]. Конечные итоги этого анализа представлены в виде среднего значения ($\bar{X}$) и стандартизованной систематической дисперсии (s^2) частот каждой из 70-ти фамилий, зафиксированных в 17-ти изученных популяциях.

$$s^2 = \frac{\sum (x_i - \bar{X})^2}{n-1}$$

где s^2 —систематическая дисперсия частоты i -ой фамилии.

Для каждой из фамилий вычисляли относительную частоту встречаемости в каждом населенном пункте, затем определяли среднюю частоту $\bar{X}_i$ и дисперсию s^2 распространенности фамилий в целом по району.

Параметры распространенности 70-ти наиболее частых фамилий в 17-ти населенных пунктах Араратского района Армянской ССР

№ п. п.	Фамилии	X_1	σ^2	f_1
1	2	3	4	5
1	Арутюнян	0.0442	0.0012	0.0284
2	Акопян	0.0352	0.0004	0.0118
3	Абрамян	0.0143	0.0001	0.0071
4	Аракелян	0.0102	0.0003	0.0297
5	Асатрян	0.0120	0.0002	0.0169
6	Аветисиц	0.0248	0.0003	0.0124
7	Авакян	0.0112	0.0002	0.0181
8	Александрян	0.0056	0.0001	0.0180
9	Айнязян	0.0026	0.0000	0.0039
10	Асатрян	0.0059	0.0001	0.0170
11	Антонян	0.0035	0.0003	0.0360
12	Аюян	0.0030	0.0000	0.0067
13	Адамян	0.0021	0.0000	0.0143
14	Арумянян	0.0036	0.0000	0.0112
15	Агаджанян	0.0015	0.0000	0.0027
16	Ароян	0.0023	0.0000	0.0087
17	Амбарцумян	0.0037	0.0000	0.0081
18	Андреасян	0.0097	0.0003	0.0312
19	Айрапетян	0.0099	0.0003	0.0308
20	Алисе	0.0105	0.0004	0.0174
21	Барсегян	0.0275	0.0013	0.0456
22	Багдасарян	0.0160	0.0006	0.0381
23	Бадалян	0.0053	0.0000	0.0095
24	Базикян	0.0017	0.0000	0.0150
25	Варданян	0.0217	0.0001	0.0047
26	Григорян	0.0411	0.0006	0.0142
27	Галстян	0.0154	0.0004	0.0264
28	Геворжян	0.0233	0.0002	0.0088
29	Гукасян	0.0071	0.0001	0.0142
30	Габриелян	0.0105	0.0001	0.0096
31	Давтян	0.0146	0.0002	0.0139
32	Егизарян	0.0056	0.0000	0.0108
33	Еномян	0.0019	0.0000	0.0026
34	Захарян	0.0093	0.0002	0.0217
35	Карапетын	0.0379	0.0008	0.0219
36	Киракосян	0.0048	0.0000	0.0105
37	Казарян	0.0364	0.0006	0.0171
38	Кочарян	0.0024	0.0000	0.0084
39	Мурадян	0.0254	0.0003	0.0121
40	Мирзоян	0.0076	0.0002	0.0258
41	Манукян	0.0368	0.0007	0.0197
42	Мартirosян	0.0259	0.0004	0.0159
43	Минацканян	0.0090	0.0001	0.0112
44	Мелконян	0.0135	0.0003	0.0225
45	Мкртчян	0.0233	0.0004	0.0176
46	Минасян	0.0098	0.0002	0.0206
47	Мхитарян	0.0063	0.0007	0.0112
48	Матевосян	0.0057	0.0000	0.0106
49	Микаелян	0.0039	0.0000	0.0106
50	Маркариан	0.0217	0.0004	0.0168
51	Мовсесян	0.0089	0.0000	0.0079
52	Назарян	0.0129	0.0001	0.0314
53	Нерсисян	0.0060	0.0000	0.0101
54	Никогосян	0.0079	0.0000	0.0077
55	Оганесян	0.0487	0.0106	0.0130
56	Овсепян	0.0096	0.0000	0.0053
57	Оганян	0.0111	0.0004	0.0364
58	Петросян	0.0333	0.0003	0.0093
59	Погосян	0.0170	0.0002	0.0120
60	Савакян	0.0211	0.0005	0.0242
61	Саркисян	0.0491	0.0009	0.0193
62	Сафарян	0.0097	0.0001	0.0104

1	2	3	4	5
63	Симолян	0.0203	0.0004	0.0201
64	Степанян	0.0096	0.0000	0.0095
65	Татевосян	0.0127	0.0003	0.0239
66	Товмасын	0.0046	0.0030	0.0067
67	Хачатрян	0.0535	0.0020	0.0395
68	Шагинян	0.0058	0.0000	0.0139
69	Шахназарян	0.0080	0.0004	0.0504
70	Шахбазян	0.0033	0.0000	0.0122

ну (табл.). Определяли среднюю стандартизованную дисперсию по 70-ти фамилиям, значение которой составило 0.0180 ± 0.0016 , т. е. выявленный уровень ниже соответствующего показателя, полученного Кочар и соавт. [1]. Это можно объяснить тем, что результаты настоящего исследования получены по району, а не по всей республике, и проанализированная нами выборка превышает объем прежней в 7 раз.

Представляется необходимым исследование генетической дифференциации популяций и по другим генетически обусловленным признакам, что позволит оценить сравнительную информативность результатов анализа фамильной структуры для изучения генетической дифференциации в популяциях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кочар Н. Р., Шереметьева В. А., Рычков Ю. Г. Генетика, 17, 8, 1508—1520, 1981.
2. Рычков Ю. Г., Шереметьева В. А., Гаусик Т., Жукова О. В., Бородин С. Р. Вопросы антропологии, 53, 38—56, 1976.

Поступило 15.IV 1986 г.

Биолог. ж. Армении, т. 39, № 9, с. 798—800, 1986

УДК 577.15

ВЛИЯНИЕ НЕЙРОГОРМОНА К НА АРГИНАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ ПЕЧЕНИ КРЫС

К. А. ГАЛОЯН, М. А. ДАВТЯН, Р. М. СРАПНОНЯН

Институт биохимии АН Армянской ССР, Ереван, Ереванский государственный университет, кафедра биохимии

Ключевые слова: аргиназа, нейрогормон К, ферментативная активность.

В секреторных ядрах гипоталамической области мозга продуцируются пептидные нейрогормоны, которые оказывают регулирующее влияние на сердечную деятельность [1, 4]. Нейрогормон К, введенный кошкам интравенно, немедленно вызывает расширение сердечных сосудов, сохраняющееся в течение 2—3 ч, и увеличивает коронарный отток на 150—200 и более процентов. В данной работе приводятся результаты изучения влияния нейрогормона К на активность аргиназы (аргининамидиноуреогидролаза КФ 3.5.3.1), являющейся ключевым ферментом

орнитинового цикла и имеющей широкое биологическое распространение. Как известно, аргиназа, гидролизующая аргинин, лимитирует содержание в тканях этой аминокислоты, а также определяет включение образовавшегося орнитина в различные биосинтетические процессы.

Материал и методика. Опыты проводили на самках белых крыс массой 150—300 г. на базе Института биохимии АН Армянской ССР, в лаборатории нейрогормонов. Животных декапитировали, в холодных условиях извлекали печень и готовили 10%-ный гомогенат (на дистилляте с 0,1 М KCl, pH 7,4) в стеклянном гомогенизаторе с тefлоновым пестиком. Аргиназную активность определяли путем инкубирования гомогената в присутствии L-аргинина (50 мкм), $MnCl_2$ (5 мкм), глицинового буфера (0,2 М, pH 9,5) на пробу при 37° в течение 20 мин в условиях непрерывного встряхивания. После остановки реакции добавлением ТХУ в экстракте определяли количество образовавшейся мочевины методом Арчибалда [3] с использованием набора реактивов для стандартных исследований биохимических жидкостей (фирма «Лакма», ЧССР).

Если опыты проводили в условиях *in vivo*, то животных усыпляли интубирующим препаратом нембутала, после чего вводили им различные концентрации нейрогормона в вену *jugularis*, и через определенные промежутки времени их декапитировали. Стандартизацию препаратов нейрогормона К проводили на основании его коронарорасширяющего действия в опытах на кошках в условиях *in situ*. За единицу биологической активности нейрогормона К принимали такое количество его, которое увеличивало объем крови, оттекающей из коронарных сосудов сердца, на 100%. Аргиназную активность выражали в мкм образовавшейся мочевины на 1 г свежей ткани.

Результаты и обсуждение. Результаты экспериментов в условиях *in vivo* и *in vitro* показали, что 0,12—0,24 единиц биологической активности достаточно сильно ингибируют активность аргиназы печени крыс.

Влияние нейрогормона К на аргиназную активность печени крыс в условиях *in vivo* и *in vitro*, мкмоль/г свежей ткани/мин

Время воздействия, мин	Пола вводимого вещества, ед. биол. акт.			
	0,12		0,24	
	контроль	опыт	контроль	опыт
<i>In vivo</i>				
5	850±30 (4)	841±25 (4)	739±20 (4)	745±15 (1)
15	680±25 (4)	545±14 (4)	765±25 (4)	754±15 (4)
30	842±38 (4)	332±12 (5)	770±20 (5)	654±15 (5)
40	680±22 (5)	211±14 (5)	757±20 (5)	566±11 (5)
60	683±20 (4)	478±24 (5)	734±30 (6)	680±18 (5)
<i>In vitro</i>				
	576±16 (5)	416±18 (5)	600±15 (5)	432±15 (5)

$P < 0,001$. В скобках указано число опытов.

Нейрогормон К в отличие от нейрогормона С [2] проявляет свой ингибирующий эффект не через 5 мин после введения 0,12 ед. биол. акт. этого вещества через 15 мин ингибируют аргиназу на 20%, через 30 мин на 61%, через 40 мин—максимум—на 69%, но уже к часу этот

процессе начинает ослабевать—33% ингибирования. Интересно, что при более высоких его дозах (0,24 ед. биол. акт.) ингибирующий эффект выражен слабее. Через 30 мин после введения данной концентрации ингибирование незначительное—15%, через 40 мин оно составляет 25%, а через 60 мин вновь ослабевает—7%.

Результаты опытов в условиях *in vivo* доказывают вероятность непосредственного ингибирования активности аргиназы нейрогормоном К. В дозе 0,12—0,24 ед. биол. акт. нейрогормон ингибирует активность аргиназы печени крыс на 28%. При более высоких или более низких дозах его указанный эффект отсутствует. В настоящее время трудно объяснить этот факт, можно лишь допустить, что нейрогормон К является модулятором фермента, т. е. взаимодействует с его стереоспецифическим центром, что является одним из редких примеров непосредственного влияния гормона на фермент. Дальнейшие исследования помогут изучить характер и механизм ингибирующего действия нейрогормона К.

ЛИТЕРАТУРА

1. Галоян А. А. Вопросы биохимии мозга, 8, 107—122, Ереван, 1973.
2. Галоян К. А., Даян М. А., Срапионян Р. М. Биол. ж. Армении, 38, 10, 902—904, 1985.
3. Archibald R. M. J. Biol. Chem., 176, 1, 121—142, 1944.
4. Galoyan A. A. New neurohormones of the hypothalamus. Second International meeting of the International Society for Neurochemistry, 177, Milan, 1969.

Поступило 3.1 1986 г.

Биол. ж. Армении, т. 39, № 9, с. 800—803, 1986

УДК 706.85

ТКАНЕВЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ПИРУВАТА, ЛАКТАТА И α -КЕТОГЛУТАРАТА ПОД ВЛИЯНИЕМ НЕЙРОГОРМОНА К

С. С. АЛЕКСАНИ

Институт биохимии АН Армянской ССР, Ереван

Ключевые слова: нейрогормон К, лактат, пируват, α -КГЛ.

Ранее Галояном была открыта новая группа нейрогормонов гипоталамуса, оказывающих кардиотропное влияние [3]. Эти нейрогормоны, условно названные автором веществами К, С, G, при очень низких концентрациях увеличивают коронарный кровоток у кошек (в условиях *in situ*) [4—6]. При изучении механизма действия нейрогормона С на сердце и другие органы было установлено повышение содержания лактата и изменение активности фосфорилазы, что является свидетельством активации расщепления гликогена и глюкозы под влиянием этого вещества [1, 7, 8]. Известно также, что нейрогормон С ингибирует фосфодиэстеразу 3,5-сАМФ сердца и мозга [9] и конкурирует с сАМФ-

за регуляторную единицу сАМФ-зависимой гистонкиназы мозга [10]. Кроме того, он влияет на интенсивность окислительных стадий цикла трикарбоновых кислот [2].

Цель настоящей работы состояла в попытке выяснения направленности метаболических сдвигов под влиянием нейрогормона К, а именно изменения содержания пирувата, лактата и кетоглутарата в сердце, мозге, печени и почках крысы в условиях *in vivo* и *in vitro*.

Материал и методика. Опыты ставили на белых крысах обоего пола массой 120—150 г. В опытах *in vivo* хроматографический индивидуальный нейрогормон К вводили в вену *jugularis* под эфирным наркозом в дозе 200 мЕ на животное. Контрольным животным вводили физиологический раствор в том же объеме. Через 40 мин после введения нейрогормона К (на фоне развития коронарорасширяющего эффекта) животных быстро декапитировали, извлекали сердце, почки, печень и мозг, промывали их холодной бидистиллированной водой, брали по 200 мг каждого органа и гомогенизировали на льду в бикарбонатном буфере (рН 7.4).

Опыты на срезах проводили следующим образом: после декапитации животных готовили срезы (200 мг), которые помещали в сосудик Варбурга, содержащий 1,9 мл бикарбонатного буфера (рН 7.4), добавляли по 0.2 мл нейрогормона К (из расчета 50 мЕ), смесь аэрировали (95% O₂+5% CO₂) и инкубировали в течение 60 мин при 37°. Затем ткань гомогенизировали, экстрагировали и определяли пируват, кетоглутарат по методу Тарве [12] и лактат—по Баркеру и Симмерсону [13].

Результаты и обсуждение. В табл. 1 представлены данные о сдвигах в содержании пировиноградной, кетоглутаровой и молочной кислот в сердечной мышце, мозге, почках и печени после внутривенного введения нейрогормона К.

Таблица 1. Содержание пировиноградной, α -КГЛ и молочной кислот в сердце, мозге, почках и печени после внутривенного введения нейрогормона К, мкмоль/г свежей ткани

Исследуемые органы	Пировиноградная кислота		α -КГЛ		Молочная кислота	
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
Мозг	0.29±0.002 (12)	0.30±0.003 (15) p=0.01	0.20±0.002 (11)	0.21±0.009 (13) p<0.2	2.0±0.01 (7)	3.05±0.13 (10) p>0.05
Сердце	0.31±0.01 (9)	0.45±0.005 (12) p>0.05	0.19±0.05 (8)	0.073±0.002 (12) p>0.001	5.5±0.07 (11)	11.1±5.5 (15) p<0.2
Почки	0.27±0.004 (8)	0.42±0.01 (12) p<0.001	0.30±0.005 (11)	0.07±0.003 (14) p<0.001	2.7±0.2 (12)	4.9±0.05 (16) p>0.001
Печень	0.31±0.002 (10)	0.32±0.003 (15) p>0.05	0.20±0.005 (12)	0.22±0.005 (14) p>0.02	3.1±0.2 (10)	3.5±0.04 (15) p>0.005

В мозге не выявлено особых сдвигов в содержании пирувата и α -КГЛ, отмечается лишь заметное повышение содержания молочной кислоты (2,0 в норме, 3,05 мкмоль/г в опыте).

Весьма своеобразные изменения обнаружены в сердечной мышце и почках, где количество пирувата значительно повышалось: в сердце на 48%, а в почках на 55%. Обратная картина наблюдалась в содержании

α -КГЛ. В сердечной мышце его количество уменьшалось более чем в три раза по сравнению с контролем ($0,073 \pm 0,002$ мкмоль/г против $0,19 \pm 0,05$ в контроле), а в почках четыре раза.

Как видно из приведенных данных, в мозге и печени заметных сдвигов в содержании α -КГЛ не обнаружено. Таким образом, после внутривенного введения нейrogормона К во всех изученных органах наблюдается увеличение количества молочной кислоты, наиболее выраженное в сердце.

Изучение содержания пирувата, α -КГЛ и молочной кислоты под влиянием нейrogормона К в срезах указанных органов (табл. 2) показало, что характер действия этого вещества в условиях *in vivo* и *in vitro* один и тот же. Разница лишь в увеличении содержания α -КГЛ в срезах мозга (на 15%). Количество лактата значительно повышается, особенно в срезах сердца и мозга. В срезах почек молочная кислота не подвергается изменениям.

Т а б л и ц а 2. Содержание пировиноградной, α -КГЛ и молочной кислот в срезах мозга, сердца, почек и печени под влиянием нейrogормона К, мкмоль/г свежей ткани

Исследуемые органы	Пировиноградная кислота		α -КГЛ		Молочная кислота	
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
Мозг	$0,26 \pm 0,003$ (16)	$0,32 \pm 0,004$ (14) $p > 0,001$	$0,20 \pm 0,01$ (7)	$0,23 \pm 0,003$ (15) $p > 0,001$	$2,25 \pm 0,09$ (7)	$5,27 \pm 0,2$ (10) $p > 0,001$
Сердце	$0,32 \pm 0,003$ (6)	$0,46 \pm 0,01$ (13) $p > 0,001$	$0,20 \pm 0,003$ (6)	$0,076 \pm 0,004$ (11) $p < 0,001$	$6,6 \pm 0,06$ (7)	$7,9 \pm 0,08$ (10) $p > 0,001$
Почки	$0,25 \pm 0,03$ (6)	$0,43 \pm 0,008$ (14) $p > 0,001$	$0,28 \pm 0,003$ (7)	$0,072 \pm 0,006$ (12) $p > 0,001$	$3,3 \pm 0,1$ (16)	$2,95 \pm 0,1$ (10) $p = 0,05$
Печень	$0,34 \pm 0,003$ (10)	$0,32 \pm 0,005$ (15) $p = 0,01$	$0,20 \pm 0,01$ (6)	$0,23 \pm 0,004$ (16) $p < 0,05$	$3,1 \pm 0,2$ (6)	$5,63 \pm 0,2$ (10) $p > 0,001$

Ранее нами было показано, что под влиянием нейrogормона С во всех изученных органах содержание молочной кислоты повышается, причем наиболее выражено в сердце. Количество пирувата уменьшается более чем в 5 раз по сравнению с контролем. Содержание α -КГЛ не изменяется в мозге, почках и печени, а в сердечной мышце несколько повышается, как в условиях *in vivo*, так и *in vitro* [11].

Результаты настоящего исследования показывают, что нейrogормон К, подобно нейrogормону С, усиливает гликолиз и повышает уровень лактата в исследуемых органах, однако, в отличие от нейrogормона С, возможно, снижает интенсивность процесса окисления пирувата и цикла трикарбоновых кислот в сердечной мышце и почках, о чем свидетельствует его накопление в этих органах. В то же время окисление α -КГЛ в этих органах усиливается, о чем можно судить по его более интенсивной утилизации в них.

1. Алексанян С. С., Галоян А. А. Биолог. ж. Арменин, 30, 2, 1977.
2. Алексанян С. С., Галоян А. А., Путилина Ф. Е. ДАН АрмССР, 60, 4, 237, 1975.
3. Галоян А. А. ДАН АрмССР, 34, 3, 109, 1962.
4. Галоян А. А. Некоторые проблемы биохимии гипоталамической регуляции. Ереван, 1965.
5. Галоян А. А. Вопросы биохимии мозга, 3, 291, Ереван, 1967.
6. Галоян А. А., Саакян Ф. М. ДАН СССР, 201, 2, 483, 1971.
7. Галоян А. А., Алексанян С. С., Абелян Ж. Г., Бархударян Н. А. ДАН АрмССР, 60, 2, 117, 1975.
8. Галоян А. А., Алексанян С. С. ДАН АрмССР, 60, 5, 293, 1975.
9. Галоян А. А., Гурвиц Б. Я., Погосян М. А. Вопросы биохимии мозга, 11, 89, Ереван, 1976.
10. Галоян А. А., Гурвиц Б. Я. ДАН АрмССР, 65, 3, 173, 1977.
11. Галоян А. А., Алексанян С. С. ДАН АрмССР, 58, 3, 183, 1974.
12. Тарве У. С. 3-я Всесоюзн. конф. по биохимии нервной системы, 271—278, Ереван, 1963.
13. Barker S. B. and Summerson W. H. J. Biol. Chem., 138, 2, 535, 1941.

Поступило 7.XI 1985 г.

Биолог. ж. Арменин, т. 39, № 9, с. 803—806, 1986

УДК 577.15:582.282.23:547.466

АРГИНИН-ГЛИЦИН ТРАНСАМИДИНИРОВАНИЕ В РАЗЛИЧНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ

Г. Г. ЖАМГАРЯН, Э. А. МАНТАШЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии, проблемная
лаборатория сравнительной и эволюционной биохимии

Ключевые слова: катаболизм аргинина. L-аргинин:глицин-амидинотрансфераза.

Ферментативный перенос амидиновой группы от аргинина на глицин с образованием орнитина и гуанидинуксусной кислоты (ГУКА) достаточно подробно изучен при биосинтезе креатина [3]. Реакция на первом этапе катализируется ферментом L-аргинин:глицин-амидинотрансферазой (КФ 2.1.4.1), чаще именуемом трансамидиназой. На втором этапе метилирование ГУКА приводит к образованию энергетически важного для работы мышц соединения—креатина. Для объектов растительного мира наибольший интерес представляет первый этап, а именно образование орнитина, который, при участии N-ацетил-орнитинаминотрансферазы, превращается в дальнейшем в полуальдегид глутаминовой кислоты или пролин, включаясь тем самым в аминокислотный обмен клетки [4]. Для гриба *Panus tigrinus*, лишенного, по литературным данным, аргиназной активности, утилизация аргинина осуществляется исключительно трансамидиназным путем, и только в случае низких концентраций ^{14}C -аргинина в ростовой среде могут иметь место декарбоксилирование и переаминирование [8].

В урсотелических организмах (крысы) трансамидиназа сосредоточена главным образом в почках и поджелудочной железе [9], в урико-

телических (птицы) — в почках и печени [5], у человека — в почках и поджелудочной железе, а также в печени, мозге, мышцах и других тканях [6, 11, 13].

В растениях, грибах и бактериях роль трансамидинирования почти не изучена. Об очень незначительной активности у *Escherichia coli*, *Torulopsis utilis*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sporogenes* имеются сведения в различных работах Хокера [14]. Высокая активность отмечалась у *Streptomyces griseus* [12], *Klebsiella aerogenes* [4], *Penicillium tigrinus* [8]. Ранее уже сообщалось об обнаружении трансамидиназной активности в винных дрожжах [2]. В связи с этим представлялось целесообразным проведение предварительных исследований для решения вопроса о выборе в качестве источника трансамидиназы подходящего микробиологического объекта, способного к тому же удовлетворять требованиям препаративной энзимологии.

Материал и методика. В нашей работе, проведенной в 1981—86 гг., были использованы: винные дрожжи рода *Saccharomyces* из Всесоюзной коллекции микроорганизмов, выделенные из виноградного сусла (представлены под номерами); местная раса Кахури-7, применяемая в шампанском производстве; дрожжи вида *Saccharomyces oviformis* и *Sacch. italicus*, а также *Schizosaccharomyces* из коллекции дрожжей кафедры биохимии ИГУ; пекарские дрожжи (ХН раса) из заводской лаборатории.

Дрожжи выращивали на синтетической минеральной среде Ридера с добавлением 0,5% дрожжевого экстракта. Через 16—18 ч роста (экспоненциальная фаза) в условиях интенсивного аэрирования на качалке клетки отделяли от культуральной жидкости центрифугированием, дважды промывали холодной водой и один раз 0,067 М калий-фосфатным буфером, pH 7,4, и замораживали при -18° . *Neurospora crassa* культивировали на среде Чапек с добавлением дрожжевого экстракта (0,5%) в условиях аэрирования в течение 48 ч; *A. niger* — тем же способом на среде Роллена в течение 48 ч; *Streptococcus faecalis* — на полусинтетической среде Анян в условиях анаэробно-аэрирования [1]. *Chlorella pyrenoidosa* была получена из Института гидропонии АН АрмССР. Семена пыльных растений предварительно замачивали на 18 ч в чашках Петри. *P. tigrinus* культивировали на среде Чапек с добавлением дрожжевого экстракта (0,5%) и тиамина (0,5 мг/л) в условиях аэрирования в течение 10 суток. Все виды дрожжей выращивали при температуре 25—27°, грибы — при 24°.

Экстракция фермента. Размороженные дрожжевые клетки ресуспендировали в буфере, содержащем ЭДТА (5 мг/мл), до 20% концентрации и подвергали разрушению с помощью дезинтегратора марки Brawn-Labsonic в течение 15 мин. Грибы и семена пыльных растений разрушали в гомогенизаторе типа Поттер-Эльвуджейма в течение 3 мин. С момента разрушения клеток все операции проводили при 2°. После двухкратную экстракцию фермента вели при перемешивании в течение 2,5 ч. Гомогенаты центрифугировали при $15000 \times g$ 15 мин. Ферментативную активность определяли в исходных гомогенатах, в надосадочной жидкости (растворимая фракция) и в осадке, ресуспендированном в том же буфере + ЭДТА.

Определение ферментативной активности вели по Ван-Пилсуму [10], с некоторыми видоизменениями: белок после окончания реакции осаждали добавлением аликвотного количества охлажденной 20%-ной ТХУ с последующим центрифугированием. Продукт реакции — ГУКА определяли методом Сакагучи в модификации Томлинсона [7]. Количество ГУКА находили по калибровочной кривой, построенной с помощью стандартного раствора, содержащего 0,01—1,0 мкмоль ГУКА/мл раствора.

Трансамидиназную активность выражали в мкмоль синтезированной ГУКА на 100 мг абсолютно сухих дрожжей и на 1 г сырой ткани.

Результаты и обсуждение. В табл. 1 представлены экспериментальные данные, полученные на 15 видах дрожжей.

Таблица 1. Трансамидиназная активность в дрожжевых микроорганизмах, мкмоль ГУКА на 100 мг абс. сух. дрожжей ($n=6$)

Объект	Исходный гомогенат	Растворимая фракция	Осадок
<i>Sacch. uini</i> (Кахури—7)	0.723 $\pm$ 0.024	0.845 $\pm$ 0.023	0.111 $\pm$ 0.011
<i>Sacch. oviformis</i>	3.683 $\pm$ 0.117	0.813 $\pm$ 0.054	2.426 $\pm$ 0.081
<i>Sacch. cerev.</i> (пекарск.)	3.329 $\pm$ 0.092	0.609 $\pm$ 0.022	0.427 $\pm$ 0.021
<i>Sacch. italicus</i>	0.216 $\pm$ 0.014	0.465 $\pm$ 0.021	0.144 $\pm$ 0.009
<i>Sacch. cerev.</i> Y—356	4.755 $\pm$ 0.106	2.361 $\pm$ 0.048	0.531 $\pm$ 0.019
<i>Sacch. cerev.</i> Y—438	2.326 $\pm$ 0.058	0.183 $\pm$ 0.008	0.163 $\pm$ 0.004
<i>Sacch. cerev.</i> Y—512	3.603 $\pm$ 0.085	1.153 $\pm$ 0.070	0.319 $\pm$ 0.021
<i>Sacch. cerev.</i> Y—524	0.630 $\pm$ 0.021	0.311 $\pm$ 0.011	0.259 $\pm$ 0.021
<i>Sacch. cerev.</i> Y—580	1.494 $\pm$ 0.074	0.632 $\pm$ 0.031	0.809 $\pm$ 0.039
<i>Sacch. cerev.</i> 2117 BY—47	1.875 $\pm$ 0.067	0.144 $\pm$ 0.013	0.474 $\pm$ 0.035
<i>Sacch. cerev.</i> 2118 Y—50	1.189 $\pm$ 0.027	0.607 $\pm$ 0.021	0.469 $\pm$ 0.019
<i>Sacch. cerev.</i> 2119 Y—52	2.303 $\pm$ 0.122	0.458 $\pm$ 0.038	0.416 $\pm$ 0.024
<i>Sacch. cerev.</i> 2120 Y—54	2.911 $\pm$ 0.037	1.329 $\pm$ 0.049	0.161 $\pm$ 0.025
<i>Sacch. cerev.</i> 2123 Y—63	4.419 $\pm$ 0.209	0.788 $\pm$ 0.111	0.393 $\pm$ 0.029
<i>Schizosacch. pombe</i> L.	2.411 $\pm$ 0.044	0.765 $\pm$ 0.060	0.147 $\pm$ 0

Обращает на себя внимание в первую очередь относительно невысокий выход фермента в растворимую фракцию. У всех испытываемых видов, за некоторым исключением, он составляет 0.4—0.8 мкмоль. Фактически полностью извлечен фермент из *Sacch. uini* (Кахури—7) и *Sacch. italicus*; половина исходной активности переведена в растворимую фракцию из *Sacch. cerev.* Y—356, Y—524, 2118 Y—50, 2120 Y—54, Y—580. Трудности разрушения клеточной стенки обусловили, вероятно, весьма невысокий выход фермента из *Sacch. oviformis*, *Sacch. cerevisiae* (пекарские), Y—433, 2117 Y—47, 2119 Y—52, 2123 Y—63, о чем свидетельствует и обнаруженная в осадке низкая активность фермента испытанных культур.

Большой интерес для последующего изучения физико-химических свойств дрожжевой трансамидиназы представляют культуры, отличающиеся относительно высоким выходом фермента в растворимую фракцию: *Sacch. cerev.* Y—356 (50% выхода), Y—54 (44%) и Y—512 (31%).

В табл. 2 представлена трансамидиназная активность плесневых грибов, водорослей, семян высших растений.

Следует выделить мицелиальную трансамидиназу красной хлебной плесени *N. crassa*, где активность довольно легко переподится в раство-

Таблица 2. Трансамидиназная активность в различных биологических объектах, мкмоль ГУКА на 1 г сырой ткани ($n=6$)

Объект	Исходный гомогенат	Растворимая фракция	Осадок
<i>Neurospora crassa</i> ВКМ F—184	8.629 $\pm$ 0.595	5.578 $\pm$ 0.637	2.753 $\pm$ 0.124
<i>Panus tigrinus</i>	24.780 $\pm$ 1.709	13.800 $\pm$ 1.641	4.480 $\pm$ 0.512
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	1.140 $\pm$ 0.101	2.807 $\pm$ 0.216	0.569 $\pm$ 0.029
<i>Aspergillus niger</i>	нет		
<i>Streptococcus faecalis</i>	нет		
<i>Candida chevalieri</i> *	0.497 $\pm$ 0.016	0.060 $\pm$ 0	0.144 $\pm$ 0
<i>Pisum sativum</i> (семена)	1.319 $\pm$ 0.039	1.914 $\pm$ 0.059	0.807 $\pm$ 0.068
<i>Medicago sativa</i> (семена)	8.936 $\pm$ 0.734	5.120 $\pm$ 0.115	1.116 $\pm$ 0.050
<i>Onobrychis altissima</i> (семена)	4.382 $\pm$ 1.226	1.141 $\pm$ 0.175	2.336 $\pm$ 0.089

*—мкмоль ГУКА на 100 мг абс. сух. дрожжей.

римую фракцию (до 65%) и является в этом плане удобным объектом исследований. Особо необходимо отметить трансамидиназу из мицелия гриба *P. tigrinus*. Столь высокую активность фермента мы обнаруживали лишь в почках крыс [2]. Высокий выход фермента в растворимую фракцию позволяет получить его в препаративных количествах и использовать для изучения физико-химических свойств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аманян Л. Г., Асатрян М. О., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 30, 10, 1977.
2. Мақташян Э. А., Жамгарян Г. Г., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 34, 11, 1119, 1981.
3. Borsook H. and Dubnoff J. W. JBC, 138, 389, 1941.
4. Friedrich B., Magasanik B. J. Bacteriol., 133, 686, 1978.
5. Grast E., Margri E., and Balboni G. Eur. J. Biochem., 60, 431, 1975.
6. Methfessel J. Acta Biol. Med. Germ., 35, 309, 1976.
7. Tomlinson G., Viswanatha T. Analit. Biochem., 60, 1, 15, 1973.
8. Uhlemann A. Biochem. Physiol. Pflanzen, 171, 33, 1977.
9. Van Pilsum J. F., Olsen B., Taylor D., Rozycki T. and Pierce J. C. Arch. Biochem. Biophys., 100, 520, 1963.
10. Van Pilsum J. F., Mc Culre D., Jowle H. Advances in Experimental Medicine and Biology, 153, 291, 1982.
11. Walker J. B. Proc. Soc. Exp. and Med., 98, 7, 1958.
12. Walker J. B. JBC, 231, 1, 1, 1958.
13. Walker J. B. and Walker M. S. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 191, 807, 1959.
14. Walker J. B. Federation Proc., 18, 346, 1959.

Поступило 29.V 1986 г.

Биолог. ж. Армении, т. 39, № 9, с. 806—811, 1986

УДК 576.851.252

О ПЕРЕНОСЕ *STREPTOCOCCUS BOVIS* ORLA—JENSEN И РОДСТВЕННЫХ ВИДОВ В РОД *VIRIDOCOCCUS* GEN. NOV. В СВЯЗИ С ИНВЕНТАРИЗАЦИЕЙ ФЛОРЫ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ СССР

С. Ш. ТЕР-КАЗАРЬЯН, П. С. ТЕР-СИМОНЯН

Ереванский зооветеринарный институт

Ключевые слова: инвентаризация бактериальной флоры, новый род стрептококковых *Viridococcus*.

В основу систематики видов стрептококков, принятых определителем Берги [9], положено подразделение рода на четыре группы [13], которые не имеют ни статуса систематических групп, ни названий. Нами было предложено придать этим группам ранг подрода [4, 5] с названиями *Enterococcus*, *Lactostreptococcus*, *Viridostreptococcus* (название подрода гиоеродных стрептококков оказалось незаконным). Однако в последнее время этим группам придают ранг рода—уже выделены роды энтерококков [11] и лактококков [12].

В секторе микробиологии в течение ряда лет исследуются вопросы видового состава молочнокислых бактерий («Новые виды м.-к. бактерий, описанные в СССР, в свете современных схем идентификации» [5],

«Материалы к определителю м.-к. бактерий СССР» [3]), латинской («Названия бактерий, опубликованные в СССР» [1], «Толковый словарь по номенклатуре бактерий» [4]) и русской («История и современное состояние отечественной номенклатуры по м.-к. бактериям» с «Кратким историческим русско-латинским словарем таксономических названий м.-к. бактерий» [2]) номенклатуры этой группы бактерий.

Группа зеленеющих стрептококков изучается в стране всего 50 лет [2]; в нашу задачу входило: выяснить, какие виды этих стрептококков обнаружены во флоре молочнокислых бактерий страны, соответствуют ли они по своим свойствам видам определителя Берги, какое значение имеют для технологии сыроделения, а также уточнить систематическое положение группы.

Материал и методика. При обобщении литературного материала придерживались схемы определителя Берги [9], в случае необходимости и при наличии данных проводили перендентификацию. При характеристике таксона подсчитывали процент штаммов, имеющих то или иное свойство.

Результаты и обсуждение. В таблице приведены виды зеленеющих стрептококков, обнаруженные во флоре молочнокислых бактерий СССР за последние полстолетия, количество штаммов. По группе в целом приведены такие свойства, как рост при 45 и 10°, pH 9,6 и 6,5% соли, восстановление 0,1% метиленовой сини и лакмуса в молоке, образова-

Частота встречаемости и свойства зеленеющих стрептококков бактериальной флоры СССР.

Группа зеленеющих стрептококков в целом

	n	45°	10°	метиленовая синь	лакмус	аммиак	α -гемолиз	pH 9,6	6,5% NaCl	40% желати- на	60°30 мин
в среднем	660	61	1	4	33	—	61	3	10	26	61

Отдельные виды

	n	серогруппа	50°	2% NaCl	лактоза	мальтоза	маннит	рафиноза	крахмал	инулин	образование поли- сахарида
<i>Str. thermophilus</i>	379	—	+	0	100	26	3	18	3	0	0
<i>Str. bovis</i>	242	D	0	100	69	99	43	79	48	100	5
<i>Str. salivarius</i>	4	K	—	+	+	+	—	+	—	+	+
<i>Str. equinus</i>	28	D	—	+	7	+	7	0	0	—	0
<i>Str. mitis</i>	7	K	—	+	+	+	—	—	—	—	—

Примечание. Приведен процент штаммов, имеющих данное свойство; знак «+» — означает наличие признака, знак «—» — отсутствие. Эти сведения заимствованы из зарубежного сводок в связи с отсутствием данных о соответствующих свойствах в статьях по флоре СССР.

ние аммиака из аргинина (пептона), альфа-гемолиз, выживание после прогревания при 60° в течение 30 мин. Для каждого вида приведены данные о серогруппе, росте при 50° и 2% соли, сбраживании лактозы, мальтозы, маннита, рафинозы, гидролизе крахмала и инулина, образо-

вании полисахарида (декстрана и левана). Данные, касающиеся указанных свойств и количества штаммов, приведены по [3]. Видно, что отечественный материал подтверждает характеристики видов, приведенные в [9]. Данные о количестве штаммов, идентифицированных как термофильный стрептококк, по-видимому, занижены, так как рост при 50° не определялся, в связи с чем самым распространенным видом зеленеющих стрептококков оказался бычий стрептококк. В бактериальной флоре Армении из зеленеющих стрептококков нами обнаружен только бычий стрептококк. Исследование его физиологических свойств [7], способность накапливать ароматические вещества [6], технологических свойств [8] позволило рекомендовать его для широкого использования в заквасках для молочных продуктов [8]. Штамм бычьего стрептококка 577 используется в закваске для сыра «армянский», технология которого разработана проблемной лабораторией ЕрЗВН. Необходимо уточнение систематического положения группы, тем более что она, как оказалось, имеет народнохозяйственное значение. Ниже приводится описание группы в номенклатурном статусе рода и видов, входящих в систему определителя [9].

Ключ к роду *Viridococcus*

Род относится к семейству *Streptococcaceae*, выделяется из рода *Streptococcus* как группа зеленеющих стрептококков по критериям Шермена: к новому роду относятся штаммы, не растущие при 10°, растущие при 45° (за исключением *V. mitis*), не растущие в бульоне с 6,5% NaCl, при pH 9,6 и в молоке с 0,1% метиленовой сини, не образующие (за тем же исключением) аммиак из аргинина, не бета-гемолитические.

1. Не растут на кровяном агаре с 40% желчи, сбраживают лактозу.
 - а. Образуют большие слизистые колонии на агаре с 5% сахарозы, сбраживают рафинозу.

Viridococcus salivarius.

- аа. Сбраживают мальтозу, салицин, эскулин. Серогруппа К.

V. salivarius subsp. *salivarius*.

- бб. Не сбраживают мальтозу, салицин, эскулин. Не серотипируются.

V. salivarius subsp. *thermophilus*.

- б. Не образуют слизистых колоний на агаре с 5% сахарозы, не сбраживают рафинозу. Серогруппа К.

Viridococcus mitis.

2. Растут на кровяном агаре с 40% желчи.
 - а. Не сбраживают лактозу. Относятся к серогруппе D.

Viridococcus equinus.

- б. Сбраживают лактозу.

- аа. Сбраживают рибозу и меллицитозу. Нет усиления роста при 5% CO₂ в атмосфере. Не серотипируются.

Viridococcus cecorum.

- бб. Не сбраживают рибозу и меллицитозу. Усиление роста при 5% CO₂ в атмосфере. Серогруппа D.

Viridococcus bovis.

Viridococcus gen. nov. Описание рода (оставлено по [9—10, 14—16]). Лат. *viridis* зеленый, гр. *coccus* зерно, ягода *Viridococcus* зеленый кокк (по образованию ими зеленого пигмента биливердина при гемолизе). Клетки от сферических до овальных, 0,6—1,3 мкм в диаметре, встречаются в парах, коротких и длинных цепочках, при росте в жидкой среде. В серогруппе D крайне редки подвижные и пигментированные штаммы. Грамположительные, неспорообразующие. Хемоорганотрофы: метаболизм бродильный. Преобладающий конечный продукт при сбраживании глюкозы—правовращающая молочная кислота (гомоферментативный тип брожения). Тест на ацетон положительный. Пленка никогда не образуется на поверхности жидких культур. Не содержат гема. Бензидиновый тест отрицательный, тест на каталазу также отрицателен. Факультативные анаэробы. Кислород или другие акцепторы водорода могут изменить конечные продукты углеводного обмена. В присутствии кислорода могут образовывать H_2O_2 . Минимальные пищевые потребности обычно сложны (хотя и варьируют) и могут включать аминокислоты, пурины, пиримидины, пептиды, витамины и иногда жирные кислоты и повышенное парциальное давление CO_2 . В противоположность этому штаммы одного вида (*V. bovis*) могут нуждаться для роста только в аммиаке, глюкозе и неорганических солях. Температурный оптимум около 40°, у *V. salivarius* subsp. *thermophilus* 40—45°. Кроме терофильного стрептококка, не выдерживают прогревания при 65° в течение 30 минут. Не растут при pH 9,6 и 6,5‰ соли, не растут при 10°, растут (за исключением *V. mitis*) при 45°, не образуют аммиак из аргинина (за тем же исключением), большей частью не восстанавливают молоко с 0,1% метиленовой сини. Относятся к серогруппам D или K или серологически не типизируются. Содержание Г+Ц к ДНК 37—45 моль%. Снизи в пептидогликане типа лиз-тир-ала или лиз-ала. В состав клеточной стенки могут входить галактоза, галактозамин, глюкоза, глюкозамин, рамноза. Местообитание: пищеварительный тракт человека и животных, молочные продукты. Типовой вид *V. equinus*.

Viridococcus salivarius n. comb. n. sp. (базоним *Streptococcus salivarius* Pasteur et Holder). Описание вида по [9, 14—16]. Лат. *salivarius* слюнная. Сферические или овальные клетки 0,8—1,0 мкм в диаметре, длина цепочек может варьировать от коротких до очень длинных. Встречаются гладкие и шероховатые типы колоний. Относятся к серогруппе K. Конечное pH в глюкозном бульоне 4,0—4,4. Кислота из глюкозы, сахарозы, мальтозы, лактозы, рафинозы, салицина, эскулина, могут сбраживать трегалозу, расщеплять инулин и крахмал. Нет кислоты из глицерина, маннита, сорбита, ксилозы, арабинозы, рибозы, гипурата, гликогена. На агаре с сахарозой большинство штаммов продуцирует растворимый леван, что проявляется в образовании больших слизистых колоний. Колонии на сахарозном агаре могут варьировать от «гладких» до «шероховатых» в зависимости от соотношения синтезируемых полисахаридов—левана и декстрана. Отмечена активность ариламидазы лейцина, бета-галактозидазы, непостоянно—уреазы, не

обнаружены бета-галактуронидаза, щелочная фосфатаза, альфа-галактозидаза, пирролидонилариламидаза. Большинство штаммов вызывают гамма-реакцию на кровяном агаре, иногда—альфа-реакцию. Растут при 45, но не при 47°. Содержание Г+Ц в ДНК 41–45 моль%. Основные жирные кислоты клеток $C_{15:0}$, $C_{18:1}$, $C_{20:1}$. Тип пептидогликана: лиз-ала₁. В состав клеточных стенок входят галактоза, глюкоза, глюкозамин, рамноза. Местообитание: язык, слюна и кал человека. Типовой штамм: ATCC 7073.

Viridococcus cecorum n. comb., n. sp. (базоним *Streptococcus cecorum* Derviese et al. 1933). Описание—в [15]. Тип. штамм NCD 2674.

Viridococcus salivarius subsp. thermophilus comb. n., subsp. n. (базоним *Streptococcus salivarius* subsp. thermophilus Farrow et Collins 1934). Описание—в [10]. Типовой штамм NCD 573.

Viridococcus mitis n. comb., n. sp. (базоним *Streptococcus mitis* Andrewes et Horder, 1906). Описание по [9–10, 16]. Лат. *mitis* неактивный. Сферические или эллипсоидные клетки 0,6–0,8 мкм в диаметре. В бульонной культуре—длинные цепочки. Гладкие и шероховатые колонии с реверсней от шероховатых к гладким при пересевах в бульоне. Серогруппа К. Конечный pH в бульоне 4,2–5,8. Кислота из глюкозы, мальтозы, сахарозы, целлобиозы, рибозы, эскулина и обычно из лактозы и салицина, иногда—из рафинозы и трегалозы. Нет кислоты из инулина, маннита, сорбита, глицерина, арабинозы и ксилозы. Редко образуют типичные слизистые колонии на агаре с сахарозой. Иногда окисляет масляную кислоту с накоплением в среде H_2O_2 . На кровяном агаре—выраженная альфа-реакция. Растут или не растут при 45°. Содержание Г+Ц в ДНК 38–40 моль%. Основные жирные кислоты клетки $C_{16:0}$, $C_{17:1}$, $C_{18:0}$. Тип пептидогликана лиз-ала₁-2. В состав клеточной стенки входят галактоза, галактозамин, глюкозамин, рамноза. Местообитание: слюна, мокрота и кал человека. Типовой штамм: NCTC 3165.

Viridococcus equinus n. comb., n. comb., n. sp. (базоним *Streptococcus equinus* Andrewes et Horder 1906). Описание—в [9]. Тип. штамм ATCC 9812.

Viridococcus bovis comb. n., n. sp. (базоним *Streptococcus bovis* Orla-Jensen 1919 emend. Sherman 1937). Описание по [9, 14–16, 7]. Лат. *bovis* бык, р. лат. *bovis* быка, бычий. Сферические или овальные клетки 0,8–1,0 мкм в диаметре, в парах, цепочках умеренной длины и иногда в длинных цепочках. Большие капсулы, окружающие клетки, определяют серологическую специфичность, как и клеточные стенки. Серогруппа D. Конечное pH в бульоне с глюкозой 4,0–4,5. Кислота из глюкозы, фруктозы, маннозы, лактозы, галактозы, мальтозы, сахарозы, рафинозы, целлобиозы, салицина, эскулина. Сбраживание арабинозы, ксилозы, маннита, сорбита, трегалозы, мелибиозы, инулина, гликогена вариабельно. Нет кислоты из глицерина, гиппурата, рибозы, меллицитозы, адонита, d- и l-арабита, глюконата, 2- и 5-кетоглюконата, ксилита, ликсозы, альфа-метил-d-маннозида, альфа-метил-d-глюкозида, рамнозы, d-туранозы, тагатозы, сорбозы. Крахмал обычно гидро-

лизуются и сбраживаются с образованием кислоты. Большие количества полисахарида образуются в бульоне с сахарозой. При культивировании на агаре с сахарозой при увеличенном давлении CO_2 большинство штаммов образует значительное количество декстрана. На кровяном агаре большинство штаммов образует маленькие колонии с альфа-реакцией, иногда с гамма-реакцией. Среди видов рода, этот вид имеет самые простые потребности: соли аммония использует как единственный источник азота, биотин или олеат требуются для роста и образования декстрана. Обнаружена активность альфа-галактозидазы, ариламидазы лейцина, иногда—бета-глюкуронидазы, бета-галактозидазы. Не обнаружены декарбоксилаза аргинина, дигидролаза аргинина, пирролидон-ариламидаза, щелочная фосфатаза. Содержание Г+Ц в ДНК 38—45 моль%. Тип пептидогликана: лиз-тир-ала. В состав клеточной стенки входят галактоза, глюкоза, глюкозамин, рамноза. В отличие от *V. equinus*, CO_2 в атмосфере (5%) при pH 5,0 ингибирует рост. Местообитание: пищеварительный тракт коров, овец и других жвачных, иногда встречается в больших количествах в кале человека. Типовой штамм: NCDO 597.

ЛИТЕРАТУРА

1. Одобренные списки названий бактерий. Факсим. изд. Подгот. С. Ш. Тер-Казарьян. Ереван, 13—32, 1982.
2. Тер-Казарьян С. Ш. Биолог. ж. Армении, 25, 8, 98, 1972.
3. Тер-Казарьян С. Ш. В кн.: Проект международного кодекса номенклатуры бактерий. Ереван, 157—198, 1974.
4. Тер-Казарьян С. Ш. В кн.: Проект международного кодекса номенклатуры бактерий. Ереван, 97—149, 1974.
5. Тер-Казарьян С. Ш. Науч. докл. высш. шк. Биол. науки, 3, 82—88, 1975.
6. Тер-Казарьян С. Ш., Сагоян А. С., Туманян В. А. Биолог. ж. Армении, 19, 3, 20—24, 1966.
7. Тер-Казарьян С. Ш., Тер-Симонян П. С. ДАН АН АрмССР, 43, 4, 241—245, 1966.
8. Диланян Э. Х., Тер-Казарьян С. Ш., Вегалетян К. В. Изв. ВУЗов. Инж. технол., 1, 95—98, 1969.
9. Delbel R. H., Seeley H. M. In: Bergey's manual of determinative bacteriology 8th ed. Baltimore 490—516, 1974.
10. Farow J. A. E., Collins M. D. J. gen. microbiol., 139, 357—362, 1984.
11. Schleifer K. H., Kipper—Ediz R. IJSB, 34, 1, 31—34, 1984.
12. Schleifer K. H., Klaus J., Dvorak C., Kipper—Ediz R., Collins M. D., Fischer W. Syst. appl. microbiol., 6, 183—195, 1985.
13. Sherman J. M. Bact. rev., 1, 3—97, 1937.
14. Coykendall A. L., Gustafson K. B. IJSB, 35, 3, 274—280, 1985.
15. Darviese L. A. et al. IJSB, 33, 4, 772—776, 1983.
16. Kntghs R. G., Shalans D. M. IJSB, 35, 3, 357—361, 1985.

Поступило 29.V 1986 г.

Биолог. ж. Армении, т. 39, № 9, с. 812, 1986

УДК 632.95:575.2.24:502.719

УЧЕТ САМОПРОИЗВОЛЬНЫХ АБОРТОВ МЕТОДОМ ИНТЕРВЬЮ НА ХИМИЧЕСКОМ ПРОИЗВОДСТВЕ

Г. С. ШИРНИЯН, Э. Р. ГУМАНИН, Р. М. АРУТЮНЯН

Ереванский государственный университет, проблемная лаборатория цитогенетики

Исследована частота самопроизвольных аборт (СА) у работниц (лаборатория), а также жен работников производства хлоропренового каучука и жидкого хлора. Сбор необходимых данных о частоте СА проводился методом опроса по специально разработанной анкете. Все исследованные лица группировались в зависимости от того, кто из супругов занят в производственном процессе, места работы и стажа. Сравнение результатов проведено при близком среднем возрастном составе исследованных групп.

Установлено, что у работниц производства хлоропренового каучука частота СА выше, чем на контрольном нехимическом производстве. Среди жен работников и работниц, занятых на производстве хлоропренового каучука, уровни частот СА также выше, чем в контроле.

В группе жен работников производства жидкого хлора при сравнении с группой внутреннего контроля (с того же предприятия) и контрольным производством достоверных различий не выявлено.

Таким образом, при изучении действия химических производственных загрязнителей учет СА дает дополнительную информацию, не противоречащую данным, полученным с применением других методов исследования.

4 с., библиогр. 8 назв.

Поступило 14.V 1985 г

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИ, 5732—В86 от 12.VIII 1986 г.

Биолог. ж. Армении, т. 39, № 9, с. 812—813, 1986

УДК 616.61

О МНОЖЕСТВЕННОМ ЭХИНОКОККОЗЕ ЛЕГКИХ И СЕРДЦА Ф. С. ДРАМПЯН

Ереванский государственный медицинский институт, кафедра профилактики внутренних болезней

Прижизненная диагностика как первичного, так и вторичного эхинококкоза сердца нередко представляет значительные трудности, что объясняется сравнительной редкостью этого заболевания. При постановке диагноза эхинококкоза сердца важное значение имеет наличие эхинококковых кист в других органах, а также положительной реак-

ции Касоны, серологической реакции непрямо́й гемагглютинации и эозинофилии в периферической крови.

Установлено, что дифференциальный диагноз (эхинококкоз сердца—ревматическое поражение клапанного аппарата) представляет большие трудности. Описанный симптомокомплекс с приступами, резким цианозом и кратковременным обмороком связан с обструкцией клапанных отверстий эхинококковыми мелкопузырчатыми массами.

Уменьшение звучности тонов, появление шумов, изменение границ сердца наводит на мысль о поражении клапанного аппарата сердца. Отсутствие ревматического анамнеза, наличие обмороков, эхинококкоза легких, неэффективность антиревматической терапии подтверждают наличие эхинококкоза левого желудочка сердца, что подтвердилось на секции.

Большую помощь при дифференциальном диагнозе может сказать анамнез, параклинические методы исследования (эхокардиография, коронарная ангиография).

5 с., библиогр. 1 назв.

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИ, 5121—В86 от 15.VIII 1986 г.

Поступило 28.V 1986 г.

Бiolог. ж. Армении, т. 39, № 9, с. 813—814, 1986

УДК 581.192

ДИНАМИКА АЗОТСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ В КОРНЯХ ТОМАТА

А. Г. АВАКЯН, Е. О. ТАРОСОВА, А. Х. АГАДЖАНИН, С. В. АВЕТИСЯН

Республиканская селекционно-семеноводческая станция овощных и бахчевых культур Госагропрома Армянской ССР

Корневая система растений синтезирует ряд органических веществ, среди которых особый интерес представляют азотсодержащие соединения. Характер их накопления может свидетельствовать о направленности физиолого-биохимических процессов и вскрыть некоторые стороны метаболизма азота.

Исследование азотсодержащих соединений корневой системы томата заслуживает определенного внимания, так как позволяет определить их физиологическую роль как в период плодоношения растений, так и в связи с сортовыми особенностями.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что содержание различных форм азота в фазе плодоношения непостоянно. Отмечено изменение состава и содержания аминокислот. Наибольшее содержание аминокислот в обеих фракциях отмечалось в конце плодоношения (IV), что объясняется старением растений, когда процессы распада белков превалируют над их синтезом. Затем и при массовом плодоношении, когда в основном заканчивается рост вегетативных органов и наступает массовая отдача урожая, в связи с чем усиливается метаболическая деятельность корневой системы, в частности синтез аминокислот. Наименьшее их количество приходилось на периоды технической зре-

лости (I) и созревания плодов (II), что, вероятно, объясняется расхождением их на рост вегетативных органов растений и массовое формирование плодов.

Следовательно, существует взаимосвязь между синтезом и содержанием азотсодержащих соединений в корнях и периодом созревания плодов.

14 с., илл. 4, библиогр. 5 назв.

Поступило 18.VI 1986 г.

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИИ, 5730—В86 от 12.VIII 1986 г.

Биолог. ж. Армении, т. 39, № 9, с. 811—815, 1986

УДК 633.2./3.03:631.82

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ МИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ НА УРОЖАЙНОСТЬ И ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ПРИРОДНОГО СЕНОКОСА

Л. А. ГРИГОРЯН, В. А. ПЕТРОСЯН, В. Н. СУХОВА-ПЕТРОСЯН,
Е. К. ЧИЛИНГАРЯН

НИИ животноводства и кормопроизводства Госагропрома Армянской ССР

Изучали влияние длительного внесения минеральных удобрений на урожайность, ботанический и химический состав, содержание аминокислот в травостое природного злаково-разнотравного сенокоса, а также химический состав почвы.

Установлено, что минеральные удобрения влияют на урожай злаково-разнотравного сенокоса. Так, урожай сена в среднем за 15 лет составлял в контрольном варианте 18,4 ц/га, при применении только фосфорно-калийного удобрения (по 60 кг/га действующего вещества каждого элемента)—36,2 ц/га, а при внесении разных сочетаний азота—46,9—71,3 ц/га. С увеличением дозы азота урожай увеличивается: при 60 кг/га—56,3 ц/га, а при 120 кг/га (на фоне фосфорно-калийных удобрений, по 60 кг каждого элемента)—71,3 ц/га. Прибавка при этом составляла 50,8 ц/га.

Минеральные удобрения оказывают влияние также на агрохимический состав почвы природного сенокоса.

Ежегодное внесение удобрений способствовало повышению содержания гумуса с 12,6 (в неудобренном варианте) до 14,2% при применении $N_{120}P_{60}K_{60}$.

Изменяется и ботанический состав травостоя. Фосфорно-калийные удобрения вызывают повышение содержания бобовых за счет сокращения злаков и разнотравья. При применении азота количество злаков увеличивается с 77 до 91% за счет сокращения разнотравья и бобовых. Выявлены также изменения в химическом составе. Содержание сырого протеина увеличивается с 9,7 до 13,2%, фосфора с 0,2 до 0,56%, кальция с 1,27 до 1,53%, калия с 1,33 до 1,75% от абсолютно сухого вещества (в среднем за 3 года).

Изучение аминокислотного состава выявило наличие в травостое 15 аминокислот, сумма которых в контрольном варианте составляла 3,2%; внесение различных сочетаний удобрений привело к повышению содержания как отдельных аминокислот, так и их суммы.

На природный злаково-разнотравный сенокос наиболее эффективно действует внесение полного минерального удобрения $N_{120}P_{40}K_{60}$, которое улучшает как состав травостоя, так и его урожайность.

10 с., табл. 2, библиогр. 6 назв.

Поступило 16.VII 1986 г.

Полный текст статьи депонирован в ВИНИТИ, 5120—В86 от 15.VIII 1986 г.

Биолог, ж. Армения, т. 39, № 9, с. 815—816, 1986

УДК 616—006.577 (07).541.13

К ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИМ, СТРУКТУРНЫМ И СИСТЕМНЫМ ОСНОВАМ РАКОВОГО СОСТОЯНИЯ КЛЕТКИ И ОПУХОЛЕОБРАЗОВАНИЯ

Д. Б. ДАВИДЯН

Институт механики АН Армянской ССР, Ереван

На примере биологических мембран анализируется молекулярный остов двойного электрического слоя (ДС). По признакам — дыхание — гликолиз; катионселективность — анионселективность; радиопрозрачность — радиопоглощение; золь — гель; кислотность — основность; маркерные ферменты; адсорбируемость ферментов, рибосом, полисахаридов; гладкий и шероховатый эндоплазматический ретикулумы; ионный состав; транспорт веществ; осмос; красители и т. д. — выявляются три типа заряженного состояния мембран. Отрицательно заряженные (нормальные клетки), положительно заряженные (раковые клетки; различные полярные клетки и др.; микобактерии туберкулеза, молочнокислые бактерии, дрожжи и т. д.; временно — при нервном импульсе, мышечном сокращении, в энергетических процессах митохондрий; при аутолизе), разнозаряженное (эритроциты). Разнозаряженность на более сложном уровне характерна и для эпителиальных клеток, у которых апикальная мембрана заряжена положительно, а базолатеральная — отрицательно.

Основной признак раковых клеток — распространение апикальной мембраны на всю клетку. Источником злокачественных клеток являются пересаживаемые клетки, а доброкачественных — секретирующие.

Предложенная модель остова ДС в виде разнополярных молекул ранее не рассматривалась, хотя уже давно экспериментально выявлена в биологических мембранах (липид — протени), противоречит установленным, но экспериментально не доказанным представлениям о ДС (Гун, Штерн) и подтверждается уже накопленными экспериментальными фактами; разрешает ряд фундаментальных противоречий электрохимии и показывает, что движения электричества в растворах в виде свободных зарядов нет, а есть движение активированных веществ.

Предлагается и доказывается фактами из онкологии приспособительная гипотеза неоплазм. Показано, что злокачественные новообразования, связанные с полезной для организма приспособительной реакцией эпителиальных клеток на нарушение покровных функций эпителия, вызывающего биохимический сдвиг внутренней среды, продлевают жизнь организма, и стратегия борьбы против образовавшихся неоплазм с учетом хотя и редких, но имеющих место самоизлечений, должна заключаться не в уничтожении опухоли, а в нахождении канала проникновения внешней среды в лимфатическую систему и восстановлении эпителия или хотя бы механическом перекрытии его.

29 с., илл. 2, библиогр. 58 назв.

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИ, 5729—В86 от 12.VIII 1986 г.

Поступило 13.V 1986 г.

С. С. МУСЯШИКОВА, М. С. СИНЯЯ, О. Г. БАКЛАВАДЖЯН «Висцеро-соматически дифференциальные системы гипоталамуса». М., изд. «Наука», 1985 г., 312 с.

Большие достижения в области физиологии висцеральных систем были достигнуты при создании подробных карт представительства инteroцептивного анализатора на всех уровнях ЦНС. Можно считать, что к настоящему времени достаточно полно изучены все основные звенья нервной системы, принимающие участие в регуляции внутренних органов. Следует, однако, отметить, что данные о представительстве висцеральных систем в гипоталамусе в настоящее время недостаточно многочисленны и подчас просто противоречивы. В связи с этим монографию О. Г. Баглаваджяна, посвященную первому капитальному обобщению данных, касающихся висцерального представительства в различных ядрах гипоталамуса, следует признать своевременной и актуальной.

В монографии проведен тонкий анализ висцеро-соматического взаимодействия на нейронах гипоталамуса. Интересна и вполне логична структура монографии. Она открывается главой, охватывающей данные о современном состоянии вопроса о структурно-функциональной организации висцеральных афферентных систем в целом, включает общую характеристику периферического отдела висцерального анализатора, а также анализ центрального представительства висцеральных систем.

Особенности структурно-функциональной основы афферентной организации гипоталамуса рассмотрены в главе второй. В ней подробно и обстоятельно освещены не только морфофункциональные организации различных структур гипоталамуса, но и достаточно широко обсуждены вопросы, связанные с широким представительством сенсорных систем гипоталамуса—соматической, зрительной, слуховой и обонятельной. Третья, четвертая и пятая главы посвящены решению вопроса о представительстве основных проводников висцеральных внутренних органов в гипоталамусе. Большое впечатление оставляет тщательность, с которой автор относится к разработке поставленных задач, не пользуясь анализ не только суммарных биоэлектрических реакции, но и нейронных реакций в различных ядрах гипоталамуса на стимуляцию основных коллекторов, несущих информацию о работе внутренних органов. Результаты исследований показали, что фокусы максимальной активности сенсорных систем блуждающего, чревного и тазового нервов локализованы в области заднего гипоталамуса. Важным представляется заключение о том, что область заднего гипоталамуса, будучи фокусом максимальной реакции, является и фокусом максимального афферентного входа. Таким образом, автор делает вывод о том, что принципиальная организация афферентных структур гипоталамуса сходна с той, которая наблюдалась при изучении его афферентных структур.

Представляют интерес результаты, полученные при изучении конвергенции висцеральных и соматических афферентных сигналов в различных ядрах гипоталамуса. Так, показано, что нейроны гипоталамуса проявляют высокую реактивность не только к висцеральной, но и соматической афферентации. Таким образом, автор убеждает нас в том, что гипоталамус является структурой интеграции висцеро-соматических компонентов сложных поведенческих реакций. Автор выявляет черты сходства и различия этих взаимоотношений в гипоталамусе, тем самым подтверждая общие закономерности поведения кожно-мышечной и висцеральной афферентной систем, изученных академиком В. Н. Черинговским и его учениками (1967—1980).

Особый интерес представляют результаты анализа длительных воздействий на афферентные системы гипоталамуса—феномен привыкания. Автор указывает на возможность быстрого угасания ответов нейронов гипоталамуса и высказывает предположение о включении различных его структур в процесс привыкания, который, как известно, в висцеральных системах приобретает особую значимость.

К значительным положениям, высказанным в книге, можно отнести выводы и гипотезы, касающиеся включения гипоталамуса в процесс регуляции вегетативными функциями организма.

В заключительной части монографии подробно и четко изложены собственные взгляды автора на особую роль гипоталамуса, заключающуюся в его постоянном участии в управлении работой внутренних органов. Эта регуляция, как убедительно доказано в работе, осуществляется многообразными афферентными влияниями, поступающими в гипоталамус по основным первичным проводникам, которые включены в черепные, блуждающие и тазовые нервы. Именно эти афферентные нервы обеспечивают непрерывное корректирующее и пусковое воздействие гипоталамуса на вегетативные функции. Известно, что корректирующие влияния адаптивного характера формируются в основном в коре больших полушарий и гипоталамические структуры—одни из подкорковых каналов их передачи. Можно считать, что пусковые влияния осуществляются через гипоталамо-висцеральную рефлекторную дугу с участием ее мощного интропитивного афферентного звена, что и является основным выводом представленной работы.

В заключение еще раз необходимо отметить, что характерной чертой монографии является актуальность разрешаемых задач, современность и адекватность методов, логичность изложения и доводов, обоснованность выводов и заключений, высокое качество многочисленного иллюстративного материала. Можно не сомневаться, что полученные данные и их тщательный анализ во многих отношениях являются новыми и оригинальными.

Монография несомненно будет полезна и достойно встречена специалистами, работающими в области нейрофизиологии. Она внесет весомый вклад в решение проблем, касающихся физиологии висцеральных систем.

