



ISSN 0366-5119

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

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆՐԵՍ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ АРМЕНИИ
BIOLOGICAL JOURNAL OF ARMENIA

Журнал издается с 1948 г., выходит 4 раза в год
на армянском и русском языках
Издается в Ереване

ԱՄԵՐԻԿԱՆԱՆ ԱՐԴԱՆԱՅ ԲԵՐՈՒՄԸ—ՈՍԿԱՆԱՅ ԱՐԴԱՆ, ՆԱԾԱՆՈՒՄԸ ՈՒՄ ԲԱՐՈՒՄԸ ԵՐԵՎԱՆԻ ԱՎԱԶՆԱԳՐԱՅ ԼՈՂՈՐԴ Ե ՍՈՂՈՐԴՈՒՄ Լ ՈՂՈՎԱԾՆԵՐ ԿԱՍԱՐԱՆԱՅՐԱՆ, ԿՆԵՂԱՆԱՐԱՆԱՅՐԱՆ, ՖԻԼՈՍՈՓԻԱՅԻՆ, ԿԼԵՄԵՆՏԻՆՍԿԻՆ, ԿԼԵՄԵՆՏԻՆՍԿԻՆ, ԿԼԵՄԵՆՏԻՆՍԿԻՆ, ՎԱՆԵԿԱՐԱՆԱՅՐԱՆ, ՂԵՆԻՄԻԿԱՅԻՆ Ե ԴՆԴՄԱՆՈՒ ԵՒ ԿԻՐԱՍՏԻՆԸ ԿԼԵՄԱՐԱՆԱՅՐԱՆ ԱՅԻ ԲՆԱԿԱՎԱԾՆԵՐԻ ՎԵՐԱԲԵՐՈՒՄ:

«Биологический журнал Армении» — научный журнал, издаваемый Национальной академией наук Армении, публикует оригинальные статьи по ботанике, зоологии, физике, химии, биофизике, микробиологии, генетике и другим отраслям общей и прикладной биологии.

ԽՈՒՄԱԳՐԱԿԱՆ ԴՈՒՆԵՐ՝ Լ. Գ. ԱՅԵՐԿԻՆԵ (ՀԱՅԽԱՐԺ ԽԱՐԱԳՈՐԻ), Ս. Մ. ԱՅԿԵՐԱՆ, Կ. Ն. ԱՂԵՍԻՍԿԱՆ, ՏՈՒ. Բ. ԱՂԵՐԱՆՅԱՆ, Լ. Գ. ԲԱՅԻՍԺԱՅԿԱՆ, Մ. Ա. ԴԱԿԻՅԱՆ, Ժ. Ժ. ՀԱԿՈՒՅԱՆ, Ն. Ս. ՀԱՐՈՒՆԻՅԱՆ (ԴԱՄԱՍՏԻԱՆԱՅԱԿՈՒ ԶԱՐԻՄԱՅԵՐ), ԻՆ. Ս. ՀԱՐԱՅԻՐԵՅԱՆ, Կ. Հ. ՂԱԳԱՐՅԱՆ, Ս. Ա. ՂԱՆԴՅԱՆ, Կ. Գ. ԴԱՐԱՊԵՏԻԱՆ, Ա. Մ. ՄՈՒՍԻՅԱՆ (ՀԱՄԱՐԺ ԽԱՐԱԳՈՐԻ ՄԵՐԱԿԱՅԻ),

Միջոցառման խաղաղության, Գ. Աֆրիկյան (նախագահ), Վ. Ե. Աղաբաբյան, Հ. Ս. Գաբրիելյան, Ա. Ա. Գալստյան, Ա. Լ. Դախառյան, Պ. Ա. Խորշակյան, Մ. Գ. Հովհաննիսյան, Հ. Լ. Հովհաննիսյան, Կ. Ս. Պողոսյան:

Редакционная коллегия: Э. К. Африкян (главный редактор), Ц. М. Аветян, В. Е. Аветисян, Ж. Н. Аконян, Ю. Т. Алексакян, Е. С. Арутюнян (ответственный секретарь), Р. М. Арутюнян, О. Г. Бакараджян, Н. А. Гандилия, М. А. Данян, В. О. Казарян, К. Г. Карапетян, С. О. Монасегян (заместитель главного редактора).

Ученые-исследователи: Э. К. Африкян (председатель), В. Ш. Агабабян, Э. Н. Габри-
елян, А. А. Галоян, М. Г. Оганесян, Л. Л. Осиная, К. К. Шагосян, А. Л. Тихтаджян,
И. А. Хуршудян.

Сдано в набор 11.03.94 г. Подписано к печати 11.01.95 г.

Печ. лист. 4,25 Усл. печ. лист. 5,95

Учеш.-изд. 5,9. Тираж 200. Заказ 29. Издат. Ц. 40 др.

Адрес редакции: 375019, Ереван, пр. Маршала Баграмяна, 24-г, комн. 11, тел. 58-01-97,
Издательство Национальной академии наук Армении, Ереван,
пр. Маршала Баграмяна, 24-г,
Типография Издательства НАН Армении, Ереван 19,
пр. Маршала Баграмяна, 24.

Ք Ո Վ Ա Ն Կ Ա Կ Ո Ւ Թ Ո Ւ Ն

Մանուկյան Մ. Մ., Գուկովկե Վ. Ի., Միքայելով Կ., Յամամուտա Տ., Աֆրիկյան Է. Կ., Կաթ- նաթթվի ստացումը օսյա պարունակող հումքից մանրէաբանական եղանակով .	3
Հովհաննիսյան Ս. Ս., Ալամալյան Ա. Կ., Սալիսյան Մ. Ա., Կենսաբույժական աղբյուրների թույնազերծման միջոցառումների բնութագրի մասին	9
Ներսեսյան Է. Ս., Վազարյան Մ. Գ., Մելիքյան Գ. Ս., Մկրտչյան Ս. Ս., Ջառաֆ- յան Ի. Մ., Պապյան Է. Գ., Վստյան Ս. Ա., Հակոբյան Տ. Ի., Ուկրաինայի թրեյդինգ թույնազերծման ազդեցությունը առևտրի մի շարք օբյեկտների և մարդու աշխատանքի չինոսի կրեմլյան կենտրոնի, պարենային և արհեստագործական աշխատանքի ֆերմայի ու արհեստատեղիների տնտեսական ակտիվության վրա	13
Սելիմյան Լ. Գ., Կարապետյան Կ. Կ., Ասմանցյան Տ. Ա. Քանադայի պետության գոր- ծառնի զանազան տնտեսության բնագավառների մասին համառոտագրող աշխատանք- ատեսակագրության առաջադեպ հիմնական հարցերի մի քանի առաջադեպ (թույն տեսակետներ)	19
Մելիքյան Մ. Մ., Մելիք-Աղաճ Ե. Ա. Բարձր աղմուկի պայմաններում աշխատող կա- նաչառ մոտ լիպիդների զերծացումը ալոցիտինի և հակաօքսիդանտային ալ- տիվատիվների տրամաբան	23
Համբարյան Ռ. Ա., Բաբյան Ի. Գ., Պետրոսյան Ռ. Ս., Գրիգորյան Է. Կ. Ռեթ-ի պրե- պարատի հիմնական գործունեությունը	28
Վասիլյան Ա. Վ., Սիմոնյան Ե. Ս., Տրեյնյան Ա. Ա. Կենսական ԷԼԻ համակարգի ակտիվությունը առաջին պայմաններում առաջին սուբստրատային Է. ՀԵԼԻ-ի մոլեկուլների մոտ	32
Ուզնեյան Կ. Լ., Տրապեզով Վ. Ա., Գրեյսոնի Մ. Կ. Կոնցյան պրոցեսի պատգանդի քիմիկ ակադեմիայի մասին	37

ՀԱՄԱՌՈՏ ՀԱՂՈՐԴՈՒՄՆԵՐ

Մելիք-Աղաճ Ե. Ա. Ներապատի աղտոտվածության բնութագրի ըստ ընդհան- րացման	42
Սալիսյան Է. Ս., Համբարյան Ե. Ս., Գրեյսոնի Մ. Կ. Կենսական և արհեստական աղբյուրների ազդե- ցությունը Հայաստանի հանրապետության գյուղական բնակչության առողջության վիճակի վրա	44
Համբարյան Ա. Ե., Պապյան Գ. Ա., Մաղիկյան Ա. Ռ., Փանոսյան Կ. Ա. Միջուկային համակարգի ինքնակամ համակարգում առևտրի պայմաններում 173 (ս- տորագրի և հիդրոկորտիկոնի ազդեցությունը	48
Ուզնեյան Կ. Լ., Որոշ առևտրի առևտրային տնտեսության մասին օբյեկտի վրա մե- տաղների ազդեցության վերաբերյալ	50
Սալիսյան Գ. Կ. Ռեկոնստրուկցիան և զերծացումը համառոտագրող աղբյուրները աշխա- տանքի ցանկի աղբյուրական աղբյուր	52
Մելիքյան Կ. Ա., Աղաճ Ե. Ա. Հայաստանում թրեյդինգի առաջնության ներդրու- ման և պատկերավորման մասին	59
Պապյան Կ. Ս., Սալիսյան Կ. Ա. Որոշ աղբյուրների և էլիտային ձկների ցանկի մեջ կանգնած զանազան հիմնական խնդիրների	62

СОДЕРЖАНИЕ

Шамцян М. М., Яковлев В. И., Мизоками К., Нумато Т., Африкян Э. Г. Микробиологическое получение молочной кислоты из крахмалистого сырья	3
Оганесян С. С., Агемалин А. Г., Кайфадзян М. А. Вопросы биомониторинга токсических соединений и биопромышленности	9
Нерсисова Э. С., Газарянц М. Г., Меликсетян Г. О., Мкртчян Э. С., Зарафян Н. М., Погосян А. Г., Косян С. А., Аюлян Ж. И. Влияние хронической интоксикации уксусом на активность креатинкиназы, пуринуклеозидфосфорилазы, аспартатаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы крысы и человека	13
Меликян А. Г., Карагезян К. Г., Асмангулян Г. А. Некоторые аспекты заболеваемости с временной утратой трудоспособности в районах Капахерского и алуштинского заводов фольго-прокатного производства	19
Мелконян М. М., Мелик-Исхаев Е. А. Метаболизм липидов крови женщин, работающих в условиях действия шума высокого уровня	25
Заварян Р. А., Боролян Р. Г., Петросян Д. С., Григорян Э. Г. Гипотезы и механизмы действия препаратов РНК	2
Насадян А. В., Оганджанян Е. С., Трчян А. А. Активность ГГТ системы печени у энцефалопатических крыс при интоксикации Е солей с индексами	1
Бердиков К. Л., Тришкова В. А., Габеджашвили С. П. Связи между недостаточности дыхания с истощением дыхательного процесса	1

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Мелик-Хачатрян А. Г. Экспресс-метод биомониторинга за загрязненности среды	4
Бакалян П. А., Амбарцумян А. Ш., Деревян Г. В. Влияние ядохимикатов на состояние здоровья сельского населения республике Армения	41
Захарян А. Е., Подоскин Г. А., Цавикян А. Р., Пакосян Г. А. Спектральная характеристика мембран печени крысы при действии 17 β -эстрадиола и гидрокортизона	48
Ершакян К. А. Некоторые аспекты изучения токсичности металлов на организм человека	50
Мелян Г. Г. Совместное действие ретинол-фосфата и тиббереллина на начальную фазу роста озимой пшеницы	52
Григорян А. П., Аюджанян А. А. Влияние солевого стресса на накопление пролина в водорослях <i>Chlorella vulgaris</i>	55
Меликян К. А., Аюджанян А. А. О возможности внедрения производства водорослей в Армении	59
Погосян А. С., Сафарян К. А. Оценка морозостойкости некоторых новых сортов и гибридных форм по импедансу	63

CONTENTS

<i>Shamtsyan M. M., Yukovlev V. L., Mizokami K., Yamamoto I., Afrikian E. G.</i> Microbiological production of lactic acid from starch materials	3
<i>Oganesian S. S., Agamalian A. G., Karadzian M. A.</i> The Questions of Bio-monitoring of Toxic Compounds in the Industry	9
<i>Nersisyan L. S., Hachaturyan A. G., Melikyan V. L., Mkrchyan Z. S., Zarkalian J. M., Pogossian L. G., Kossian S. A., Akopian I.</i> The Influence of Chronic Intoxication by Ethanol on Activity of Creatine Kinase, purine-nucleosidephosphorylase, alanineaminotransferase and aspartateaminotransferase of rat and man	13
<i>Melikian L. G., Karagezian K. H., Ismagilov T. A.</i> Some Aspects of Morbidity with the Temporary Disability of the Workers of Foil rolling Production	19
<i>Melkonian M. M., Melik-Aghaev E. A.</i> The Women Blood Lipids Metabolism under the Acoustic Stress Conditions	23
<i>Zakharian R. A., Borian R. G., Pogossian D. S., Gharibyan L. H.</i> The Hypotensive Action of RNA	28
<i>Vardanian A. T., Ogandjanian E. S., Terhachian A. A.</i> Activity of the Trk-system of K ⁺ uptake in aerobically grown <i>E. coli</i> mutants with one-deletion	32
<i>Yerzinkian K. L., Traphov V. A., Gubegashvili S. D.</i> On the Interdependence of Zinc Deficiency and Pathogenesis of Liver process	37

SHORT COMMUNICATIONS

<i>Melik-Khachaturian G. G.</i> The Express Method of Bio-monitoring of the Environment Pollution	42
<i>Bazallan P. H., Hambartsumian H. S., Deroyan H. V.</i> The Influence of Pesticides on the Health of the Rural Population of Armenia	44
<i>Zakarian A. E., Pogossian Y. A., Tsakubian A. R., Pogossian G. A.</i> Ionitic Hemiluminescention of the nuclear Membranes of the liver of rats under the influence of 17 β -estradiol and Hydrocortizon	48
<i>Yerzinkian K. L.</i> Some Approaches to the study of the Influence of Metals on human Organism	50
<i>Melikian G. G.</i> The Co-influence of ionizing radiation and hybercine on the Preliminary Growth of the winter wheat	52
<i>Grigorian A. P., Agadjanian A. Kh.</i> The Influence of Saline Stress on the Accumulation of Proline in the <i>Chlorella pyrenoidosa</i> algae	55
<i>Mikaelian K. A., Azatyan S. A.</i> On the perspective of microalgae production in Armenia	59
<i>Pogossian K. S., Safarian K. A.</i> The Estimation of the some new frost-resistant kinds and Best specimens forms by tissue impedance	62

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ПОЛУЧЕНИЕ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ ИЗ КРАХМАЛИСТОГО СЫРЬЯ

М. М. ШАМЦЯН, В. И. ЯКОВЛЕВ, К. МИЗОКАМИ,
Т. ЯМАМОТО, Э. Г. АФРИКЯН,

Институт микробиологии ИАН Армении, Ереван
Санкт-Петербургский технологический институт, Россия
Университет Фукуока, Япония

Изучена возможность микробиологического получения лактата изопропилового из содержащего крахмал сырья—промышленных отходов производства яленистого сахара—с использованием *Streptococcus* *bovis*.

Установлены оптимальные условия ферментации для биосинтеза молочной кислоты, температура, состав и pH ферментационной среды. Эффективность ферментации значительно стимулировалась применением глюкоамилазы.

Հետազոտվել է ալիս սպիրտակաղ համարի անսովորական արտադրության բաժնեկիցից փայտածի օրոշման համարժեքությամբ *Streptococcus bovis* շտամի կիրառմամբ:

Որոշվել են կալիբաթի կենսասինթեզի օպտիմալ պայմանները: Գլյուկոամիլազի օգտագործումը նշանակալիորեն խթանել է ֆերմենտացիայի արտադրությունը:

Fermentative production of calcium lactate from rice starch, a waste product of polishing of rice grain for making Japanese Sake and using *Streptococcus bovis* strain has been studied.

Lactate was effectively produced directly from undocked starch.

Addition of the glucosamylase has essentially stimulated fermentation and production of lactic acid.

Биосинтез молочной кислоты—лактат—крахмалистое сырье

Производство молочной кислоты является одним из наиболее важных микробиологических процессов, которому посвящено множество публикаций. В последние годы производство молочной кислоты вызывает особый интерес в связи с новыми возможными применениями ее. Кроме использования в качестве сырья и добавок в медицинской и пищевой промышленности, лактат имеет новые потенциальные возможности применения, в частности, при получении биоградируемых пластиков, приготовленных на основе полилактата. Наряду с разработкой более экономичных ферментативных процессов, это может значительно расширить рынок молочной кислоты [6, 7, 9, 10].

Микробиологический метод получения молочной кислоты является наиболее предпочтительным.

Согласно данным ряда авторов, биосинтез молочной кислоты ингибируется накоплением продукта, чем ограничивается его дальнейшее производство [5, 10]. Из многочисленных источников известно также, что нелизоинированная форма молочной кислоты является основным агентом, ограничивающим бактериальный рост [1, 2]. Для преодоления этого недостатка нами был использован карбонат кальция с получением лактата кальция и качественное конечного продукта.

Сахарификация сырого крахмала также является лимитирующим фактором при ферментативном производстве лактата [3, 4, 11]. Для решения этой проблемы сахарификацию крахмала осуществляли с применением глюкоамилазы, позволяющей гидролизовать несваренный крахмал.

В настоящей работе описано ферментативное производство лактата кальция из сырого рисового крахмала с использованием штамма *Str. bovis*. Особое внимание уделено условиям ферментации, методу стерилизации сырого крахмала, эффекту добавления глюкоамилазы для ускорения сахарификации крахмала, а также методу выделения и очистки конечного продукта.

Материал и методика. Для получения лактата кальция использовали рисовые отруби, являющиеся отходами производства японского сака.

Для производства японского сака рисовое зерно подвергается многоступенчатой обработке, в ходе которой последовательно отскребаются его поверхностные слои, содержащие значительное количество белков и витаминов. Лишь внутренняя часть зерна, состоящая в основном из крахмала и составляющая примерно 60—70% его изначальной массы, используется для производства сака. Отходы, получаемые на первой стадии полировки зерна, имеют рыже-коричневый цвет и содержат наибольшее количество некрахмалистых продуктов, они называются «аханука—красные отруби». Отходы последующей стадии полировки — «широука» (белые отруби), — получаются из относительно внутренних слоев рисового зерна. Эти отруби и были использованы нами в качестве порошка рисового крахмала. Содержание крахмала в белых рисовых отрубях, полученных из фирмы «Мизаки Хонтен» (г. Покканчи, префектура Мие, Япония), было определено методом фенол-серной кислоты и составляло примерно 75%.

В экспериментах использовали реактивы фирмы «Вако» (Япония), если не отмечено иначе.

Использован штамм *Streptococcus bovis* № 148, выделенный из желудка телят и являющийся гомоферментативным продуцентом L (+) молочной кислоты. Эта культура способна также расщеплять сырой клеточный крахмал в глюкозу и мальтозу, согласно Мизоками с соавт. [8]. Инкубацию выращивали культивированием бактерий в колбах Эрленмейера объемом 500 мл, содержащих по 400 мл среды, состоящей из (%): глюкозы—2,0, дрожжевого экстракта («Дифко», США)—0,5, полипептона («Дифко», США)—0,5 (рН среды—6,0—6,5). После суточного выращивания инокулят добавляли в ферментационной среде в количестве 5% с конечной концентрацией около 10^7 клеток бактерий на 1 мл.

Микроорганизмы также выращивали в ферментаторе (10 л), содержащем 8 л ферментационной среды, при постоянной температуре, с постоянным или периодическим перемешиванием, а также без него. Осуществляли постоянную, только начальную подачу углекислоты или исключали ее.

В экспериментах использовали и 300 л ферментаторы с содержанием ферментационной среды 240 л. Все ферментационные среды готовили, используя в качестве крахмала белые рисовые отруби, которые для стерилизации предварительно погружали в несколько объемов 0,02 N серной кислоты на несколько часов при комнатной температуре. Непосредственно перед добавлением инокулята для нейтрализации кислоты к раствору крахмала добавляли карбонат кальция. Рисовый крахмал подвергнутый кислотной обработке и нейтрализованный карбонатом кальция, использовали в экспериментах в качестве «среды на рисовом крахмале». Количество карбоната кальция, добавленного к среде, составляло 45 г на 100 г белых отрубей. В последующем карбонат кальция был заменен перемолотой яичной скорлупой — отходами перерабатывающих производств фирмы «Табо Кагаку» в г. Покканчи. Содержание карбоната кальция в яичной скорлупе составляло более 98%.

Использовали препарат глюкоамилазы из *Rhizopus delemar*, вырабатываемый фирмой «Шин Нихон Кэянкай» под названием «Сумизым 2000». Этот фермент обычно добавляли в соотношении 0,05% к содержанию крахмала в ферментационной среде.

Заданную температуру в ферментаторах поддерживали с помощью циркуляции воды с контролируемой температурой.

Рост клеток во время ферментации определяли путем подсчета живых колоний, содержание общего сахара — методом фенол-серной кислоты и выражали как глюкозный эквивалент, наличие крахмала в среде — цветной реакцией с йодом, содержание молочной кислоты — методом ВЭЖХ, применяя жидкостной хромат. граф. «Eysa» PLC-5P, оснащенный колонкой «Биорад» для анализа органических кислот.

Результаты и обсуждение. Оптимальную температуру роста клеток *Str. bovis* и производства молочной кислоты определяли в экспериментах, проведенных при начальном значении pH среды 6,5. Выявлено, что как для роста продуцента, так и для накопления конечного продукта ферментации — лактата оптимальными являются значения температур в пределах от 37 до 40°C (табл. 4).

Таблица 4. Влияние температуры на рост клеток *Str. bovis* и биосинтез молочной кислоты (среда с содержанием раствора крахмала 8%, начальное значение pH — 6,5, продолжительность ферментации — 30 ч)

Температура, °C	Клеточный титр, млрд клеток/мл	Концентрация лактата, г/л
32	5,4	25,3
35	7,0	31,1
37	7,8	34,7
40	7,6	36,5
42	6,7	32,4
45	4,9	23,5

Оптимальное значение pH при 40°C варьировало в пределах 6,2 и 6,7 (табл. 2).

Данные серии экспериментов по изучению влияния различных условий ферментации и добавок к ферментационной среде на образование лактата кальция обобщены в табл. 3 и 4. Как видно, наилучшие результаты достигаются при перемешивании ферментационной среды в анаэробных условиях с добавлением глюкоамилазы, в то время как в

аэробных условиях в результате окислительного фосфорилирования происходит синтез и других органических кислот (табл. 3).

Таблица 2. Влияние начального значения pH на рост *Str. bovis* и биосинтез молочной кислоты (среды с содержанием 40% рисового крахмала, продолжительность ферментации — 30 ч при 40°C)

Значение pH		Конечный титр клеток $\text{мл} \times 10^6$	Концентрация лактата, г/л
начальное	конечное		
5.0	4.0	4.2	18
5.5	4.0	5.3	25
6.0	4.2	6.9	31
6.2	4.3	7.3	35
6.3	4.3	7.7	37
6.5	4.4	7.8	36
6.7	4.5	7.5	35
7.0	5.7	6.4	28
7.2	6.3	6.0	25
7.5	6.8	5.1	21

Таблица 3. Влияние условий ферментации на биосинтез молочной кислоты (содержание рисового крахмала в среде — 100%, начальное значение pH 6.7, продолжительность ферментации 60 ч при 39°C)

Условия ферментации	Концентрация лактата, г/л	Наличие других органических кислот
Без перемешивания Без подачи CO_2 Без добавления глюкоамилазы	52	небольшие количества
С перемешиванием Без подачи CO_2 Без добавления глюкоамилазы	41	большое количество
С перемешиванием С начальным насыщением CO_2 Без добавления глюкоамилазы	81	не обнаружено
С перемешиванием С постоянной подачей CO_2 Без добавления глюкоамилазы	83	не обнаружено
С перемешиванием С начальным насыщением CO_2 С добавлением глюкоамилазы	90	не обнаружено

Влияние различных добавок на скорость ферментации иллюстрируют данные, приведенные в табл. 4. Добавление глюкоамилазы к ферментационной среде (0.05% к содержанию крахмала в среде) привело к значительному ускорению процесса. Однако, дальнейшее увеличение ее концентрации не способствовало еще большему ускорению ферментации. На скорость биосинтеза молочной кислоты положительно влияет также добавление молочной сыворотки, дрожжевого экстракта и картофельного отвара, но не столь эффективно, как наличие глюкоамилазы (табл. 4).

Таблица 4. Влияние концентрации различных добавок на продолжительность ферментации молочной кислоты (температура — 37°С, начальное значение рН 6,5)

Концентрация белых рисовых отрубей, %	Продолжительность ферментации до ее полного завершения (часы) при различных добавках				
	без добавок	глюкоамилаза*	глюкоамилаза и молочная сыворотка**	дрожжевой экстракт и картофельный отвар***	глюкоамилаза, дрожжи и экстракт и картофельный отвар
12	140	85	75	118	80
8	70	42	42	62	41

* Количество добавленной глюкоамилазы 0,035 г на 100 г белых рисовых отрубей.

** Молочная сыворотка добавлялась в соотношении 10 мл к 100 мл раствора.

*** Дрожжевой экстракт и картофельный отвар добавлялись в соотношении 10 мл к 100 мл раствора.

Одним из важнейших критериев эффективности производства молочной кислоты данным способом являлась концентрация субстрата. В табл. 5 показано влияние концентрации рисового крахмала на скорость и эффективность ферментации.

Таблица 5. Влияние концентрации рисового крахмала на скорость и эффективность ферментации (температура 40°С, начальное значение рН 6,5, постоянное перемешивание и подача С₀О₂)

Концентрация рисового крахмала, г/л	Полученный продукт, г/л	Продолжительность ферментации, ч	Эффективность ферментации, г/час
100	99	60	1,65
120	112	81	1,38
140	122	88	1,39
160	139	106	1,31

Из данных таблицы следует, что продолжительность ферментации до ее полного завершения при концентрации рисового крахмала в среде 10% составляла 60 часов. Эффективность процесса также была тем выше, чем ниже была концентрация субстрата. Однако, учитывая энергетические затраты при выпарке большого количества воды для выделения лактата кальция, ферментации с более высоким содержанием субстрата могут быть экономически более эффективными.

Во всех ферментациях для снятия ингибирующего влияния накапливающейся молочной кислоты на рост клеток продуцента (что в свою очередь приводит к снижению продуктивности процесса) к ферментационной среде добавляли карбонат кальция в соотношении 45 г на 100 г белых рисовых отрубей. Это было эффективно не только в отношении нейтрализации образовавшейся молочной кислоты, но и выделения углекислого газа в ходе образования лактата кальция. В ряде ферментаций кар-

Сонат кальция был успешно заменен перемолотой яичной скорлупой, что никак не снижало скорости ферментации и повышало экономическую эффективность процесса.

Лактат, полученный при 40°C в течение 60 ч в 500 л ферментаторе (28 кг белых рисовых отрубей при объеме заполнения 240 л, постоянном перемешивании и подаче CO₂ с добавлением 14 г глюкоамилазы) был выделен и очищен. Культуральную среду подщелачивали CaOH до pH 9,4 и нагревали до 80° в течение 30 минут. Раствор нейтрализовывали молочной кислотой до pH 6,5, сепарировали, обесцвечивали активированным углем (0,2% 70°C), затем фильтровали с целитом через пресс-фильтр. Обесцвеченный фильтрат высушивали в распылительной сушилке или концентрировали до содержания РВ выше 30% и оставляли на холоду для осаждения. Образовавшийся в результате сушки порошок или кристаллическую массу промывали холодной водой или этанолом и перекристаллизовывали на холоду. Рекристаллизованный лактат кальция высушивали в воздушном потоке при 40°C до постоянного веса. Хроматографические анализы очищенного лактата кальция давали идентичный со стандартными образцами результат, и чистота очищенного препарата была более 98%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Смирнов В. А. Пищевые кислоты. М., 1983.
2. Balpai R. K., Janett B. I. In Handbook of anaerobic fermentation (Ed. L. E. Ericson and D. Y. C. Fung), Marcel Dekker, Inc. New York, 207-241, 1988.
3. Handbook of amylases and related enzymes. (Ed. T. Yamamoto), 195-226 Pergamon Press, Oxford, 1988.
4. Hoshino K., Taniguchi M., Marumoto H., Fujii M. Agric. Biol. Chem. (Japan), 1961-1966, 19-1.
5. J. G. Ishizaki A., Ohta T. J. Ferment. Bioproc., 67, 46-51, 1989.
6. Jain M. K., Datta R., Zeikus J. G. In: Bioprocess engineering (Ed. Chose T. K.), 366-389 E. Horwood, Chichester, 1989.
7. L. Pinsky E. S., Stedler K. G. Chem. Eng. Progr., 8, 26-32, 1986.
8. Mizokami R., Kozaki M., Kitahara K. Nippon Nogei Kagaku Kaishi, 51, 299-307, 1977.
9. Naud A. Chem. Marketing Reporter, 26, 5-7, 1989.
10. Ohara H., Hiynma K., Yoshida T. Appl. Microbiol. Biotechnol., 6, 773-776, 1982.
11. Tamao S., Sasaki H., Kurosawa K., Farida M., Katagata Y. Agric. Biol. Chem., 56, 1978-1984, 1987.

Получено 11.11.1991 г.

ВОПРОСЫ БИОМОНИТОРИНГА ТОКСИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ
В БИОПРОМЫШЛЕННОСТИ

С. С. ОГАНЕСЯН, А. Г. АГАМАЛЯН, М. А. КАЙФАДЖЯН

Институт кардиологии МЗ Армении

С помощью автоматической записи кинетики разрушения мембран эритроцитов (гемолиз), используя 1—2 капли крови из пальца исследуемого определяли действие органических соединений, применяемых в производстве витаминов. Показано, что эти соединения раздельно и в смеси имеют различное воздействие. В количествах, присутствующих в отдельных участках производства, эти соединения не обладают вредным действием кроме толуола, способного в малых концентрациях снижать устойчивость клеточной мембраны эритроцитов.

Էրիթրոցիտների քայքայման կինետիկան (հեմոլիզ) կենտրոնալ գրանցման էղանակով, մարդու մասինց վրա 1—2 մկ-էնիտ կաթիլ արյունում, հետազոտվել է փրամարինների արտադրության մեջ առկա օրգանական միացությունների ազդեցությունը: Առանձին և ալո օրգանական միացությունները չունեն զգալի վնասակար ազդեցություն, բացի տոլուոլից, որի ցածր քանակները փոփոխում են քայքայման կինետիկան:

The using of automatical registration was determined of kinetic parameters of the erythrocyte hemolysis in the probs of 1—2 drops of blood in worker at vitamin production. Among a many organic compounds only toluen has any significantly influence on the stability of cell membrane in not high concentration.

Гемолиз — мембраны эритроцитов-биомониторинг

Из существующих методов биомониторинга, как указывается в ряде исследований [1—3], необходимо выбрать те тесты, которые малоинвазивны, легко выполнимы при массовых исследованиях и в этическом отношении приемлемы. Среди подобных тестов, на наш взгляд, наиболее целесообразным является многократное исследование концентрации вредных веществ в слюне человека, что совпадает с такими же исследованиями в плазме крови. В литературе накоплено много сведений, полученных на основании анализов слюны, которые сейчас широко используются в клинических, а также в фармакокинетических исследованиях [4—6].

Нами использован также малоинвазивный способ биомониторинга действия токсических веществ на устойчивость структуры эритроцитов крови, полученной в виде 1—2 капель из пальца испытуемого. Разработанный метод автоматической записи кинетики и фазового анализа разрушения мембран эритроцитов (гемолиз) и их агрегации позволяет в течение нескольких минут получить достаточно четкую информацию о влиянии вредных факторов на мембраны красных кровяных клеток, участвующих в снабжении тканей кислородом [7—8]. Этот метод даст возможность сопоставить данные, полученные на эритроцитах работников разных участков производства, с результатами анализа совместного

го или изолированного действия токсических веществ в зависимости от их концентрации в среде при работе с кровью здоровых доноров. Исследование проведено на Ереванском витаминном заводе в течение 1989—1990 годов. За помощь и поддержку выражаем благодарность коллективу завода.

Материал и методика. Фазный анализ и параметры кинетики кислотного и осмотического гемолиза эритроцитов определяли с помощью модифицированной нами фотометрической записи скорости и спектрофотометрического определения выхода гемоглобина из клеток [9]. Методы получения крови из пальца испытуемого и приготовления пробы для гемолиза описаны [10]. Число испытуемых составляло 90 человек, из которых 60 мужчин и 30 женщин в возрасте от 25 до 60 лет. Донорскую кровь любезно предоставлял Институт гематологии МЗ Армении, частично—здоровые сотрудники лаборатории.

В условиях эксперимента на суспензии эритроцитов было испытано действие следующих соединений, которые используются на разных участках производства витамина: ацетон, ксилол, этиловый спирт, хлороформ и четыреххлористый углерод. Оценивали влияние на гемолиз эритроцитов широкого ряда концентраций указанных соединений, от 10^{-6} до 10^{-1} М/л.

Первичный врачебный осмотр позволял исключать из рассмотренных групп здоровых лиц. Результаты обрабатывались статистически по критерию Стьюдента.

Были исследованы следующие параметры процесса гемолиза эритроцитов: максимальная скорость гемолиза эритроцитов (V), общее время гемолиза в сек (t), длительность начальной, скрытой «лаг-фазы» (T), остаточное светопропускание после окончания гемолиза (b). Способы расчета указанных параметров приведены в работе [10].

Исследуемое соединение известной концентрации инкубировали с пробой крови при температуре 37°C в течение 90 минут. В суспензию крови из 180 мкл вносили 20 мкл испытуемого соединения или же смеси соединений, разбавленных в 15 мМ Трис-НСI буфере, (рН 7,4), содержащем 0,9% NaCl. В контрольных пробах инкубацию проводили с тем же буфером. В каждом случае повторялось измерение 5-кратно.

Результаты и обсуждение. Как было показано [10], различные кинетические параметры гемолиза эритроцитов не изменяются однозначно. Достоверно повышена максимальная скорость кислотного гемолиза эритроцитов у работников, занятых на производстве витамина С, у них обнаруживается и некоторое повышение величины остаточного светопропускания и снижение общего времени гемолиза (t), что совпадает с укорочением начальной «лаг-фазы» (T). Существенных изменений в показателях кинетики процесса осмогемолиза не наблюдалось, что указывает на повышенную чувствительность к действию токсических веществ на процесс разрушения эритроцитов при кислотном гемолизе.

На участках производства витамина С (аскорбиновой кислоты) в воздухе встречаются ацетон, хлороформ, пыль витамина С, спирт, щелочи. Рабочие имеют дело и с другими веществами, такими как соляная кислота, серная и азотная кислоты. В процессе производства витамина Е обнаруживаются также толуол, уксусный ангидрид, метанол, ксилол, бензол. Однако все эти соединения встречаются в концентрациях ниже предельно допустимых.

Сравнение действия отдельных соединений в эксперименте на донорской крови показало, что в концентрациях ниже ПДК многие из них не оказывают какого-либо влияния на кислотный и осмотический гемолиз. Хлороформ в концентрациях 10^{-5} — 10^{-1} М/л вызывает небольшое снижение общей длительности гемолиза и «лаг-фазы», более или менее четко снижается остаточное светопропускание (b), до $20 \pm 0,25\%$. Установлено, что и в данном случае снижение последнего показателя связано с тем, что высокие концентрации хлороформа способны вызвать предгемолиз определенной части эритроцитов. Возрастание величины b при очень низких концентрациях (10^{-4} М/л), вероятно, указывает на способность этой концентрации стабилизировать мембрану эритроцитов. При осмотическом гемолизе обнаруживается гораздо более сильное влияние—стабилизация мембран эритроцитов наблюдается уже при концентрации хлороформа 10^{-4} М/л. При 10^{-2} — 10^{-1} М/л наблюдается резкое увеличение максимальной скорости гемолиза — на 80—65% и снижение общей длительности гемолиза, а также величины остаточного светопропускания. Таким образом, учитывая различные механизмы гемолиза эритроцитов под влиянием кислоты и гипотонического раствора, можно заключить, что влияние хлороформа скорее отражается на взаимодействии белков и липидов мембран, что выражается в значительном повышении максимальной скорости на кооперативной фазе разрушения мембраны эритроцитов.

В отличие от хлороформа толуол в более низких концентрациях (10^{-4} — 10^{-2} М/л) вызывает значительные изменения всех параметров кроме общей длительности кислотного и осмотического гемолиза.

Причем, в отличие от хлороформа он вызывает ускорение осмотического гемолиза в меньшей степени.

Поскольку ПДК толуола составляет $2 \cdot 10^{-6}$ М/л, надо полагать, что он, благодаря своей липофильности, вызывает нарушения структурного состояния липидов и их взаимодействия с цитоскелетными белками эритроцитов уже в малых концентрациях. Причем в концентрациях 10^{-1} М/л толуол проявляет собственный гемолитический эффект. Что касается уменьшения максимальной скорости гемолиза — то можно предположить, что это связано с предгемолизом. Отметим, что в литературе имеются сведения о снижении количества эритроцитов у рабочих, длительно контактирующих с толуолом на производстве [11]. Следовательно, представляется целесообразным особое внимание обратить на уменьшение концентрации толуола на производстве.

Этиловый спирт оказывает незначительное влияние на кинетические параметры кислотного и осмотического гемолиза даже в достаточно больших концентрациях—(10^{-1} М/л). Укажем, что его ПДК составляет $2 \cdot 10^{-4}$ М/л.

Ацетон в концентрациях 10^{-2} М/л— 10^{-1} М/л (ПДК— $4 \cdot 10^{-1}$ М/л) не оказывает значительного влияния на кислотный гемолиз. Только в концентрациях выше 10^{-1} М/л ацетон замедляет скорость кислотного и ускоряет скорость осмотического гемолиза, отражаясь на общей длительности самого процесса.

Ксилол—наиболее сильное гемолитическое средство. Он сам вызывает гемолиз уже при концентрации 10^{-2} М/л (ПДК— $5 \cdot 10^{-4}$ М/л). В концентрациях 10^{-4} — 10^{-3} М/л ускоряет осмотический и незначительный кислотный гемолиз. Известна его токсичность при длительном воздействии на кроветворные органы [12—13]. Возможно, это связано с тем, что ксилол имеет мембраномодифицирующий эффект. Полученные результаты требуют дальнейшего изучения его действия в зависимости от длительности пребывания рабочего в среде, содержащей ксилол.

При определении действия смеси указанных соединений на суспензию эритроцитов были испытаны те количества, которые соответствуют уровню ПДК. В смеси эти соединения приводят к незначительным изменениям скорости и длительности гемолиза, в большей степени отражаясь на величине остаточного светопропускания, т.е. способны вызывать небольшой предгемолиз. Так как в условиях производства некоторые из этих соединений даже не достигают уровня ПДК, то их эффект не может быть значительным, как мы отметили, кроме эффекта толуола и ксилола. Из сравнительного анализа видно, что при комплексном воздействии этих соединений их эффект выражен больше, чем при их действии в отдельности. Кроме того, появляются разнонаправленные изменения отдельных кинетических параметров гемолиза, что указывает на различия их «мишеней» в клетке. В случае длительного воздействия смесей непосредственно на производственных участках, при превышении указанных в настоящей работе концентраций, сдвиги в устойчивости структуры мембран эритроцитов могут дать дополнительную информацию о влиянии вредных веществ на кроветворные органы. Изучение действия этих веществ на эритроциты позволяет выявить их влияние на отдельные компоненты мембран клеток, что в конечном итоге может быть использовано для разработки профилактических и терапевтических мер. Реакция эритроцитов является высокочувствительным тестом и может быть использована для биомониторинга небольших изменений концентраций токсических веществ в среде. Это обусловлено способностью эритроцитарных мембран реагировать на указанные соединения в значительно меньших, чем предельно допустимые дозы, концентрациях.

Использование данных о кинетике гемолиза эритроцитов при исследовании действия экологических факторов не ограничивается оценкой степени вредности промышленных отходов. Легкость получения проб крови из пальца в малых количествах, возможность их хранения до 4—6 часов, повторные анализы через определенные промежутки времени, позволяют применять этот метод в качестве биомониторинга среди больших групп населения. Детальное изучение устойчивости мембран эритроцитов важно также для оценки изменений их метаболизма, в частности, при появлении мутаций на уровне синтеза фермента глюкозо-6-фосфогидрогеназы, приводящей к гемолитической неустойчивости эритроцитов. Не исключено использование эритроцитов и для би-

омониторинга аллергических реакций в организме в связи с данными, указывающими на гемолитическое действие многих лекарств, к которым обнаруживается аллергическая реакция [14]. В отличие от методов биохимического анализа, оценка кинетических показателей гемолиза эритроцитов при более детальном развитии, на наш взгляд, может служить несложным и достаточно информативным способом биомониторинга экологической ситуации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баевский Р. М. Прогнозирование состояний на грани нормы и патологии, М., 1979.
2. Давыденко Н. В., Колчинский В. И. Вопросы питания, 6, 17—19, 1983.
3. Бердышев В. В. Воен. мед. журнал, 6, 47—48, 1986.
4. Барабаш Р. Д., Гекелю Е. К., Вакуленко Л. В., Биндаренко В. С. Вопросы мед. химии, 27, 1, 22—27, 1981.
5. Пожарицкая М. М., Старосельцева Л. К., Князева А. П. Стоматология, 64, 4, 13—14, 1985.
6. Дударь Л. В., Гусак М. И. Врачебное дело, 12, 32—34, 1981.
7. Агамалян А. Г., Оганесян С. С., Космич, биол. 6, 60—62, 1993.
8. Агамалян А. Г. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1988.
9. Агамалян А. Г., Карпенко В. И., Мкртчян О. А. Биол. журнал Армении, 41, 1, 46—50, 1988.
10. Оганесян С. С., Агамалян А. Г., Газарян Н. Л., Мартиросян П. М., Аракелян А. С. Биол. журнал, Армения, 12, 977—984, 1990.
M Mi hacl A. I. Environ. Carcinog. Methods Anal. and Exposure Meas. Lyon, 10, 3—8, 1988.
12. Sato A. Environ. Carcinog. Methods Anal. and Exposure Meas., 10, 47—64, 1988.
13. Larwerys R., Bichet J. P. Environ. Carcinog. Methods Anal. and Exposure Meas., 10, 205—222, 1984.
14. Муравьев И. А., Кузьмин В. Д., Кудрин А. Н. Несовместимость лекарственных веществ, М., 1978.

Поступило 10. V. 1990.

Биол. журн. Армении, № 1 (47) 1994

УДК 577.152.273:577.151.64:577.15:04

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ УКРИНОЛОМ НА АКТИВНОСТЬ КРЕАТИНКИНАЗЫ, ПУРИННУКЛЕОЗИДФОСФОРИЛАЗЫ, АЛАНИНАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ И АСПАРТАТАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ КРЫС И ЧЕЛОВЕКА

Л. С. НЕРСЕОВА, М. Г. ГАЗАРЯНЦ, Г. О. МЕЛИКСЕТАН, Э. С. МКРТЧЯН,
И. М. ЗАРАФЯН, Л. Г. ПОГОСЯН, С. А. КОСЯН, Ж. И. АКОПЯН

Институт молекулярной биологии НАН Армении, Ереван

Под воздействием укринила у рабочих наблюдается повышение активности креатинкиназы в сыворотке крови на 50%, что может служить тестом для определения степени интоксикации организма этим токсином.

Համազոտված է ուղիղնայր ջրոնիկ Թանգորման աղիւծութիւնը աւանտների մը շարք արգանները և մարդու մարման շիճուկի կրեատինէկինազի, պուրինէնոֆոսֆորիլազի և ասպրտատէնոֆորիլազի ակտիւնը:

զիդ-ֆոսֆորիլազի, ալանինամինոտրանսֆերազի ու ասպարտամինոտրանսֆերազի ակտիվությունների զննումը:

Ավերինյի ադիկցիայի խրախ էն հանդիսանում ուղեղը, լյարդը, սիրտը և երիկամները: Բանվորների մոտ ակտիվացված քրոնիկ խոնավորումը բերում է նրանց աշխատանքի շրջանում կրեատինինի ակտիվության լարձրացում մոտ 50%, որը կարող է օրգանիզմի խոնավորման աստիճանի տեսակ հանդիսանալ:

The influence of chronic intoxication by ucinol on activity of creatine kinase, purinenucleosidephosphorylase, alaninaminttransferase and aspartaminotransferase in several organs of rat and man has been studied. Liver, brain and kidney are targets of ucinol action. The chronic intoxication of workers elicits increases in the level of activity of serum creatine kinase about 50%, that can be used for testing degree of intoxication of organism by this toxin.

Укринол — интоксикация хроническая — крестинкиназа — пуриноклеозидфосфорилаза — аланинаминотрансфераза — аспартагминотрансфераза.

Адаптационные возможности отдельных органов обусловлены непосредственно адаптационными возможностями его ферментов, их способностью менять свою активность адекватно различным физиологическим условиям [11, 12].

Целью настоящей работы являлось исследование влияния укринола, смазочного масла, широко используемого в автомобильной промышленности, на активность ряда ферментов в органах и тканях экспериментальных животных и сыворотке крови рабочих фольгепрокатного цеха Канаса. Укринол — композиция из перегонной нефтяной фракции и присадок — относится к вредным веществам, используемым в промышленности. Известно, что он вызывает белковую дистрофию печени и почек, а также общую липидную дистрофию [5].

Спектр исследованных ферментов был выбран исходя из учета ПНФ в поддержании иммунного статуса организма, ключевой роли КК в энергетическом метаболизме клетки, органичной специфичности АЛТ и АСТ, изменения активности которых в сыворотке крови характеризуют функциональное состояние печени, основного места обезвреживания химических соединений в организме.

Материал и методика. В опыте использовались белые нелинейные крысы, массой 200—250 г, содержащиеся на постоянном пищевом рационе. Исследуемым крысам вводили животным через зонд непосредственно в пищевод. В острых опытах животных декалентрировали через три часа после его введения. В хронических опытах, продолжавшихся шесть месяцев, в течение которых крысы ежедневно получали соответствующие дозы укринола, животных забивали через 1, 3 и 6 месяцев. Исследуемые органы отмывали от крови охлажденным физиологическим раствором, экстрагировали в 0,1 М трис-ацетатном буфере, рН 7,0, содержащем 5 мМ ЭДТ и 0,5 мМ ЭДТА. В полученных экстрактах тканей и сыворотке крови животных определяли активность ферментов.

Активность ферментов определяли также в сыворотке крови рабочих фольгепрокатного цеха Канаса, подвергнувшихся длительному воздействию укринола в процессе работы. В качестве контроля использовали сыворотку крови доноров.

Сокращения: КК — крестинкиназа, ПНФ — пуриноклеозидфосфорилаза, АЛТ — аланинаминотрансфераза, АСТ — аспаргатаминотрансфераза, ЭДТА — этилендиаминтетраацетат, ДТТ — дитиотреитол, НАД — никотинамиддинуклеотид.

Активность КК в обратном направлении реакции определяли колориметрическим методом Эннора и Розенберга в собственной ксифизидина [1], выражали в мкмольх креатинина/л влажной ткани в мин и мкмольх креатинина/л мин для сыворотки крови.

Активность ПНФ определяли колориметрическим методом [4] и выражали в мкмольх гуанидина/л влажной ткани в мин и в мкмольх гуанидина/л мин для сыворотки крови.

Активность АСТ и АЛТ в сыворотке крови определяли стандартными наборами фирмы «KONE» (Финляндия). За единицу активности АСТ и АЛТ принимали количество фермента, катализирующее превращение 1 мкмольа НАД/л в мин.

Для информационной и статистической обработки были разработаны соответствующие прикладные программы.

Результаты и обсуждение. На первом этапе работы необходимо было установить минимальную концентрацию укринола, вызывающую достоверное изменение ферментативной активности. Как известно, нарушение функции органов и систем при адаптации организма к любому воздействию связано с повышенным расходом энергии [8], поэтому изменение активности КК, играющей ключевую роль в энергетическом метаболизме клетки и, как показали многочисленные исследования, обладающей адаптационными свойствами [6, 11], наиболее адекватно отражало бы функциональное состояние исследуемых органов. В табл. 1 представлены средние значения активности КК в различных органах в зависимости от дозы вводимого укринола. Как видно, изменениями действия укринола при всех исследуемых дозах являются печень и мозг, тогда как в остальных органах изменения активности КК оказались статистически недостоверными. При достаточно высоких дозах укринола—15 г/кг и 3 г/кг массы животных наблюдается изменение активности КК, которое коррелирует с величиной дозы. В то же время введение 0.03 г/кг вызывает обратный эффект—повышение активности КК как в мозге, так и в печени примерно на 30% и 60% соответственно. Можно предположить, что высокие дозы укринола вызывают глубокие деструктивные изменения в этих органах, тогда как влияние малых доз компенсируется повышением активности фермента. В литературе имеются данные о предполагаемом дезорганизующем действии этанола и ацетона на мембраны мозга, повышающем их проницаемость, что приводит к выходу КК в кровь и понижению ее активности в мозге [7]. Кроме того, показано угнетение синтеза белков мозга при хроническом действии этанола [2]. Исходя из данных табл. 1, за пороговую и подпороговую дозы укринола были приняты 3 г/кг и 0.03 г/кг массы животных, соответственно.

На следующем этапе работы был исследован характер воздействия укринола на активность указанных выше ферментов при многократном его поступлении в организм в течение 1, 3 и 6 месяцев в дозах, составляющих 1:100, 1:1000 и 1:10000 пороговой дозы.

Исследование активности КК в мозге, печени, почках, легких, сердце и скелетных мышцах при хроническом отравлении крыс показало, что в этом случае, как и в остром опыте, наиболее значительным изменениям ферментативной активности подверглись первые два орга-

на. Следует отметить, что мы исследовали также сыворотку крови крыс, но не интерпретировали эти данные в связи с тем, что процесс декаптации животных был связан с большим мышечным напряжением их, что, как известно [6], сопровождается значительным выбросом КК из скелетных мышц в сыворотку крови и смазывает истинную картину влияния изучаемого вещества. При хроническом отравлении изменения активности КК зависят не столько от количества вводимого токсина, сколько от длительности его действия на организм. При введении укринола крысам в течение 1 месяца как в печени, так и в мозге наблюдается повышение активности КК. Такая же компенсаторная реакция организма как по эффекту, так и по величине наблюдается и в остром опыте при введении 0,03 г/кг массы животного (табл. 1). При более длительном

Таблица 1. Средние значения ($\bar{x} \pm S$) активности КК в контрольных и опытных образцах в зависимости от концентрации вводимого укринола

Доза ткань	Контроль	15 г/кг	контроль	3 г/кг	контроль	0,03 г/кг
МОЗГ	54,9 $\pm$ 5,4 (n=6)	42,0 $\pm$ 7,5 (n=6) -24%	51,2 $\pm$ 6,9 (n=7)	43,7 $\pm$ 3,2 (n=7) -19%	61,1 $\pm$ 9,6 (n=3)	81,1 $\pm$ 12,2 (n=5) +33%
ПЕЧЕНЬ	4,3 $\pm$ 0,77 (n=5)	2,5 $\pm$ 0,5 (n=11) -41%	7,5 $\pm$ 1,0 (n=7)	5,3 $\pm$ 1,2 (n=8) -29%	3,8 $\pm$ 0,6 (n=3)	6,0 $\pm$ 1,3 (n=5) +57%
ЛЕГКИЕ	—	—	8,5 $\pm$ 1,6 (n=8)	8,8 $\pm$ 0,5* (n=8)	10,4 $\pm$ 1,1 (n=3)	10,1 $\pm$ 0,6* (n=5)
ПОЧКИ			10,7 $\pm$ 1,7 (n=7)	11,4 $\pm$ 2,6* (n=5)	21,5 $\pm$ 2,2 (n=3)	23,1 $\pm$ 3,5* (n=5)
СЕРДЦЕ	149,0 $\pm$ 21,4 (n=5)	155,5 $\pm$ 29 (n=12)	63,2 $\pm$ 7,5 (n=8)	67,9 $\pm$ 4,7 (n=8)	103,9 $\pm$ 7,8 (n=3)	112,4 $\pm$ 0,8 (n=5)
СКЕЛЕТ- НАЯ МЫШЦА	267,2 $\pm$ 58,0 (n=5)	287,2 $\pm$ 97* (n=12)	269,4 $\pm$ 18,3 (n=8)	270,7 $\pm$ 20,5* (n=4)	35,3 $\pm$ 4,2 (n=3)	320,1 $\pm$ 21,5* (n=5)

* различия незначительны

действии укринола — 3 месяца, обнаруживается значительное понижение КК в обоих органах, что свидетельствует о преобладании деструктивных процессов к этому времени. Зatravka же токсином в течение 6 месяцев вновь приводит к повышению активности фермента, что, по-видимому, является следствием включения более глубоких адаптационных процессов. Такая фазовость адаптационных изменений показана и для других ферментов энергетического обмена [3, 9]. Как отмечает в

своей монографии Хайдарлиу [11], при хроническом действии стрессоров в изменении энергетических процессов вначале наблюдается снижение всех параметров энергетического метаболизма, после чего имеет место медленное восстановление их, характеризующееся перестройкой метаболизма.

Что касается ПНФ—фермента, характеризующего иммунный статус организма, то при хроническом действии токсина значительные изменения его активности наблюдаются в почках и печени крыс. Введение укринила в течение 1 месяца вызывает падение активности фермента, которая в последующие месяцы постепенно повышается, восстановившись до нормального уровня только в печени. Несмотря на различия биологического ответа на введение укринила в течение первого месяца, направленность адаптационных изменений ПНФ и КК совпадает, хотя адаптационные возможности ПНФ значительно ниже.

Как следует из приведенных данных, наиболее значительные изменения активности ферментов укринол вызывает в печени, которая является местом обезвреживания химических соединений. В связи с этим для более полной характеристики функционального состояния печени мы исследовали в хроническом опыте также изменения активности АЛТ и АСТ, которые, хотя и не являются в полном смысле слова органоспецифическими ферментами печени, однако широко используются в диагностике поражений печени. Известно, что преобладающее повышение активности сывороточной АЛТ наблюдается чаще при поражениях печени, а АСТ—при поражениях сердца [10]. Незначительное повышение активности АЛТ в первые месяцы воздействия становится почти 70%-ным к 6-му месяцу и значительно превосходит активность АСТ, что свидетельствует о возрастании функциональной напряженности печени. В то же время резкое возрастание активности АСТ после месячного действия токсина при небольших изменениях АЛТ свидетельствует о резкой функциональной нагрузке на сердце, хотя активность другого специфического для сердца фермента—КК при этом не менялась. К шестому месяцу действия укринила активность АСТ возвращается к нормальному уровню.

Обобщая приведенные данные, следует отметить, что несмотря на определенные различия в ответной реакции исследованных ферментов на многократное введение укринила, можно выделить общие моменты: 1) решающее значение имеет длительность воздействия, 2) организм постепенно адаптируется к вредному воздействию токсина путем восстановления активности ферментов до уровня нормы, или повышения активности их выше нормы. Молекулярный механизм такой адаптации ферментов—предмет дальнейших наших исследований. Это может быть связано как с изменением изоферментного состава, так и с изменением субъединичного строения фермента, модификациями различных участков белковой молекулы, ее конформационным изменением и т. д.



Таблица 2. Активности КК, АСТ, АЛТ в сыворотке крови доноров и рабочих фольгопрокатного цеха КАНАЗа

	КК		АСТ		АЛТ	
	рабочие	доноры	рабочие	доноры	рабочие	доноры
1	21.9	10.7	9.8	7.4	7.4	9.8
2	17.3	9.2	12.3	9.8	12.3	12.3
3	14.4	9.2	9.8	9.8	14.7	9.8
4	15.3	16.3	9.8	7.4	14.7	14.7
5	14.3	12.3	14.7	9.8	12.3	12.3
6	19.9	14.3	14.7	9.8	9.8	9.8
7	11.3	—	9.8	12.3	14.7	9.8
	17.5±2.7	11.8±1.2	11.5±1.8	10.9±1.8	12.3±2.6	11.2±1.8

* Средние значения ($\bar{x} \pm S$) активности ферментов

Располагая данными, полученными на экспериментальных животных, мы исследовали активности КК, АСТ, АЛТ в сыворотке крови рабочих фольгопрокатного цеха завода Каназ, подвергающихся в процессе работы длительному воздействию укринола. В табл. 2 приведены результаты этих исследований в сравнении и с аналогичными показателями сыворотки крови доноров, использованной нами в качестве контроля. Достоверные изменения активности обнаруживаются в случае КК—повышение активности на 48% в сыворотке крови рабочих. Если учесть, что в хроническом опыте у экспериментальных животных при длительном воздействии укринола в качестве адаптационной реакции имело место увеличение активности КК в мозге и печени, можно предположить, что повышение активности КК в сыворотке крови рабочих отражает функциональное напряжение этих органов и может служить тестом при оценке влияния этого вещества на организм.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акопян Ж. Н., Газарянц М. Г., Мкртчян З. С., Персегова Л. С., Биохимия, 46, вып. 2, 262—267, 1981.
2. Божко Г. Х., Волошин П. В. Успехи современной биол., 108, вып. 1 (4), 63—69, 1989.
3. Вьях М. Ф. В кн.: «Проблемы биохимической адаптации», М., 86—93, 1966.
4. Кочарян Ш. М., Бегларджян Х. О., Мелкумян М. А. и др. Биолог. ж. Армении, 38, II, 1010—1016, 1985.
5. Лазарев Н. В., Левина Э. Н., Вредные вещества в промышленности. Справочник для химиков, инженеров и врачей Л., 1976.
6. Лызлова С. Н. Фосфагениказы, Л., 1974.
7. Мишек О. Н., Усатенко М. С., Лызлова С. Н., Бородин Ю. С. Вестник ЛГУ, 3, вып. 1 (3), 64—68, 1991.
8. Покровский А. Т. Проблемы биохимической адаптации, М., 1966.

9. Сулемин Г. Г., Котвич Н. И., Дмитриенко С. Н., Фролов Е. А. В кн. «XIII съезд всесоюзного физиологического общества, И. П. Павлов» Л. 1. 462, 1979.
10. Трахтенберг И. М., Тимофеевская Л. А., Каджкозская И. Я. Методы изучения хронического действия химических и биологических агентов. Рига, 1967.
11. Хайдарлиу С. Х. Функциональная биологическая адаптация. Кишинев, 1984.
12. Хочачко П., Дж. Самеро Биохимическая адаптация. М., 1988.

Поступило 9. I. 1991 г.

Биолог. журн. Армении, № 1 (47) 1994

УДК 613.6

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ С ВРЕМЕННОЙ УТРАТОЙ ТРУДОСПОСОБНОСТИ У РАБОЧИХ КАНАКЕРСКОГО АЛЮМИНИЕВОГО ЗАВОДА ФОЛЫО-ПРОКАТНОГО ПРОИЗВОДСТВА

Л. Г. МЕЛИКИН, К. Г. КАРАГЕЗЯН, Т. А. АСМАНГУЛЯН

Ереванский государственный медицинский институт,
Институт молекулярной биологии НАН Армении

Показано, что профессиональная вредность фольго-прокатного производства может быть фактором «риска» в отношении некоторых заболеваний и приводит к снижению производительности труда.

Փամանակավոր անալիտիկականության ուսումնասիրությունը ցույց է տվել, որ բանվորների մոտ ընդհանուր հիվանդությունը զրեթե 2 անգամ ավելի բարձր է, քան հսկիչ խմբի մոտ: Ասելից բարձր հիվանդություն նկատվում է 31—40 տարեկան բանվորների մոտ, աշտնաբերված է ուղղակի կապ աշխատանքային ստաժի և հիվանդացության մակարդակի միջև:

Գարզվել է նաև, որ արտադրական վնասակարությունները առավել մեծ դեր ունեն ուկրա-մկանային, սերիֆերիկ նյարդային համակարգության, ինչպես նաև մաշկի և ենթամաշկի հյուսվածքների հիվանդությունների առաջադան զորոնում:

Having analysed the results of the morbidity with the temporary disability of the foil-rolling plant workers, we came to the conclusion, that the professional damage of the foil-rolling production may be factor of "risk" for some diseases and may cause the decrease of production.

Заболеваемость рабочих—факторы химические и физические

Изучение условий труда рабочих на Канакерском алюминиевом заводе показало, что они подвергаются воздействию различных химических и физических факторов.

Для гигиенической характеристики условий труда рабочих был проведен ряд исследований совместно с лабораториями районной СЭС.

Материал и методика. Микроклиматические факторы определялись общепринятыми методами исследований и сравнивались с данными ГОСТ 12.1.005—76. Для определения концентрации органических веществ в воздухе рабочей зоны были проведены пробы на окисляемость воздуха, одновременно определялись интенсивность вибрации и звукового давления. Заболеваемость с временной утратой трудоспособности изучалась на основании анализе больничных листов за 1987—1989 гг. с последующей

разработкой по полу, возрасту, профессиям. Для выявления роли производственных факторов в формировании общей заболеваемости рабочих данные заболеваемости были сопоставлены с аналогичными показателями служащих заводского управления (контрольная группа).

Микроклиматические условия в основном соответствовали оптимальным и допустимым уровням, предусмотренным соответствующим ГОСТом. Однако в теплый период года температура на рабочих местах у станков и печей достигала 33° . Имеются рабочие места, микроклимат которых можно отнести к резконагревающим. Это относится к маслоподавалам, где температура превышает норму, достигая $42,2^{\circ}$.

Неблагоприятное действие физических факторов усугубляется наличием в воздухе рабочих зон нагретых паров масел и продуктов их деструкции.

Известно, что действие паров и аэрозолей смазочных масел при обработке алюминия способно вызывать определенные патологические изменения в организме работающих [2].

Концентрация масляного аэрозоля в ряде рабочих мест превышала ПДК (5 $\text{мг}/\text{м}^3$ ГОСТ 12.1.005—76 «Воздух рабочей зоны»). Очистимость атмосферного воздуха равна 4—5 $\text{мг}/\text{м}^3$, в помещениях же она доходила до 22,4 $\text{мг}/\text{м}^3$. Действие химических и микроклиматических факторов может усугубляться влиянием и шумового фактора, который превышал предельно допустимый уровень на 10—11 дБ. Кроме того, трудовой процесс на этом производстве характеризуется определенным эмоциональным напряжением, функциональным напряжением анализаторов.

Результаты и обсуждение. Анализ материалов заболеваемости показал, что и фольго-прокатном производстве общая заболеваемость почти в 2 раза превышает таковую служащих заводоуправления.

Самыми распространенными у рабочих фольго-прокатного отделения явились болезни, вызванные простудными факторами (острые респираторные заболевания, грипп, острые фарингиты и ангины, тонзиллиты), затем болезни периферической нервной системы, остеомиозиты, заболевания кожи и подкожной клетчатки, гипертоническая болезнь и ишемическая болезнь сердца. Эти болезни являются определяющими и составляют 70—85% от всей заболеваемости рабочих данного отделения.

Было установлено также значительное повышение по отдельным нозологическим формам (табл. 1).

Изучение данных по болезням нервов и периферических ганглиев, а также костно-мышечной системы показало, что в фольго-прокатном производстве по сравнению с контролем наблюдалось увеличение числа случаев—на 7.13, 1.9; 7.1 и дней нетрудоспособности—на 71.2; 18.2; 15.2; 1.7, повышение случаев заболеваемости периферической нервной системы—на 10.5, 8.6, 9.2, а дней нетрудоспособности—на 103.8, 113.3; 161.5.

Интересно отметить патологию кожи и подкожной клетчатки, что является результатом постоянного загрязнения кожи рук рабочих отработанным маслом. Например, инфекции кожи и подкожной клетчатки наблюдаются ежегодно—4.1, 2.3, 3.3, у рабочих заводоуправления эта патология не встречается. Что же касается других воспалительных заболеваний кожи, то в изучаемом производстве наблюдается увеличение числа случаев на 1.9; 0.8; 1.4 и дней нетрудоспособности на 15.5; 3.4; 13.0.

Таблица 1. Сравнительная картина заболеваемости с ВУТ у рабочих фольго-прокатного производства и контрольной группы по наиболее часто встречающимся болезням за 1997—1998 гг. (в случаях и днях нетрудоспособности на 100 рабочих)

Название болезней	Число случаев дни	1987		1988		1989	
		фольгопрокат	з/упр.	фольгопрокат	з/упр.	фольгопрокат	з/упр.
Болезни периферических ганглов	случаев	15.2	4.7	13.3	4.7	15.6	6.4
	дни	103.8	94.9	113.3	59.2	161.5	46.8
Гипертоническая болезнь	случаев	5.07	2.97	2.0	1.7	5.0	2.1
	дни	89.8	35.3	13.5	16.6	29.2	20.9
ИБС и другие формы болезни сердца	случаев	2.57	2.97	2.1	1.3	4.1	1.7
	дни	99.54	2.55	46.8	54.5	61.4	32.3
Гормональные заболевания	случаев	0.75	—	0.3	—	0.45	0.8
	дни	17.6	—	2.9	—	9.4	19.2
Язвенные болезни желудка и двенадцатиперстной кишки	случаев	1.2	—	1.8	—	2.3	0.42
	дни	44.2	—	27.7	—	36.2	2.1
Инфекции кожи и клетчатки	случаев	4.1	—	2.3	—	3.3	—
	дни	31.5	—	18.8	—	21.5	—
Другие воспалительные болезни кожи и клетчатки	случаев	3.2	1.3	1.2	0.4	1.8	0.42
	дни	32.1	16.6	7.1	1.7	15.1	2.1
Болезни костно-мышечной системы	случаев	7.13	—	2.3	0.4	2.1	0.12
	дни	71.2	—	18.6	0.4	18.6	3.4
Прочие	случаев	13.9	9.79	7.3	5.5	7.0	3.8
	дни	166.5	114.9	142.7	177.0	100.6	39.1

Примечание: знак — означает отсутствие заболеваемости.

Углубленный анализ заболеваемости с учетом профессионального стажа показал высокий уровень заболеваемости в стажевой группе от 10 и выше лет (223,7), более низкий—в группе от 5—10 лет (132,0), несколько повышенную заболеваемость в группе до 5 лет—215,5, в разных отделениях производства (табл. 2).

Таблица 2. Распределение заболеваний рабочих фольго-прокатного производства по стажу (на 100 рабочих)

Отделения	до 5 лет	от 5 до 10 лет	10 лет и выше
2	250,9	104,2	212,2
3	300,0	114,0	223,8
4	182,6	121,9	185,0
4а	160,9	218,2	259,4
Итого	215,5	132,0	223,7

Наиболее высокая заболеваемость наблюдалась у нагревательщиков—250,0 число случаев, затем у слесарей мех. №3—80,6, у вальцовщиков—77,4, прокатчиков—68,8, резчиков—68,2, и, наконец, у красильщиков—46,9.

Анализ заболеваемости в зависимости от возраста показал (табл. 3), что наибольшая заболеваемость наблюдается в возрастной группе 31—40 лет и составляет 228,9. Следовательно, можно предположить, что высокая заболеваемость у рабочих данного производства не связана с возрастными показателями.

Таблица 3. Заболеваемость рабочих фольго-прокатного производства с ВУТ по возрасту (на 100 рабочих)

Отделения	20—25 л.	26—30 л.	31—40 л.	41—50 л.	51 и выше
2	50,0	190,0	237,5	217,5	176,5
3	215,4	160,7	245,0	171,4	109,2
4	129,4	157,1	214,3	233,3	144,0
4а	200,0	148,3	210,2	193,3	272,2
Итого	185,7	158,9	228,9	192,3	183,8

Таким образом, высокий уровень заболеваемости рабочих фольго-прокатного производства можно объяснить результатами комплексного воздействия производственных предных факторов, которые могут быть «факторами риска» в отношении заболеваний периферической нервной, костно-мышечной систем, и, что особенно важно, инфекции кожи и подкожной клетчатки и других воспалительных болезней кожи.

Результаты исследований показали необходимость дальнейшего изучения состояния здоровья рабочих с целью дальнейшей разработки оздоровительных комплексов по оптимизации условий труда и организации режима труда и отдыха.

ЛИТЕРАТУРА

1. ГОСТ 12. 1. 005—76 «Воздух рабочей зоны».
2. Никогосян Х. А., Аппель Я. А., Саламанова М. Н. Гигиена труда и проф. заболеваний, 12 3, 1969.

Поступило 22. V 1992 г.

Биолог. журн. Армении № 1 (47), 1994 УДК 577.161.3—577.156.6:616.45—0.01.3

МЕТАБОЛИЗМ ЛИПИДОВ КРОВИ ЖЕНЩИН, РАБОТАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ ШУМА ВЫСОКОГО УРОВНЯ

М. М. МЕЛКОНЯН, Е. А. МЕЛИК-АГАЕВА

Ереванский государственный медицинский институт им. Мхитар Гераци, Ереван

Исследование интенсивности течения процессов перекисного окисления уровнем шума, выявило снижение уровня α-токоферола в плазме и мембранах эритроцитов крови у лиц, работающих на производстве с высоким уровнем шума, антиоксидантной системы крови, уровня липидов плазмы и мембранах эритроцитов, увеличение содержания уровня общих липидов и холестерина, а также уменьшение коэффициентов α-T/OЛ, α-T/X в плазме крови и увеличение отношения X/α-T в мембранах эритроцитов, коррелирующее с интенсивностью протекающих в них процессов перекиснообразования. Отмечена зависимость выраженности сдвигов от стажа работы в условиях высокого уровня производственного шума.

Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ վերահիշյալ պայմաններում կանանց մոտ առյան պլազմայում և էրիթրոցիտների թաղանթներում ինքնում է α-տոկոֆերոլի մակարդակը, իսկ ընդհանուր լիպիդների և խոլեստերինի քանակությունը բարձրանում է. որի հետևանքով առյան պլազմայում է α-տոկոֆերոլի ընդհանուր լիպիդներ, α-տոկոֆերոլ/խոլեստերին գործակիցը, իսկ էրիթրոցիտների թաղանթներում մեծանում է խոլեստերին/α-տոկոֆերոլ հարաբերությունը: Նշված տեղաշարժերը կորрелиացվում են լիպիդների զերոքսիդացման պրոցեսների ակտիվության հետ:

The decreasing of the α-tocopherol level in plasma and erythrocytes membranes and increasing of the total lipids and cholesterol content in women blood were established. These changes accompanied by α-tocopherol (total lipids and α-tocopherol) cholesterol ratio decreasing in blood plasma and cholesterol α-tocopherol ratio increasing in erythrocytes membranes, which correlated with lipid peroxidation intensity in them.

Кровь—α-токоферол/ацетат—липиды—шум.

Результаты проведенных нами ранее исследований изменений интенсивности течения процессов перекисного окисления липидов, антиоксидантной системы ряда органов, а также некоторых структурных ком-

Сокращения: ПОЛ—перекисное окисление липидов, МЭ—мембраны эритроцитов, АЭП—аскорбатзависимое ПОЛ, НЭП—НАДН-зависимое ПОЛ, ЛПНП и ЛПВП—соответственно липопротеиды низкой и высокой плотности, ОЛ—общие липиды, Х—холестерин, МДА—малоновый диальдегид, ТГ—триглицериды.

показателей крови в условиях действия шума в эксперименте свидетельствуют о глубоких нарушениях, разыгрывающихся в динамике указанных показателей [2].

Целью настоящего исследования являлось выяснение природы сдвигов в уровне изученных показателей в крови людей, а также проведение сравнительной оценки их в эксперименте и у работающих на производстве с высоким уровнем шума.

Материал и методика. На исследование брали кровь работники ткацкого цеха комбината г. Ереван. Уровень шума в цехе составлял 87—93 дБА с максимальной энергией в области средних и высоких частот. Обследуемые были подразделены на 5 групп, причем I и II контрольные. В I контрольную группу входили женщины в возрасте до 35 лет; во II—выше 35 и до 65 лет (студентки, работницы бухгалтерии, административные сотрудники).

Работники ткацкого цеха были подразделены условно на 3 группы, в зависимости от стажа работы: I группа—от 1 года до 10 лет; 2 группа—выше 10 и до 20 лет; 3 группа—выше 20 лет.

В плазме крови работниц изучали уровень α -токоферола [5], общих липидов, триглицеридов с помощью набора реактивов La chimia, фосфолипидных перекисей [7], холестерина, холестерина-липопротеидов низкой и высокой плотности [3, 4]. В мембранах эритроцитов изучались липиды, индуцированные ПОЛ [1], уровень холестерина [3], а также отношение α -токоферола к содержанию окисляемых фракций липидов в плазме и МЭ.

Результаты и обсуждение. Проведенные исследования позволили установить у работниц, особенно 1-й и 3-й групп, повышение интенсивности АЗП МЭ по сравнению с данными контрольных групп (табл. 1). Изучение интенсивности индуцированного перекисления липидов свидетельствует о развитии дисбаланса в системе регуляции процессов ПОЛ и МЭ в зависимости от стажа работы. Относительно небольшие отклонения от контроля наблюдаются у рабочих 2-й группы со стажем работы 1—2 лет.

Сдвиги в содержании α -Т в 1-й и 3-й группах достаточно выражены; при этом четко проявляется обратная коррелятивная связь между уровнем α -токоферола и интенсивностью течения процессов ПОЛ. Известно о легко совершающейся миграции α -Т в эритроциты из плазмы крови без участия специальных систем переносчиков, что способствует достижению динамического равновесия между содержанием его в плазме крови и эритроцитах. Следовательно, уровень α -Т в МЭ зависит как от активности в них процессов ПОЛ, так и от уровня α -Т в плазме.

Изучение содержания α -Т в плазме крови рабочих всех групп выявило различную степень его снижения, оказавшегося недостоверным у представителей 3-й группы. Отмечено также снижение коэффициентов α -Т/ОЛ и α -Т/Х (табл. 2).

Известно об увеличении с возрастом уровня α -Т в плазме крови, что, по-видимому, можно объяснить нарушением метаболизма ЛПНП, основной фракции, транспортирующей α -Т [8, 9], как в силу их модификации под воздействием продуктов перекисления, так и снижения числа рецепторов ЛПНП. Поэтому недостоверное и наименее выражен-

ное снижение абсолютного содержания α -Т у представителей 3 группы не является, на наш взгляд, показателем благополучия в антиоксидантном обеспечении плазмы.

Таблица 1. Интенсивность АЗП и НЗП (нмоль МДА/белка), содержание α -токоферола, общего холестерина (нмоль/мг белка) и отношения ОХ/ α -Т (моль/моль) в мембранах эритроцитов работников ткацкого цеха ($M \pm m$)

Исследуемые группы	Условия опыта	α -токоферол	АЗП	НЗП	Общий холестерин	ОХ/ α -Т
1 группа (стаж до 10 лет)	Контроль I	19,7 $\pm$ 1,1 (15)	2,7 $\pm$ 0,3 (17)	4,0 $\pm$ 0,5 (17)	117 $\pm$ 16 (17)	6,4 $\pm$ 1,0 (17)
		15,0 $\pm$ 1,8 ^c	3,6 $\pm$ 0,5 (16)	5,0 $\pm$ 0,5 (18)	201 $\pm$ 48 (16)	12,2 $\pm$ 2,9 (16)
	Контроль II	13,9 $\pm$ 2,1 (11)	2,3 $\pm$ 0,4 (12)	4,5 $\pm$ 0,8 (12)	185 $\pm$ 43 (12)	20,8 $\pm$ 5,1 (12)
2 группа (стаж 10–20 лет)		12,9 $\pm$ 2,2 (11)	2,4 $\pm$ 0,3 (12)	4,8 $\pm$ 0,6 (12)	253 $\pm$ 69 (12)	25,7 $\pm$ 7,3 (11)
3 группа (стаж свыше 20 лет)		12,2 $\pm$ 2,0 (14)	4,7 $\pm$ 0,7 ^a (16)	6,4 $\pm$ 0,7 (16)	507 $\pm$ 43 ^a (15)	25,5 $\pm$ 5,6 (14)

Примечание: здесь и в последующих таблицах: а — $p < 0,001$, в — $p < 0,01$, с — $p < 0,05$. В скобках указано число обследованных лиц.

Таблица 2. Уровни МДА (нмоль/мл), α -Т (мкмоль/мл), триглицеридов общих липидов (г/л), отношения α -Т/ОЛ и α -Т/Х (нмоль/мкмоль) в плазме крови работников ткацкого цеха ($M \pm m$)

Изучаемые параметры	Условия опыта	Фоновые липидные перекиси	α -Токоферол	Триглицериды	Общие липиды	α -Т/ОЛ	α -Т/Х
1 группа (стаж до 10 лет)	Контроль I	4,2 $\pm$ 0,3 (17)	2,1 $\pm$ 0,14 (17)	1,0 $\pm$ 0,2 (16)	3,7 $\pm$ 0,2 (17)	2,3 $\pm$ 0,3 (17)	5,1 $\pm$ 1,6 (17)
		4,1 $\pm$ 0,3 (16)	1,4 $\pm$ 0,1 ^b	0,7 $\pm$ 0,1 (18)	4,7 $\pm$ 1,2 (11)	1,3 $\pm$ 0,1 ^a (11)	3,7 $\pm$ 0,3 ^a (18)
	Контроль II	3,7 $\pm$ 0,3 (12)	2,1 $\pm$ 0,2 (13)	1,1 $\pm$ 0,4 (13)	4,6 $\pm$ 0,3 (13)	1,9 $\pm$ 0,3 (12)	4,9 $\pm$ 0,6 (12)
2 группа (стаж 10–20 лет)		3,6 $\pm$ 0,3 (13)	1,6 $\pm$ 0,17 ^c	1,12 $\pm$ 0,35 (13)	5,1 $\pm$ 0,5 (13)	1,34 $\pm$ 0,1 ^b (13)	3,5 $\pm$ 0,3 ^a (13)
3 группа (стаж свыше 20 лет)		3,9 $\pm$ 0,2 (14)	1,7 $\pm$ 0,2 (16)	1,3 $\pm$ 0,22 (16)	4,9 $\pm$ 0,3 (15)	4,5 $\pm$ 0,1 (15)	3,5 $\pm$ 0,4 (16)

Согласно полученным результатам, уровень фоновых липидных перекисей, определяемый по концентрации МДА в плазме крови, не претерпевает значительных отклонений от нормы, что, по-видимому, связано как с интенсивным связыванием его с высокомолекулярными ком-

понентами плазмы, в частности ЛПНП и ЛПВП, так и со значительно высоким уровнем антиокислительной активности плазмы, характерной для крови человека [6, 7].

Данные исследования содержания общих липидов и триглицеридов, основных субстратов перекисления в плазме крови, свидетельствуют об увеличении у работниц 1-й группы, в отличие от 2-й и 3-й уровня ОЛ на 25% и недостоверное снижение содержания триглицеридов (табл. 2), что может быть следствием как активирования липопротендлингаз, так и интенсификации реакций ПОЛ. Однако сдвиги в абсолютном содержании ОЛ и ТГ без учета количественных изменений антиоксидантов малоинформативны. Поэтому мы нашли целесообразным изучение изменения величины коэффициентов $\alpha\text{-Т/ОЛ}$ и $\alpha\text{-Т/Х}$ для выявления степени обеспеченности липидной фазы антиоксидантом. Расчеты выявили заметное снижение по всем группам этих коэффициентов. Нами ранее в условиях эксперимента была выявлена зависимость между уровнем $\alpha\text{-Т}$ плазмы и фракций Х. Исследования показали возрастзависимое значительное увеличение уровня Х, что соответствует данным литературы (табл. 3). У работниц 1-й и 3-й групп рост общего Х сопровождается одновременным снижением содержания свободного Х у представителей всех групп. В настоящее время установлена взаимозависимость между уровнем свободного Х, Х—ЛПНП и развитием коронаросклероза, содержанием ЛПВП и состоянием атеросклеротически пораженных периферических сосудов. Коэффициент атерогенности (Х—ЛПНП/Х—ЛПВП), являющийся одним из основных биохимических показателей при патологиях сердечно-сосудистой системы, значительно возрастает у представителей всех исследованных групп.

Таблица 3. Содержание общего и свободного холестерина (мкмоль/дл), холестерина ЛПНП (% по отношению к общему) плазмы крови и коэффициент атерогенности у работниц ткацкого цеха ($M \pm m$)

Исследуемые группы	Условия опыта	Общий холестерин	Свободный холестерин	Х—ЛПНП	Коэффициент атерогенности (Х—ЛПНП/Х—ЛПВП)
	Контроль I	336 ± 20 (17)	140 ± 14 (17)	40 ± 4 (17)	1.2 ± 0.3 (17)
1 группа (стаж до 10 лет)		432 ± 32 (18)	136 ± 16 (14)	55 ± 5^a (17)	4.2 ± 0.7^a (17)
	Контроль II	512 ± 31 (13)	236 ± 32 (13)	48 ± 5 (10)	2.0 ± 0.6 (11)
2 группа (стаж 10—20 лет)		500 ± 33 (13)	170 ± 24 (13)	64 ± 6^c (13)	4.2 ± 0.9^c (12)
3 группа (стаж свыше 20 лет)		549 ± 27 (16)	144 ± 20 (15)	62 ± 5^c (15)	3.5 ± 0.4^c (14)

Изучение в МЭ и плазме крови количественных сдвигов X показывает его высокое содержание у представителей II контрольной группы. Увеличение ригидности и микровязкости МЭ параллельно росту в них количества X , является одним из важных факторов, влияющих на функциональную активность бпомембран, мембраносвязанных ферментов, интенсивность и направленность клеточного метаболизма. С этим связывается и процесс «старения» эритроцитов и мобилизация возможных механизмов «узнавания» и изъятия их из кровеносного русла. Наблюдающееся при этом увеличение коэффициента $X/\alpha\text{-T}$ МЭ во всех исследуемых группах свидетельствует о нарушении количественных соотношений между отдельными липидными компонентами бпомембран (табл. 1).

Таким образом, у работников ткацкого цеха обнаруживается снижение уровня $\alpha\text{-T}$ в плазме и МЭ, увеличение содержания уровня ОЛ и X , а также уменьшение коэффициентов $\alpha\text{-T}/\text{ОЛ}$, $\alpha\text{-T}/X$ в плазме крови и увеличение коэффициента $X/\alpha\text{-T}$ в МЭ, коррелирующее с интенсификацией в них процессов перекисеобразования. У работников 2-й группы со стажем работы 10–20 лет, по сравнению с 1-й и 3-й группами, наблюдаются относительно небольшие колебания в изученных параметрах. Отмеченные расхождения, по-видимому, обусловлены пребыванием представителей 2-й группы в стадии компенсированной адаптации, являющейся основной причиной отсутствия выраженных отклонений и величине изученных показателей от таковой у контрольных лиц.

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. 252, М., 1972.
2. Мелькоян М. М. Ж. эксперим. и клин. мед., 27, 1, 21–29, 1987.
3. Сентебова Н. А. Лаб. дело., 6, 375–380, 1977.
4. Формизюк В. Е., Яковенко Н. Н., Владимиров Ю. А. Укр. биохим. ж., 58, 3, 104–112, 1986.
5. Duggan D. E. Arch. Biochem. Biophys., 184, 116–120, 1952.
6. Eriessson S., Vittol G., et al. Eur. G. Clin. Invest., 17, 2, 1987.
7. Gavino V. C., Csallany A. S. Enzyme, 30, 162–165, 1933.
8. Lombardi D., Mourat G. Atherosclerosis, 53, 3, 327–330, 1984.
9. Szabani I., Winterbourn C., Carell R., Biochem. J., 220, 3, p. 685–692, 1984.

Поступило 23 III 1992 г.

ГИПОТЕНЗИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТА РНК

Р. А. ЗАХАРЯН, Р. Г. БОРОЯН, Д. С. ПЕТРОСЯН, Э. Г. ГРИГОРЯН

Институт молекулярной биологии НАН Армении

Установлено наличие у препарата низкомолекулярной РНК, используемой в виде Са-преципитата РНК, отчетливого гипотензивного действия, выражающегося в понижении артериального давления в острых опытах. Гипотензивное действие препарата РНК не опосредуется ни холинэргическими, ни адренэргическими рецепторами: соответствующие блокаторы этих рецепторов при предварительном введении не уменьшают гипотензивного эффекта РНК.

РНК значительно повышает уровень цАМФ в клетках ткани аорты цыплят, включение экстрацеллюлярного Ca^{2+} в клетки, уровень активности фосфолипазы A_2 , высвобождение лизолецитинов и уровень цГМФ.

ՌՆԹ-ի ցրեպիտատի հիպոտենզիկ գործունեությունը չի պայմանավորված ոչ խոլինէրգիկ և ոչ էլ ադրենէրգիկ ռեցեպտորներով:

Համապատասխան ռեցեպտորների բլոկատորները նախնական արտված դեպքում չեն ցածրացնում ՌՆԹ-ի հիպոտենզիկ էֆեկտը:

ՌՆԹ-ն զգալիորեն բարձրացնում է ցիկլիկ ԱՄՖ-ի մակարդակը աորտայի շլուփածրի բջիջներում, մտցնելով էքստրացելյուլար Ca^{2+} -ն բջիջների մեջ, բարձրացնում է ֆոսֆոլիպազ A_2 -ի ակտիվության մակարդակը, լիզոլեցիտինների առկայությունը և ցիկլիկ ԳՄՖ-ի մակարդակը:

In the experiments the clear hypotensive action of Ca^{++} -precipitated low molecular RNA was established revealing the lowering of arterial pressure.

RNA hypotensive action is mediated with neither cholinergic nor adrenergic receptors; the corresponding blockers of these receptors do not decrease the hypotensive effect of RNA.

RNA considerably increases the level of cyclic AMP in the cells of chicken aortae tissue, the inclusion of extracellular calcium into the cells, the activity of phospholipase A_2 , the lysolecithines release and the level of cyclic GMP.

РНК — артериальное давление — цАМФ — цГМФ.

Экспериментальными исследованиями установлено, что ди-РНК являются модуляторами различных биохимических процессов, индукторами образования интерферона, стимуляторами первичного и вторичного иммунного ответов [6, 9]. Способность ди-РНК индуцировать различные биохимические реакции в клеточных системах зависят, по крайней мере, от способности ди-РНК изменять активность некоторых ферментов. Особого внимания заслуживает способность ди-РНК вызывать функциональные изменения в регуляторных системах клетки, зависящих от уровня внутриклеточных концентраций цАМФ и 2—5 олигоаденилата [5].

Сокращение: АД — артериальное давление.

Нами изучались некоторые первичные фармакологические эффекты, развивающиеся в ответ на введение препарата РНК, используемой в виде Ca^{2+} -преципитата РНК.

Материал и методика. Изучалось влияние препарата низкомолекулярной (15—20 оснований) РНК на уровень артериального давления в острых опытах на кошках обоего пола массой от 2,5 до 4 кг с использованием в качестве анестезирующего средства этаминала-натрия (30—40 мг/кг массы внутривенно).

Регистрацию артериального давления в системе бедренной артерии осуществляли с помощью ртутного манометра на кимографе. Раствор препарата РНК приготавливали непосредственно перед введением в организм подопытного животного. Объем вводимого раствора различной концентрации во всех опытах был равен 2 мл.

В отдельной серии экспериментов изучено действие РНК на уровень цАМФ и активность фосфодиэстеразы циклической АМФ с помощью радиоизотопных методов исследования [2, 7, 12].

Свежеразделенную аорту крыленка переносили в среду Krebsa-Генселайта, в культивирующей среде добавляли в концентрации 5 мкг/мл среды РНК, переведенную в форму Ca^{2+} -преципитата. В определенные интервалы времени инкубации ткань аорты обрабатывали для определения концентрации цАМФ и цГМФ, содержание которых вычисляли по отношению к суммарному количеству белка.

Определение активности фосфодиэстеразы цАМФ проводили по радиоизотопному методу, описанному в работе [12]. Реакционная смесь в объеме 0,5 мл содержала: 40 мМ трис- HCl pH 8,0; 10 мМ MgCl_2 ; 2,5 мМ 2-меркаптоэтанол; 2×10^5 имп/мин [^3H]цАМФ (1 мкМ); 50 мкг бычьего сывороточного альбумина; 0,2 мМ CaCl_2 ; 20 пМ очищенного кальмодулина, выделенного из мозга быка, и 50 мкл частично очищенной фосфодиэстеразы РНК (из дрожжей) с молекулярной массой 15—20 $\times 10^3$ дальтон добавляли в реакционную смесь в концентрации 0,05 мкг—0,2 мкг.

Кальмодулин был получен из мозга быка по методу, описанному в работе [11]. Концентрацию белка определяли по Ловри [8].

Полученные результаты обработаны с помощью метода вариационной статистики, причем значения P , меньшие 0,05, принимались в качестве показателя статистически достоверной разницы между сравниваемыми величинами.

Результаты и обсуждение. Эксперименты прежде всего позволили выявить наличие у препарата РНК отчетливого гипотензивного действия.

Выявлено, что препарат РНК в дозах 10, 20 и 30 мг/кг после внутривенного введения вызывает выраженное понижение артериального давления (табл. 1).

Таблица 1. Изменение системного АД под влиянием РНК в острых опытах на анестезированных кошках

Доза препарата, мг/кг	Латентный период, мин	Понижение АД, в % от исходного уровня	Продолжительность действия, мин
10		32,4	
n=10	$2,1 \pm 0,02$	$P < 0,001$	$15,1 \pm 0,5$
20		32,5	
n=9	$3,2 \pm 0,15$	$P < 0,001$	$20,1 \pm 1,2$
30		34,9	
n=12	$2,3 \pm 0,2$	$P < 0,01$	$26,1 \pm 1,8$

Обращает на себя внимание то, что увеличение дозы препарата РНК с 10 до 20 и 30 мг/кг массы не сопровождается существенным усилением гипотензивного действия, однако продолжительность действия заметно и статистически достоверно возрастает с $15 \pm 0,5$ мин до $20 \pm 1,2$ мин ($P < 0,05$) при дозе, равной 20 мг/кг, и до $26 \pm 1,8$ мин ($P < 0,05$) при дозе, равной 30 мг/кг.

Как показали результаты проведенных исследований, гипотензивное действие препарата РНК не опосредуется ни холинергическими, ни адренергическими рецепторами, поскольку соответствующие блокаторы рецепторов при предварительном введении (за 5 мин до введения РНК) оказались неспособными уменьшить гипотензивный эффект РНК (табл. 2).

Таблица 2 Изменение систолического АД под влиянием препарата РНК (100 мг/кг) в условиях блокирования холино- и адренорецепторов

Блокатор рецепторов	Понижение АД (в среднем), и % от исходного уровня после введения РНК
1. Атропина сульфат (50 мкг/кг и.в.)	30,3 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,05$
2. Пропранолол (30 мг/кг и.в.)	25,5 $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,05$
3. Фентоламин (10 мг/кг и.в.)	29,2 $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,05$

Таким образом, гипотензивный эффект препарата РНК, по-видимому, опосредуется иным, чем воздействие на холино- или адренорецепторы, механизмами. По всей видимости, в этих эффектах РНК определенную роль играет способность препарата вызывать изменение внутриклеточных концентраций циклических нуклеотидов, в частности, изменение внутриклеточной концентрации цАМФ [2]. Как было ранее нами показано на мышинных фибробластах, препарат ди-РНК не повышал активности аденилатциклазы (в контроле—3485 имп/мин 100 мкг, после воздействия ди-РНК 3116 имп/100 мкг белка), однако в значительной степени подавлял активность фосфодиэстеразы, стимулируемой кальмодулином (в контроле—6582 имп/мин/100 мкг белка, после воздействия ди-РНК—2202 имп/мин/100 мкг белка).

Выявлено, что РНК, в концентрации 5 мкг/мл питательной среды значительно повышала уровень цАМФ в клетках тканей аорты.

Ткани млекопитающих содержат различные типы фосфодиэстераз циклических нуклеотидов, которые имеют различную субклеточную ло-

кализацию и в разной степени активируется Ca^{2+} и кальмодулином. Более того, выявлено, что в тканях кальмодулина активируемые фосфодиэстеразы представлены изоэнзимными формами, активность которых в разной степени зависит от присутствия кальмодулина.

В наших экспериментах мы использовали фосфодиэстеразу из цитозольной фракции сердца цыпленка, которая является Ca^{2+} -кальмодулин активируемым ферментом, обладает высоким сродством к цАМФ.

Эта фосфодиэстераза выделяется в виде одной единственной гомогенной фракции при хроматографии на ДЕАЕ-сефацэле [13].

Определение активности фосфодиэстеразы цАМФ в присутствии РНК показало, что РНК подавляла Ca^{2+} -кальмодулин-зависимую активацию фосфодиэстеразы и не влияла на неактивированную форму фосфодиэстеразы. Можно допустить, что данный механизм также вовлечен в процесс индукции повышения РНК уровня цАМФ в течение первых 1,0—2,5 мин. воздействия. Одновременно наблюдались постепенное нарастание включения экстрацеллюлярного Ca^{2+} в клетки эндотелия аорты, активация фосфолипазы A_2 , высвобождение лизолецитинов, активация гуанил-циклазы и повышение уровня цГМФ.

Аналогичный комплекс биохимических изменений индуцируют нуклеиновые кислоты, связываясь с поверхностью плазматической мембраны нейтрофилов [3].

Таким образом, на основании полученных результатов можно заключить, что гипотензивное действие РНК не опосредуется холин- или адреноренепторами сосудов и, по-видимому, по крайней мере частично обусловлено ингибированием активности фосфодиэстеразы с возможным увеличением внутриклеточных концентраций цАМФ и цГМФ.

Следует отметить, что Ca^{2+} -преципитат ДНК также обладает гипотензивным действием, хотя и менее выраженным.

ЛИТЕРАТУРА

1. Захарян Р. А., Бакунц К. А., Скобелева Н. А. Нейрохимия, 8, 1, 34—38, 1989.
2. Захарян Р. А., Рычков Г. Е., Дадалян С. С., Бакунц К. А., Агабалян А. С., Агапетян С. Н. Нейрохимия 5, 3, 239—247, 1986.
3. Захарян Р. А., Рухлян Л. А. Докл. Акад. наук СССР, 302, 6, 1498—1500, 1988.
4. Карагезян К. Г., Захарян Р. А., Овсакмян С. С. Биол. ж. Армении, 40, 12, 979—985, 1987.
5. Северин Е. С. Гез. докл. XVI конф. ФЭБО, с. 23, 1984.
6. Henn L., Johnson A. G., J. Immunol. 117, 423—427, 1976.
7. Itkes A. V., Turpin K. G., Kartashova O. W., Vagonis A. J., Kafiant C. A., Severin E. S., Biochem. Int. 5, 1, 15—21, 1982.
8. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall L. J., J. Biol. Chem. 193, 265—275, 1951.
9. Mathe G., Florenzo L., O'sson L., Brutty M., Schultz J. Cancer Treat. Rep. 62, 1613—1621, 1978.
10. Ratner L., Wiegand R. E., Forrel P. G., et. al. Biochem. Biophys. Res. Commun. 81, 947, 1978.

11. Sharma R. K., Wang J. H., Adv. Cyclic Nucl. Res. 10, 187—193, 1979.
12. Thompson W. J., Terasaki W. L., Epstein P. M., Strata S., J. Adv. Cycl. Nucl. Res. 10, 69—92, 1979.
13. Volpi M., Shalaji R. I., Epstein P. M., Adregar D. M., Feinstein M. B., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78, 795—799, 1981.

Биолог. журн. Армении, № 1 (47), 1994

УДК 577.352.315+27

АКТИВНОСТЬ TRK СИСТЕМЫ ПОГЛОЩЕНИЯ K^+ У АНАЭРОБНО ВЫРАЩЕННЫХ МУТАНТОВ E. COLI С UNC-ДЕЛЕЦИЕЙ

А. В. ВАСИЛЯН, Е. С. ОГАНДЖАНИЯ, А. А. ТРЧУНЯН

Ереванский госуниверситет, кафедра физиологии растений, кафедра биофизики и лаборатория биофизики субклеточных структур

Показано, что поглощение K^+ у анаэробно выращенных мутантов E. coli с unc-делецией в отсутствие F_1F_0 -АТФазы осуществляется через Trk систему, однако в отличие от предшественника не подавляется с помощью N,N'-дихлорогексикарбодимида и не происходит в обмен на $2H^+$ выводимых из клетки. В то же время АТФазная активность изолированных мембран этих мутантов существенно ниже, чем у предшественника, и в отличие от него не подавляется с помощью ДЦКД и не зависит от концентрации K^+ в среде. АТФазная активность у предшественника подавляется с помощью ДЦКД, но не зависит от концентрации K^+ в среде при анаэробном росте бактерий, в присутствии ингибита. В то же время при таком росте АТФазная активность мутанта с unc-делецией также ниже и не зависит от концентрации K^+ в среде. Сделан вывод о том, что Trk система может работать отдельно и в мутантах в отсутствие F_1F_0 -АТФазы, но не обладает АТФазной активностью.

Ցույց է տրված, որ անաէրոբ աճած E. coli-ի unc-դե-
լեցիայով մուտանտների մոտ K^+ -ի կոնցենտրացիան է Trk համակարգի
միջոցով, սակայն ի տարբերություն իր նախնու, այն չի արգելակվում N,N'-դի-
ցլոհեքսիկարբոդիմիդով (DCCD) և չի իրադրոծվում $2H^+$ դուրս բերվող
 $2H^+$ -ով փոխանակմամբ: Միևնույն ժամանակ այդ մուտանտներից անջատված
մեմբրանների ԱՖՖ-ազային ակտիվությունը շատ փոքր է, բայց նախնիի մոտ, և
ի տարբերություն չի արգելակվում DCCD-ի միջոցով ու կախված չէ միջավայրում
 K^+ -ի կոնցենտրացիայից: Նախնու ԱՖՖ-ազային ակտիվությունը արգելակվում է
DCCD-ի միջոցով, բայց կախված չէ միջավայրում K^+ -ի կոնցենտրացիայից նու-
րապես առկայությամբ բակտերիաների աճման ժամանակ: Միևնույն ժամանակ
այդ աճման դեպքում սոս-դեպոնացիայով մուտանտների մոտ ԱՖՖ-ազային ակտի-
վությունը նույնպես փոքր է և կախված չէ միջավայրում K^+ -ի կոնցենտրացիա-
յից: Ներկայացված է, որ Trk համակարգը կարող է գործել սոսանձին նաև մու-
տանտներում F_1F_0 -ԱՖՖ-ազի րաջակայությամբ, բայց օժտված չէ ԱՖՖ-ազային
ակտիվությամբ:

The K^+ uptake in anaerobically grown E. coli mutants with unc-de-
letion in the absence of the F_1F_0 -ATPase has been shown to be carried
out by the Trk system, but unlike its precursor it is not inhibited by
N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (DCCD) and not exchanged for $2H^+$ ex-
truded from the cell. At the same time, ATPase activity of isolated

membranes from these mutants is too small and not inhibited by DCCD and it does not depend on external K^+ concentration. ATPase activity in *pre ulior* is inhibited by DCCD, but it does not depend on external K^+ concentration upon growth of bacteria in the presence of nitrate. At the same time, upon this growth ATPase activity in the mutants with unc-deletion is small too and does not depend on external K^+ concentration. The Trk system is concluded to can operate separately in mutants in the absence of the F_1F_0 -ATPase, however it has no ATPase activity.

Trk система — АТФазная активность — мутанты с unc-делецией — анаэробно выращенные бактерии.

Большинство бактерий интенсивно накапливает K^+ до высокого градиента этих катионов между клеткой и средой [1, 11—12, 16]. Такое накопление K^+ , необходимого для роста бактерий [1, 16], регуляции тургора клетки [1, 6] и активности ряда ключевых ферментов [1—4, 10], осуществляется посредством соополнотности транспортных систем, одной из которых является так называемая Trk система поглощения K^+ [4, 12, 16]. Эта конститутивная система является K^+ -насосом, который нуждается для проявления своей активности как в электрохимическом протонном градиенте (ΔpH), так и в АТФ [11, 13, 16]. При этом ΔpH служит, скорее всего, движущей силой для транспорта K^+ , а АТФ является аллостерическим регулятором активности этого транспортного белка. Вместе с тем в нашей лаборатории были получены факты, свидетельствующие о том, что Trk система у анаэробно выращенных бактерий может взаимодействовать внутри мембраны с F_1F_0 -АТФазой и формировать суперкомплекс, функционирующий как H^+ - K^+ -насос [1, 10, 11, 14, 15]. Такой насос обменивает $2H^+$ клетки на один K^+ среды и обладает АТФазной активностью, зависящей от концентрации K^+ в среде. Было показано, что ДЦКД-чувствительная АТФазная активность протопластов анаэробно выращенных бактерий существенно возрастает при увеличении концентрации K^+ в среде и такой феномен исчезает при мутациях в *uncA* или *trkA* генах, ведущих к остановке F_1F_0 -АТФазы и Trk системы соответственно [10]. Более того, K^+ -зависимая ДЦКД-чувствительная АТФазная активность обнаруживается также в изолированных мембранах и препаратах F_1F_0 -АТФазы из анаэробно, но не аэробно выращенных бактерий [14—15].

Непосредственное взаимодействие F_1F_0 -АТФазы с Trk системой и их объединение в суперкомплекс, работающий как единый механизм — H^+ - K^+ -насос, представляется достаточно понятным, однако механизм и регуляция такого прямого взаимодействия остаются неясными. К тому же, недавно обнаружены кодирующие Trk систему новые гены, находящиеся в различных участках хромосомы *E. coli* [4], роль которых требует изучения. Нужна ли F_1F_0 -АТФаза для активности Trk системы и определяет ли она АТФазную активность, зависящую от K^+ ? А может Trk система работает самостоятельно и обладает АТФазной активностью?

В настоящей работе сделана попытка найти ответы на поставленные вопросы.

Материал и методика. Бактерии. В работе использовали мутанты *E. coli* с исподеленной (табл. 1), выведенные проф. В. Элстайном в лаборатории молекулярной генетики и клеточной биологии Чикагского университета, США.

Выращивание бактерий. Бактерии выращивали в колбах, залитых питательной средой с глюкозой [5], в течение 9—15 ч при 37°C. В ряде экспериментов для получения бактерий, осуществляющих нитратное дыхание [9], в среду добавляли 10 мМ нитрата натрия. Количество бактерий в единице объема определяли колориметрически и подсчетом колоний после высева суспензии на твердые среды.

Изолирование мембран. Мембраны изолировали путем осмотического лизиса сферопластов, полученных после обработки клеток с помощью лизоцима (Boehringer, Германия), по методу Кэбака [8]. Мембраны бактерий, осуществляющих нитратное дыхание, выделяли по тому же методу и модификации Конингса и Кэбака [9]. Количество белка определяли колориметрически с помощью реагента—биснитронинновой кислоты по методу фирмы «Pierce», США.

Транспорт катионов. Перенос катионов через мембраны бактерий изучали путем определения их активности в среде с помощью ионоселективных электродов. Определение кинетических констант и стехиометрии $H^+ - K^+ - O_2$ не отличалось от ранее описанного [5, 11].

АТФазная активность. Об АТФазной активности судили по высвобождению неорганического фосфата (P_i) после реакции мембран (50—80 м.г) с 5 мМ АТФ-Трис (Sigma, США) в 50 мМ Трис HCl буфере (pH 7.5), содержащем 2.5 мМ сульфата магния и хлористый калий. В случае с мембранами из бактерий, осуществляющих нитратное дыхание, добавляли 10 мМ фермента и 10 мМ нитрата натрия. Реакцию ингибировали введением АТФ и останавливали в отбираемых во времени (через 15 или 30 мин) пробах с помощью 5% ного додецилсульфата натрия (Sigma). P_i определяли спектрофотометрически по методу Норгенсена и Петерсена [7]. Величину ДЦКД-чувствительной АТФазной активности рассчитывали как разность между значениями АТФазной активности в отсутствие и присутствии ДЦКД (Sigma), при этом мембраны инкубировали с реагентом в течение 10—15 мин.

Результаты обрабатывали статистически с определением средней величины и стандартной ошибки

Результаты и обсуждение. Анаэробно выращенные *E. coli* при перенесении в свежую среду с глюкозой и умеренным содержанием K^+ и при положительном осмотическом шоке интенсивно выводят H^+ из клеток с помощью F_1F_0 —АТФазы и накапливают K^+ через Tgk систему. При этом такое поглощение K^+ имеет K_m порядка 2 мМ и непродолжительно во времени. Оно подавляется с помощью ДЦКД. Стехиометрия ДЦКД-чувствительного ионного обмена равна $2H^+ / K^+$ (табл. 2). В отличие от такого характерного для дикого типа [3, 5, 11] и предшественника (табл. 2) поглощения K^+ , анаэробно выращенные мутанты *E. coli* с исподеленной в тех же условиях накапливают K^+ менее интенсивно, поглощение K^+ имеет такую же величину K_m , но не подавляется с помощью ДЦКД (табл. 2). Все это свидетельствует о том, что Tgk система может функционировать в мутантах с исподеленной и что ДЦКД-чувствительность этой системы поглощения K^+ связана с F_1F_0 —АТФазой.

Нами было показано, что АТФазная активность мембран, изолированных из анаэробно выращенных бактерий, зависит от концентрац и

K⁺ в среде [14]. Действительно, как суммарная, так и ДЦКД-чувствительная АТФазная активность изолированных мембран не только дикого типа, но и *trkG* мутанта существенно, почти в 2 раза, возрастает с увеличением концентрации K⁺ в среде от нуля до 100 мМ (табл. 3). И если такая активность определяется F₁F₀-АТФазой, объединенной с Trk системой в суперкомплекс, а не самой Trk системой, то она должна исчезнуть при ипс-делеции, ведущей к отсутствию F₁F₀-АТФазы. Действительно, АТФазная активность мембран из *trkG* мутанта с ипс-делецией существенно ниже, чем у предшественника (табл. 3, ср. *E. coli* TK2685 и *E. coli* FRAG116).

Таблица 1. Характеристика мутантов *E. coli*, использованных в работе

Штамм	Генотип	Литература
TK2076	<i>mal lacZ nadA trp pyrF kdp</i> Δ 3 <i>trkD1</i>	[4]
TK2685	TK 2076 <i>trk392</i>	[4]
FRAG99	<i>lacZ gal kdpABC5 trkD1</i>	[4]
FRAG115	FRAG99 <i>del (unc)</i>	**
FRAG116	FRAG99 <i>trk382 del (ada del</i>	**

* Все штаммы выращены на 1%.

** Штаммы выведены по оп. В. Энгельман и Г. Г. Голосинский, молекулярной генетикой и кинетикой био-опт. Чикиского университета.

Таблица 2. Характеристика поглощения K⁺ и ДЦКД-чувствительности мембран *E. coli* с ипс-делецией

Штамм	Дефективный или отсутствующий белок	Поглощение K ⁺ в среде		Стехиометрия H ⁺ -K ⁺ -насоса, чувствительного к ДЦКД, 0.5 мМ
		K _{0.5} (мМ)	ДЦКД-чувствительность	

TK2076	предшественник	2.1	+	2.0±0.1*
TK2685	TrkG	2.1	+	2.0±0.1
FRAG115	F ₁ F ₀ -АТФаза	2.9	—	—

* Из трех экспериментов.

Таблица 3. АТФазная активность изолированных мембран анаэробно выращенных мутантов *E. coli* с ипс-делецией при различных концентрациях K⁺

Штамм	Дефективный или отсутствующий белок	Концентрация K ⁺ в среде, мМ	АТФазная активность, мМоль Ф _H /мг белка суммарная	ДЦКД-чувствительная
TK2685	TrkG	0	57.8±1.4*	29.7±0.3 (100%)
		5	74.0±3.2	40.3±0.3 (136%)
		100	90.0±3.2	56.3±0.9 (190%)
FRAG116	TrkG	0	12.6±0.4	1.5±0.8
	F ₁ F ₀ -АТФаза	5	11.2±0.4	0.0±0.2
		100	14.9±1.0	0.4±0.2

* Из трех экспериментов.

Такая низкая АТФазная активность незначительно возрастает с увеличением концентрации K^+ в среде и не чувствительна к ДЦКД. Эти данные указывают на то, что, во-первых, K^+ -зависимая и ДЦКД-чувствительная АТФазная активность определяется F_1F_0 -АТФазой и, во-вторых, сама Tgk система не обладает АТФазной активностью.

Обсуждение результатов, полученных при анализе мутантов бактерий, всегда связано с определенными трудностями. Поэтому было бы правильнее также показать, что, по предположению [3] отдельно работающая Tgk система в *E. coli*, осуществляющих нитратное дыхание, не обладает АТФазной активностью. На самом деле, АТФазная активность мембран бактерий, выращенных в присутствии нитрата натрия, имеет такое же значение, как и АТФазная активность мембран из анаэробно выращенных бактерий, осуществляющих гетероферментативное молочнокислое брожение. Однако как суммарная, так и ДЦКД-чувствительная АТФазная активность не зависит от концентрации K^+ в среде (табл. 4). Более того, АТФазная активность мембран мутанта с инс-делением, выращенного в присутствии нитрата натрия, значительно ниже и не зависит от концентрации K^+ в среде (табл. 4). Необходимо отметить, что АТФазная активность протопластов анаэробно выращенных бактерий, определенная ранее [10], не зависела от концентрации ионов натрия, так что присутствие последних не сказывается на изучаемом эффекте, и сами ионы натрия не переносятся через Tgk систему [4, 10, 16].

Таблица 4. АТФазная активность изолированных мембран, выращенных в присутствии нитрата натрия мутантов *E. coli* с инс-делением при различных концентрациях K^+

Штамм	Дефектный или отсутствующий белок	Концентрация K^+ в среде, мМ	АТФазная активность, мМоль $ФН$ / мин.зг белка	
			суммарная	ДЦКД-чувствительная
TK2685	TgkG	0	$47.1 \pm 15^*$	32.1 ± 1.6 (100%)
		5	44.5 ± 18	29.5 ± 1.3 (92%)
		100	41.1 ± 12	23.4 ± 1.3 (73%)
FRA0116	TgkG	0	8.3 ± 0.4	0.3 ± 0.1
	F_1F_0 -АТФ-азы	5	8.0 ± 0.4	0.2 ± 0.1
		100	8.0 ± 0.2	0.2 ± 0.1

* Из трех экспериментов.

Таким образом, совокупность результатов указывает на очень важный и принципиальный факт. Tgk система может работать отдельно и анаэробно выращенных бактериях в отсутствие F_1F_0 -АТФазы и не обладает собственной АТФазной активностью. Мы подтверждаем, что ДЦКД-чувствительная АТФазная активность, возрастающая с увеличением концентрации K^+ , определяется F_1F_0 -АТФазой и Tgk системой,

которые могут взаимодействовать друг с другом внутри мембраны и формировать суперкомплекс.

Авторы благодарят проф. В. Эпштейна за выведение мутантов бактерий и проведение части исследований в лаборатории молекулярной генетики и клеточной биологии Чикагского университета, США.

ЛИТЕРАТУРА

1. Грчунян А. А. Биолог. журн. Армении, 40, 267—275, 1987.
2. Грчунян А. А., Оганджанян Е. С. Биотехнология, 1, 11—12, 1992.
3. Bagratyan K. A., Martirosou S. M. FEBS Lett., 146, 249—252, 1989.
4. Dosch D. C., Helmer G. L., Sutton S. H., Salacion F. F., Epstein W. J. Bacteriol., 173, 687—695, 1991.
5. Durgaryan S. S., Martirosou S. M. Bioelectrochem. Bioenerg., 5, 567—573, 1978.
6. Epstein W. FEMS Microbiol. Rev., 49, 63—78, 1986.
7. Jorgensen P., Petersen J. Biochim. Biophys. Acta, 715, 28—47, 1982.
8. Kaback H. R. Meth. Enzymol., 22, 99—120, 1971.
9. Konings W. N., Kaback H. R. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 70, 3375—3381, 1993.
10. Martirosou S. M., Oganjanian E. S., Trehounian A. A. Bioelectrochem. Bioenerg., 19, 353—357, 1983.
11. Martirosou S. M., Trehounian A. A. Bioelectrochem. Bioenerg., 17, 417—425, 1986.
12. Rhoads D. B., Waters F. B., Epstein W. J. Gen. Physiol., 67, 324—341, 1976.
13. Rhoads D. B., Epstein W. J. Biol. Chem., 252, 1394—1401, 1977.
14. Trehounian A. A., Oganjanian E. S. Stud. Biophys., 132, 231—234, 1989.
15. Trehounian A. A., Oganjanian E. S., Miranova G. D. Bioelectrochem. Bioenerg., 27, 363—373, 1992.
16. Walderhaug M. O., Dosch D. C., Epstein W. In: Ion Transport in Prokaryotes B. P. Rosen, S. Silver, eds., 5—130, N. Y., Acad. Press., 1987.

Получено 22 IV 1992

Биолог. журн. Армении, № 1 (47), 1994

УДК 613.63:577.1:18

О ВЗАИМОСВЯЗИ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ЦИНКА С ПАТОГЕНЕЗОМ ЯЗВЕННОГО ПРОЦЕССА

К. Л. ЕРЗНИКЯН, В. А. ТРАПКОВ, С. Л. ГОБЕДЖАНИДЖИ

Научно-практический медицинский центр, Москва

Установлено гастропротективное действие сульфата цинка при экспериментальном ulcerogenesis. Обсуждены механизмы возникновения дефицита цинка в организме. Показана взаимосвязь недостаточности цинка с патогенезом язвенного процесса.

Համախմբված է օրգանիզմի դիսմետաբոլիզմի ազդեցությունը ակտիվացված ստերոիդով ուղեղաբանական փոփոխության և ցինկի պակասի առաջացման մեխանիզմները որոշելիս. ցինկի և տրամադրված փոփոխության փոխադարձ կապը:

The gastroprotective action of zinc sulfate on experimental ulcerogenesis is revealed. The mechanisms of the origin of zinc deficiency in organism are discussed. The correlation of zinc deficit and the pathogenesis of ulcer process is shown.

Язвенный процесс—цинк.

Среди макро- и микроэлементов, оказывающих многообразное регулирующее влияние на процессы жизнедеятельности организма особое внимание привлекает цинк. Входя в состав активных центров более 70 металлоферментов, цинк принимает участие в регуляции таких важнейших биохимических процессов, как метаболизм нуклеиновых кислот, синтез белка, дифференцировка и рост тканей и др. [5]. С недостаточностью цинка в организме связан патогенез ядра заболеваний (энтеропатический акродерматит, гипогонадизм и др.). [12].

В настоящей работе приведены результаты изучения гастропротективного действия цинка и проанализирована на основе результатов наших многолетних исследований возможная роль недостаточности этого биоэлемента в формировании язвенного процесса в слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки.

Материал и методика. Эксперименты проведены на 6-тих беспородных крысах-самцах с массой тела 135—160 г, предварительно в течение 24 ч голодавших в индивидуальных клетках с проволочными полами для предотвращения копрефагии при свободном доступе к питьевой воде. За 60 мин до индукции язвобразования животным внутрижелудочно вводили дистиллированную воду (контрольная группа) и чистые растворы сульфата цинка из расчета 5 мл/кг. Язвенные повреждения в слизистой оболочке желудка вызывали путем внутрижелудочного введения 1 мл 96% этанола [12].

Забой животных осуществляли через 60 мин после введения этанола путем перелозирования медицинского эфира. В изолированные препараты желудка с наложенными на пищевод и привратник лигатурами через шприц вводили 8 мл 2% формалина, после чего их помещали на 10 мин в 2% формалин для фиксации стенки желудка. Препараты желудков раскрывали по большей кривизне. Сузмарную длину язвенных повреждений в железистой части слизистой оболочки желудка измеряли при 8-кратном увеличении с использованием микроскопа МБС—9.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Результаты изучения действия сульфата цинка на индуцированную этанолом язву желудка представлены в таблице.

Противоязвенное действие сульфата цинка на модели этаноловой язвы желудка у крыс

Группа	Кол-во животных	Доза, мг/кг	Суммарная длина повреждений слизистой оболочки желудка, мм	Процент ингибирования
Контроль	10	—	53.2 ± 3.9	—
Сульфат цинка	10	12.5	36.2 ± 4.5	32.0
	10	25	$26.2 \pm 2.8^*$	50.8
	10	50	$7.7 \pm 1.1^{**}$	85.5

Примечание: знаками * и ** отмечены достоверные в соответствии с t-критериями Стьюдента ($p < 0.01$ и $p < 0.001$ соответственно) различия показателей контрольной и опытных групп.

Как видно из таблицы, предварительное внутрижелудочное введение сульфата цинка приводит к существенному зависящему от дозы уменьшению тяжести вызванных эталоном язвенных повреждений.

Ранее нами было установлено, что концентрация цинка в плазме крови в стадии обострения достоверно снижена по сравнению с нормой и этот показатель восстанавливается в стадии ремиссии язвенной болезни. Полученный результат позволил сделать вывод о том, что содержание цинка в плазме крови является параметром, отражающим состояние патологического процесса при ulcerogenezе [3]. Кроме того, проведенные дополнительные исследования [4] по изучению обмена цинка в системе кровь-ткань показали, что в стадии обострения язвенной болезни происходит перераспределение цинка из крови в слизистую гастродуоденальной стенки. Учитывая выраженные ранозаживляющие свойства цинка, следует предположить, что организм мобилизует циркулирующий в крови цинк и перераспределяет его из крови в пораженную ткань слизистой для ускорения рубцевания язвенного дефекта.

Таким образом, в цепочке метаболических нарушений, способствующих в конечном итоге поражению слизистой при ulcerogenezе, одним из факторов может быть недостаток цинка в организме. Дефицит цинка может быть вызван стрессом, алиментарной недостаточностью, нарушением всасывания, низкой активностью N-ацетилтрансферазной системы, гипопротемией.

В этиопатогенезе язвенной болезни важное место отводится фактору стресса, который является одним из пусковых механизмов ulcerogenezа. Вместе с тем у людей, подвергшихся различного рода стрессовым воздействиям, наблюдается снижение содержания цинка в сыворотке крови [5].

Алиментарный дефицит цинка может быть обусловлен как непосредственным ограничением поступления его в организм, так и нарушением всасывания этого элемента из кишечника в кровь. Нарушение всасывания цинка может иметь место уже на стадии «предязвенного состояния» при наличии воспалительного процесса в слизистой, в пользу чего свидетельствуют имеющиеся в литературе данные о снижении содержания цинка в сыворотке крови при хронических гастритах [1] и воспалительных процессах [5].

Дефицит цинка в плазме крови при ulcerogenezе усугубляется, как было показано [2], преимущественно низкой активностью N-ацетилтрансферазной системы, приводящей к избыточному накоплению связывающих и выводящих из крови низкомолекулярных эндо- и экзогенных лигандов. Свой вклад в снижение содержания цинка в плазме крови вносит наблюдаемая при язвенной болезни гипоальбуминемия, поскольку около 50% цинка в плазме крови слабо связано с альбумином и вследствие этого он легко подвержен обмену [9].

Согласно современным представлениям, формирование язвенного процесса обусловлено нарушением равновесия между агрессивными

свойствами желудочного сока, дуоденального содержимого и резистентностью гастродуоденальной стенки. В связи с этим нами были проведены исследования по изучению влияния экзогенного цинка на факторы «агрессии» и «защиты» в гастродуоденальной зоне. Было установлено поливалентное действие микроэлемента на гастродуоденальную систему, выражающееся одновременно в угнетении факторов агрессии (соляной кислоты, пепсина) [6] и стимуляции факторов защиты (слизьеобразование в гастродуоденальной стенке) [7]. Результаты данной серии исследований представлены в таблице.

В пользу взаимосвязи недостаточности цинка с патогенезом язвенного процесса свидетельствуют и полученные Опером с соавт. [11] в эксперименте данные, согласно которым цинк—дефицитная диета приводит к возникновению язвенных повреждений слизистой желудка у крыс. Роль этого биоэлемента, как фактора противоязвенной защиты, подтверждается исследованиями других авторов. Так, показано, что в физиологических концентрациях цинк блокирует выход из базофильных клеток секреторного и воспалительного агента гистамина, участвующего в нарушении целостности гастродуоденальной стенки [10]. Благодаря своему стабилизирующему действию на проницаемость клеточных мембран, цинк препятствует нарушению микрорегуляции, выходу из сосудистого русла другого медиатора воспаления—серотонина и созданию очаговой реакции в участке воспаления слизистой [8]. Выраженное трофическое действие этого биоэлемента, обусловленное главным образом его способностью усиливать скорость эпителизации ткани, также является фактором, способствующим заживлению язв желудка и двенадцатиперстной кишки [9].

Обобщая вышесказанное, можно заключить, что дефицит цинка способствует формированию язвенного процесса в слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки, а его коррекция ускоряет заживление язвенного дефекта.

ЛИТЕРАТУРА

1. Петухова Л. Е. Врач. дело, 9, 3, 67, 1976.
2. Ерзинкян К. Л., Лукашова М. В., Рыбина М. С., Пащенко Л. А., Зотев Е. Ю. В кн. IV Всесоюз. симп. по медицинской энзимологии. Тез. докл. 99—100, Алма-Ата, 1983.
3. Ерзинкян К. Л., Лукашова М. В., Пащенко Л. А., Рыбина М. С., Лытнева Н. В. Совет. эл. медицины, 2, 12—15, 1985.
4. Ерзинкян К. Л., Лукашова М. В., Гобеджашвили С. Д., Трапков В. А., Галаева Е. В. Росейск. мед. журн. 5—12, 14—15, 1992.
5. Рабидь О. С. Вопросы питания, 6, 10—15, 1981.
6. Трапков В. А., Гобеджашвили С. Д., Лукашова М. В., Ерзинкян К. Л. Биол. журн. Армении, 43, 10—11, 915—948, 1990.
7. Трапков В. А., Гобеджашвили С. Д., Лукашова М. В., Ерзинкян К. Л. Журн. эксперим. и клин. медицины, 30, 4, 369—372, 1987.

8. Chuapli M., Zukoshi C. F., Hattler B. G., Stankova L., Montgomery D., Carlson E. G., Ludwig J. C. Trace Element in Human Health and Disease. N. Y., 1, 269—280.
9. Bredman R. M., Anderson R. F., Entine S. M., Herberg S. B. Clinical Chem., 26, 4, 1—476, 1980.
10. Marone J., Finndlay K., Lichtenstein M. J. Pharmacol. exp. ther., 217, 2, 292—295.
11. Oner J., Bor N. M., Onuk E., Oner Z. N. Europ. J. Pharmacol., 70, 244, 1981.
12. Prasad A. C. GRS. Crit. Rev. Clin. Lab. Sci., 8, 1, 1—8, 1977.
13. Wacher W. E. C. Trace Elements in Human Health and Disease. N. Y., 1, 107—112, 1976.
14. Zuccari G., Clavenna G., Sala A. Ener. J. Pharmacol., 187, 19—25, 1990.

Поступило 2, VIII, 1993,

Биолог. журн., Армения № 1, (47), 1991

УДК 582.287.42

ЭКСПРЕСС-МЕТОД БИОМОНИТОРИНГА ЗАГРЯЗНЕННОСТИ
СРЕДЫ

МЕЛИК-ХАЧАТРЯН Дж.

Ереванский государственный университет, кафедра экологии

Загрязненность среды — биомониторинг

В основу биологического мониторинга должны быть положены биологические методы индикации уровня загрязненности окружающей среды. Дурвен биоиндикаторы делит на два типа — «индикаторы аккумуляции» и «индикаторы активного мониторинга». Первые являются индикаторами химического состава среды, вторые — это организмы, с помощью которых можно наблюдать за состоянием окружающей среды. Согласно Дурвену, значение биоиндикации не в измерении параметров среды, а в реакции живых систем на ее воздействие. Поиск индикаторов активного мониторинга или биомониторов и является задачей биологической индикации. Однако универсальных биомониторов не может быть и поэтому поиск должен идти в направлении отбора тест-организмов для индикации отдельных элементов и токсических соединений в воде, воздухе и почве.

В связи с возрастающей необходимостью развертывания научных исследований по изучению степени загрязненности окружающей среды и разработке мероприятий по ее очистке предложен новый метод индикации степени загрязненности среды с использованием в качестве тест-объекта мицелиальных культур шляпочных грибов.

В качестве биомониторов могут служить самые разнообразные организмы — водоросли, хвощи, лишайники, голосеменные, покрытосеменные, грибы, простейшие, черви и т. д., но наш выбор пал на базидиальные макромицеты, ибо биоиндикационной способности грибов (в том числе и шляпочных) способствует осмотрофный способ питания с помощью мицелия, обеспечивающего более тесный контакт с химическим составом субстрата.

Предлагаемый экспресс-метод технически не сложен, основан на инокуляции исследуемой среды мицелиальной культурой шляпочного гриба и дальнейшем наблюдении за развитием колоний и их морфологических характеристик. Метод основан на факте наличия аккумулирующей способности шляпочных грибов в отношении целого ряда минеральных соединений и особенно тяжелых металлов. Он может быть применен как в отношении воды, так и воздуха.

Экспресс-метод для выявления степени загрязненности водной среды заключается в следующем: объектом исследования являются водные пробы различных водоемов; тест-объектами—мицелиальные культуры шляпочных грибов.

Состав и приготовление сред, на которых выращиваются грибы следующие: 1. голодный агар (контроль): агар растопить в дистиллированной воде, из расчета на 1 л воды 20 г агара; 2. сусло-агар (контроль): взять на 1 л среды 200 мл пивного сусла (неохмеленного), 800 мл дистиллированной воды и 20 г агара; 3. водная проба-агар: агар растопить в водной пробе; расчет тот же, что и при голодном агаре; 4. водная проба-сусло-агар: расчет тот же, что и при сусло-агаре, но вместо дистиллированной воды берется водная проба.

Далее среды разливаются в чашки Петри и проходят контрольный срок (2 дня в термостате). На третий день инокулируются грибом и закладываются в термостат при температуре, равной 24° — 26° , на 15 дней. В течение этого срока ведутся наблюдения за развитием колоний гриба. Исследуются следующие параметры: лаг-фаза, радиальная скорость роста (или линейная скорость роста), морфологические типы колоний гриба, их диаметры.

Экспресс-метод по выявлению загрязненности воздуха выхлопными газами или другими токсическими промышленными выбросами отличается от предыдущего тем, что проводится не инокуляция среды, а используется готовая, полученная в стерильных условиях культура гриба, подвергающаяся воздействию загрязненной среды. Далее наблюдения ведутся по той же схеме.

При подборе тест-организмов следует учесть аккумулирующую способность шляпочного гриба к данному элементу. Экспериментатор должен располагать коллекцией активных штаммов, при наличии которых применение предлагаемого метода значительно упрощается. Активность штаммов можно проверить в лабораторных условиях выращиванием культур грибов на питательных средах (твердых и жидких) с добавлением загрязнителей—элементов эмиссии.

Данная разработка изучения эмиссии окружающей среды характеризуется рядом положительных сторон: 1. краткосрочность получения результатов; 2. впервые предлагается не изучение химического состава плодовых тел, растущих в зоне эмиссии, а культуральный мицелий, использующийся в качестве индикатора активного мониторинга; 3. выбор культурального мицелия оправдан сущностью самого грибного организма, осуществляющего питание осмотрофным путем, и тем самым получением более достоверных результатов аккумуляции и более наглядных признаков воздействия среды на морфологию; 4. при использовании культурального мицелия возможно создание модели среды, с включением интересующих элементов эмиссии; 5. определение загрязненности среды можно осуществлять постоянно, а не только в период вегетации.

ԹՈՒՆԱՔԻՄԻԿԱՏՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳՅՈՒՂԱԿԱՆ ԲՆԱԿԶՈՒԹՅԱՆ ԱՌՈՂՋՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ

Պ. Հ. ՐԱԿԱՅԱՆ, Հ. Շ. ՀԱՄԲԱՐՋՈՒՄՅԱՆ, Գ. Վ. ԴԵՐՈՑԱՆ

**ԵՐԼԱՆԻ ՎԵՍՏԱՎԱՆԸ ԲԺՇԿԱԿԱՆ ԻՆՏԵՐԻՏԵՒՈՒՄ, ՍՐԵՖԻԼԱՅԻՆ ՃԻԳԻՆԵՆՇԵՐԻ ԱՄԲԻՈՆ
ԳԻՏԱ-ԲԺՇԿԱԿԱՆ ԵՆՖՈՐՄԱԳԻՄԱՅԻ ՐԱԺԻՆ**

ԹԵՄԱՏԻԿԱՏՆԵՐ-ԱՊՏՈՒՄՆԵՐԻ ՈՐՅԱՆ-ԳՅՈՒՂԱԿԱՆ ԲՆԱԿԶՈՒԹՅԱՆ-ԱՌՈՂՋՈՒԹՅԱՆ ՎԻՃԱԿ

Թունաքիմիկատները լայն կիրառում են դոսի դյուղատնտեսության մեջ՝ տարբերություն այլ քիմիական նյութերի թունաքիմիկատները արտարին միջավայր են մտցվում կանխամտածված և մեծ քանակներով։ Այդ բանը ռեալ հնարավորություն է ստեղծում արտաքին միջավայրի օրգանիզմներում նրանց լայն շրջանառության, որն իր հերթին, շնագած ձևեր առնված կախարհային միջոցառումներին, բերում է օդի, ջրի, հողի և սննդամթերքի աղտոտման։ Այսպիսով, թունաքիմիկատները կարող են ներթափանցել և կուտակվել ոչ միայն նրանց հետ աշխատողներին, այլև թունաքիմիկատների հետ սլոտֆե-սիոնալ շփում չունեցողների օրդանիզմում, պատճառ դառնալով սուր և խրո-նիկ թունավորումներին։

Արտաքին միջավայրի թունաքիմիկատներով ռեալ աղտոտվածության փոսնդավորությունը զննահատկություն և իրանդ անվնաս օգտագործումն ապա-հովող միջոցառումներ ձեռնարկելու համար անհրաժեշտ է իմանալ թե ի՞նչ փոփոխություններ են տեղի ունենում բնականության փոփոխության վիճակի մեջ, կախված արտաքին միջավայրի թունաքիմիկատներով աղտոտվածության ա-ստիճանից [2]։ Այս տեսանկյունից կարևոր նշանակություն է ձևեր բերում թունաքիմիկատների ինտենսիվ օգտագործման վարկերում ապրող բնակչու-թյան առողջական վիճակի հետազոտությունը։ Սակայն այս տիպի աշխա-տանքներ ընդ կան, եղածներն էլ բնորոշվում են միայն մասնակի հարցե-րին։ Ուսումնասիրվել են այս կամ այն թունաքիմիկատի, կամ նրանց խմբերի ազդեցությունը առողջական վիճակի առանձին ցուցանիշներին, ամենից հա-ճախ՝ հիվանդացության վրա [4, 6, 7]։ Համալիր աշխատանքներ չեն կա-տարվել, մինչդեռ դրանց անհրաժեշտությունը ակնհայտ է մանավանդ այն-պիսի ռեգիոնի համար ինչպիսին Հայաստանն է։ Թունաքիմիկատների տա-րածքային ծանրաբեռնվածությունը Արարատյան դաշտավայրի շրջաններում գերազանցում է միջին միութենական մակարդակը ավելի քան 20 անգամ։

Ներկա աշխատանքի նպատակն է տալ Հայաստանի գյուղական բնակչու-թյան առողջական վիճակի հիդրենիկ դնահատկանք կապված հանրապետու-թյան գյուղատնտեսության մեջ թունաքիմիկատների կիրառման մակար-դակից։

Նյութ և մեթոդ։ Կատարված է հետադարձ և անմիջական դիտարկման բնույթի համաճարակագիտական հետազոտություն, որն ընդգրկում է 1980 — 1988 թթ.։

Ուսումնասիրված են հանրապետության գյուղական բնակչության առող-ջական վիճակի հիմնական ցուցանիշները (ծնելիություն, մահացություն, բնական աճ, ֆիզիկական զարգացում, հիվանդացություն)։ Առողջական վի-

ճակի հետադոտությունը կատարված է ընդհանուր ժամանակակից մեթոդներով [2, 3, 5,]: Ընդգրկված է հանրապետության շրջանների ողջ գյուղական բնակչությունը, որը հետադոտման տարիներին կազմել է 983004—1021979 մարդ: Վիճակագրական մշակման է ենթարկվել 48744 ռոմշկական վկայական մահվան փաստեր: Օրենսդրության ֆիզիկական զարգացման հետադոտությունը ընդգրկում է 11046 Նորածին և 6367՝ 1—14 տարեկան երեխա:

Արտաքին միջավայրի օբյեկտների և սննդամթերքի թունաքիմիկատներով աղտոտվածությունը հաշվարկվել է 69793 նմուշների լաբորատոր հետադոտության տվյալների հիման վրա: Ծծկեր երեխաների օրգանիզմ թափանցած թունաքիմիկատների քանակը որոշելու համար կատարված է մայրական կաթի 545 նմուշի հետադոտություն:

Բնակչության առողջական դիմադրության կապը թունաքիմիկատների ծախսի հետ ուսումնասիրված է կոուլտուրայի, սեզոնային և դիտարկման վերլուծության հանրահայտ մեթոդներով [7, 9,]:

Արդյունքներ և լինություն: Հետազոտված բոլոր միջավայրերում (օդ, հող, ջուր, սննդամթերքներ) նմուշների 10,1%-ում հայտնաբերվել են թունաքիմիկատների մնացորդային քանակներ, իսկ 2,6%-ում նրանք պերագանցել են սահմանային թույլատրելի քանակներին (ՄԹՔ): Հողի նմուշներում գտնվել է 16,3 և 0,6%, խմելու ջրում՝ 0,5 և 0,6, մակերեսային ջրային օբյեկտում՝ 1,5 և 0,7, բուսական սննդամթերքներում՝ 5,2 և 0,5, կենդանական ծագման սննդամթերքներում 16,8 և 5,5% համապատասխանաբար: Մթնոլորտային օդի մաշվելի 1,4%-ում հայտնաբերվել են թունաքիմիկատների մնացորդային քանակներ, որոնք սակայն չեն գերազանցել ՄԹՔ-ին: Այս տվյալները ցույց են տալիս, որ թունաքիմիկատների օրգանիզմ ներմուծման հիմնական աղբյուրը բուսական և կենդանական ծագման սննդամթերքներն են: Չնայած սակայն հետ օրգանիզմ թափանցած թունաքիմիկատների միջին օրական դոզարային քանակները բարձր չեն (0,002 միլիգ և 0,008 միլիգ քաշին) և պոտենցիալ վտանգավորության ինդեքսները մեկից փոքր են (0,06—0,25), սակայն ոչ հազվադեպ հանդիպող նյութային առավելագույն քանակներով հաշվարկված ինդեքսները (1,5—3,8) ցույց են տալիս օրգանիզմ թափանցած թունաքիմիկատների պոտենցիալ վտանգավորությունը առողջության համար: Հաշվի պետք է առնել և, որ պոտենցիալ վտանգը զգալի չափով մեծանում է, քանի որ իշխող թունաքիմիկատների մեջ կան նյութեր, որոնց համատեղ առկայությունը կարող է առաջացնել առավելագույն էֆեկտ, որը այս տեսանկյունով շատ քիչ է ուսումնասիրված:

Հետադոտությունը ցույց տվեց, որ կերակրող մայրերի կաթի 545 նմուշի 71,7—92,3%-ը պարունակում է 0,09—0,32 միլիգ ԴԴՏ: Այդ կաթի հետ ըստ հաշվարկների նորածին օրգանիզմ կարող է թափանցել 0,01—0,4 միլիգ քաշին ԴԴՏ, որը բարձր է թույլատրելի քանակներից 2,3—8,4 անգամ: Հետադոտվում է արտաքին միջավայրի օբյեկտների և սննդամթերքի աղտոտվածության, մարդկանց օրգանիզմ նրանց թափանցելու և կուտակվելու ստացված ցուցանիշների կապը թունաքիմիկատների ծախսի մակարդակի հետ: Բացահայտված է, որ այդ կապը դրական է, վիճակագրորեն հավաստի, մեծ մասամբ ուժեղ: Այս բոլորը թույլ է տալիս թունաքիմիկատների վտանգավորության չափանիշ ընդունել նրանց ծախսի մակարդակը: Սակայն թունաքիմիկատների ծախսը մենք հաշվարկել ենք ոչ թե կշռային միավորներով, որ

չի արտացոլում նրանց վտանգավորության աստիճանը, այլ պայմանական թունաքանական միավորներով, որոնք ստացվել են հաշվի առնելով թունաքիմիկատների տոքսիկությունը, կայունությունը, ցնդելիությունը, կոմուլյացիոն հասկությունները [1]։

Բնակչության առողջական վիճակի և թունաքիմիկատների ծախսի մակարդակի մեջ հայտնաբերված կապի վերլուծությունը բացահայտեց թունաքիմիկատների բացասական ազդեցությունը բնակչության սանիտարա-մոլդովրդագրական դեմոգրաֆիկ, ֆիզիկական վարդաքման և հիվանդացության ցուցանիշների վրա։

Թունաքիմիկատների բացասական ազդեցությունը քնակչության հասակային կազմի վրա արտահայտվում է 0—14 տարեկան երիտասարդ տեսակարար կշռի նվազումով և մեծահասակների տոկոսի բարձրացումով։ Բնակչության ծերացման պրոցեսը փորձնական դոսիներում ավելի ցատուկ է արտահայտվում քան ստույգից դոսիներում։ Երիտասարդ տեսակարար կշռի իջեցման պատճառներից մեկը հանդիսանում է պտղաբերության գործակցի իջեցումը փորձնական դոսիներում, որն ըստ երևույթին բացատրվում է թունաքիմիկատների էմբրիոտոքսիկ ազդեցությամբ։

Բացահայտված է թունաքիմիկատների բացասական ազդեցությունը քնակչության բնական աճի ցուցանիշների վրա։ Թունաքիմիկատների ծախսի հետ ուղղակի կոռելյացիում են դիտարկվում մահացության, հիվանդության և բնական աճի ցուցանիշները։ Դառնելի ակնուրույն է, որ ծախսի հետ համեմատում ենք ծնելիություն-մահացություն ինդեքսների դիմադրական։

Վիճակագրական մշակման է ենթարկված 48744 բժշկական վիճակագրական մահվան մասին, որի հիման վրա ստացված են հանրապետության բոլոր շրջանների և ղիտարվման դոսիների քնակչության մահացության ստանդարտիվացված գործակիցները մահվան պատճառ հանդիսացող հիվանդությունների 17 դասերի և 185 առանձին հիվանդությունների համար։ Ստացված տվյալների համադրումը թունաքիմիկատների կիրառման մակարդակների հետ ցույց է տալիս, որ ղեպերի 64,7%-ում այս ցուցանիշների միջև կա ուղղակի կոռելյացիոն կապ, որը 21,3%-ում էական է։ Այդպիսի կապ է հայտնաբերված ինչպես 0—14 տարեկան երիտասարդ տեսակարար կշռի և մեծահասակների մահացության գործակիցների հետ, ինչպես ընդհանուր մահացություն, այնպես էլ մահվան պատճառ հանդիսացող առանձին հիվանդությունների համար։ Մահացության գործակիցները ուղղակի կոռելյացիում են ամենից հաճախ նիտրոֆենոլների, ծծմբի պրեպարատների, ֆոսֆորոզանական թունաքիմիկատների ծախսի մակարդակի հետ։

Երեխաների ֆիզիկական զարգացման վիճակը ուսումնասիրված է հանրապետության 312 գյուղերի 11046 երեխաների, փորձնական գոտու 2172 երեխաների և 1—14 տարեկան 4195 երեխաների անտրոպոմետրիկ տրվյալների վիճակագրական մշակման միջոցով։ Վերլուծման մասնակ հաշվի է առնված քնակավայրերի աշխարհագրական, բնակլիմայական պայմանները, երեխաների ծնվելու հերթականության, նրանց բնատնիքների տնտեսական, կենցաղային և այլ հարցեր։ Տարբերակված մոտեցում է ցույց տրվել թունաքիմիկատների հետ ծնողների շփման հարցին։ Տվյալների վերլուծությունը ցույց է տալիս, որ թունաքիմիկատների հետ շփում ունեցող ծնողների երեխաների ֆիզիկական զարգացման ցուցանիշները (հասակ, մարմնի

մասան, կրծքի վանդակի շրջադիրք) դիջում են այն նորածինների համա-
նուն ցուցանիշներին, որոնց ծնողները շփում չեն ունեցել թունաքիմիկատ-
ների հետ: Այս տարբերությունը ավելի նկատելի է այն դեպքում, երբ ծնող-
ներից երկուսն էլ շփվել են թունաքիմիկատների հետ:

Հատուկ մշակման է ենթարկվել այն երեխաների (նորածինների) ֆիզի-
կական զարգացման ցուցանիշները, որոնց մոր կաթում հայտնաբերվել է
ԴԴՏ: Այն նորածինները, որոնց մոր կաթում ԴԴՏ չի հայտնաբերվել ֆիզի-
կական զարգացման ցուցանիշներով պերազանցում են ԴԴՏ պարունակող
կաթով (մայրակա) սնվող նորածինների ցուցանիշներին: Նորածինների ֆի-
զիկական զարգացման ցուցանիշների և նրանց մայրերի կաթում ԴԴՏ-ի
մնացորդային քանակների միջև հայտնաբերված է հսկայադարձ կոռելյացիոն
կապ՝ որքան բարձր է ԴԴՏ-ի պարունակությունը մոր կաթում, այնքան ցածր
է երեխաների թե՛ անտրոպոմետրիկ ցուցանիշները, և թե՛ ֆիզիկական զար-
գացման ընդհանուր զնաճատականը: Թունաքիմիկատների հետ մասնագի-
տական շփում ունեցող ծնողների և կաթում ԴԴՏ պարունակող մայրերի երե-
խաների ֆիզիկական զարգացման վատթարացումը ըստ երևույթին հան-
դիսանում է թունաքիմիկատների էմբրիոտոքսիկ ազդեցության հետևանք:

Հայտնի է, որ թունաքիմիկատների բացասական ազդեցությունը որոշա-
կի չափով կասկած է շրջակա միջավայրում առկա նրանց քանակներից, որը
հաստատվում է մեր հետազոտության տվյալներով: Նորածինների ֆիզիկա-
կան զարգացման ցուցանիշները հսկայադարձ կոռելյացվում են թունաքիմի-
կատների ծախսի մակարդակի հետ:

Անտրոպոմետրիկ ցուցանիշների համար կապի ուժը միջին է (r =
0,384-ից մինչև -0,595) ֆիզիկական զարգացման ընդհանուր զնաճատա-
կանի համար՝ ուժեղ (r = -0,706): Դիտարկման ստուգիչ գոտիների և տե-
ղամասերի խմբերում փորձնականի հետ համեմատած բարձր են նորածին-
ների անտրոպոմետրիկ ցուցանիշները:

Ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ թունաքիմիկատները բացա-
սական են ազդում ոչ միայն երեխաների առանձին անտրոպոմետրիկ ցու-
ցանիշներին, այլ նաև ընդհանուր ֆիզիկական զարգացման վրա: Այդ ազդե-
ցությունը հատկապես արտահայտված է նորածնության շրջանում, ուստի
թունաքիմիկատների բացասական ազդեցությունը ընդորոշող ցուցանիշների
համակարգ պետք է մտցնել նորածինների ֆիզիկական զարգացումը:

Հիվանդացության ստանդարտացված գործակիցների և թունաքիմիկատ-
ների ծախսի մակարդակի միջև հայտնաբերվել է տարբեր ուժերի ուղղակի
կոռելյացիոն կապ (r = 0,405 մինչև 0,703): Կապի միաշափ և բազմաշափ
վերլուծությունը ցույց տվեց, որ հիվանդացության մակարդակը բարձր է
փորձնական դոտիններում: Բացահայտված են այն հիվանդությունները,
որոնցով հիվանդանալու համար թունաքիմիկատների ազդեցությունը հա-
վաստի է և ըստ տարիքային խմբերի այդ հիվանդությունները պետք է
մտցնել թունաքիմիկատների բացասական ազդեցությունը բնորոշող ցուցա-
նիշների մեջ:

Աշխատանքը հնարավորություն տվեց նաև հաշվարկել հիվանդացության
մակարդակի փոփոխությունը կապված թունաքիմիկատների ծախսի փոփոխ-
ման հետ և զրա հիման վրա որոշել թունաքիմիկատների ծախսի տարբերակ-
ված իջեցման անհրաժեշտ չափը:

Աշխատանքի ընթացքում կատարվել են սանիտարական հետազոտություններ, ուսումնասիրվել է թունաքիմիկատների ստացման, փոխադրման, բաց թողնման և օգտագործման պայմանները: Աշխատանքից բխող բազմաթիվ հանձնարարականներ են ուղարկվել ՀՀ առողջապահության նախարարության, բնության պահպանության պետական կոմիտեն և պետազորոսարդ:

ЛИТЕРАТУРА

1. Амбарцумян Г. Ш. Способ определения размеров расхода пестицидов в условных единицах (Метод, рекомендации), Ереван, 1980.
2. Антонович Е. А. и др. Изучение воздействия пестицидов и регуляторов роста растений на состояние здоровья населения: метод. рекомендации, Киев, 1985.
3. Буштырева К. А., Случанко Н. С. Методы и критерии оценки состояния здоровья населения в связи с загрязнением окружающей среды, М., 1979.
4. Изучение состояния здоровья населения в районах с высоким и низким уровнем расхода пестицидов: Отчет о НИР, ВНИИГИНТОКС: Руководитель В. И. Польшченко — (закл. докл.), — Инв. № Б 610287:—1975:
5. Кажинский Л. С. Статистическая обработка лабораторных и клинических данных, Л., 1964.
6. Комаров Ю. М., Иванова И. Т. Советское здравоохранение. 5. 21—25, 1977.
7. Лакис Г. Ф. Биометрия, М., 1980.
8. Медведь Л. И. и др. Гигиена и санитария. 2. 12—14, 1981.
9. Мерков А. М., Поляков Л. Е. Санитарная статистика, Л., 1974.
10. Польшченко В. И. и др. Всесоюзная науч. конференция «Современные вопросы токсикологии и гигиены применения пестицидов и полимерных материалов». 7-я: Тезисы докладов, ВНИИГИНТОКС.—Киев, 14—19 сент., 1985. С. 192—193.

Удостоверено 27 XII 1991 г.

Биолог. журн. Армения. № 3 (46), 1993.

УДК 577.3.08

СПОНТАННАЯ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ ЯДЕРНЫХ МЕМБРАН ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ 17 β -ЭСТРАДИОЛА И ГИДРОКОРТИЗОНА

А. Е. ЗАКАРЯН, Г. А. ПОГОСЯН, А. Р. ЦАГИКЯН, Г. А. ПЛАСЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии

Стероидные гормоны—хемилюминесценция—ядерная мембрана.

В работе представлены результаты изучения спонтанной ХЛ ядерных мембран печени крыс при действии 17 β -эстрадиола и гидрокортизона.

Материал и методика. Опыты проводили на белых беспородных крысах «боего» пола массой 120—150 г. 17 β -эстрадиол и гидрокортизон («Sigma», США), растворенные в этиленгликоле, вводили внутривенно с расчетом 107 и 5 мкг на 100 г мас-

Сокращения: ХЛ—хемилюминесценция.

сы животного соответственно. Животных забивали через 4 ч после введения торчсид. Ядра пз печени выделяли по методу Блобеля и Поттера [5]. Препараты ядерных мембран получали по методу, сочетающему ДНКазную обработку [4] с осмотическим шоком [6]. Белок определяли по методу Лоури [7].

Спонтанную ХЛ ядерных мембран и других фракций регистрировали на собранной нами нестандартной установке [2]. Для исключения дрейфа параметров последней в целях стандартизации условий в каждой серии экспериментов измеряли ХЛ нормальных и опытных образцов. Статистическую обработку полученных результатов проводили на персональной ЭВМ типа «Микроша» по разработанной нами программе.

Результаты и обсуждение. Предварительное сравнительное изучение спонтанной ХЛ различных клеточных структур—ядерных мембран, ядерного матрикса, супернатантов гомогената печени и мозга интактных крыс—показало, что названные клеточные структуры, в идентичных условиях регистрации, обладают разной интенсивностью ХЛ. Разный уровень свободнорадикальных процессов в указанных фракциях, естественно, обусловлен неодинаковым содержанием и качеством липидных и фосфолипидных компонентов в исследуемых образцах. Однако не исключено и наличие в содержании природных антиоксидантов, ингибирующих реакции ХЛ. Полученные данные не противоречат общезвестным в литературе.

В опытах с введением гормонов установлено, что интенсивность сигнала спонтанной ХЛ в исследуемых образцах изменяется. Предварительные данные о влиянии указанных гормонов в условиях *in vivo* свидетельствуют о том, что после введения в ядерных мембранах гепатоцитов происходит многократное увеличение интенсивности спонтанной ХЛ. При этом эстрадиол приводит к увеличению интенсивности ХЛ в начальной стадии реакции, затем интенсивность резко падает. В опытах же с гидрокортизоном выявлена несколько меньшая интенсивность начальной стадии свечения, хотя общая светотучность почти одинакова. Эти данные полностью совпадают с нашими данными о перекисном окислении липидов в аналогичных условиях.

Падение интенсивности свечения, по нашим данным, обусловлено расходом атмосферного кислорода в измерительной камере. Подтверждение тому—некоторое восстановление интенсивности измеряемой ХЛ после встряхивания камеры или продувания воздуха. Установлено также, что этиленгликоль по сравнению с бюкконтролем несколько усиливает ХЛ, однако в пределах статистической ошибки.

Аналогичные эксперименты не выявили заметной разницы в уровне наблюдаемой ХЛ в ядерном матриксе.

Исследовалось также действие гидрокортизона и эстрадиола на препараты ядерных мембран в условиях *in vitro*, т. е. при непосредственном добавлении их в измерительную камеру перед регистрацией ХЛ. В этих опытах получены противоположные результаты. Гидрокортизон влияет на ХЛ, незначительно снижая ее интенсивность только в пределах ошибки опытов. Эстрадиол приводит к снижению уровня ХЛ на 30%. Эти данные хорошо согласуются с литературными, поскольку известно, что стероидные гормоны являются антиоксидантами [1, 3, 8, 9].

Таким образом, можно констатировать способность ядерных мембран гепатоцитов вызывать спонтанную ХЛ. Стероидные гормоны—17 β -эстрадиол и гидрокортизон—в условиях *in vivo* вызывают интенсификацию спонтанного свечения ядерных мембран. Такой активирующий ХЛ эффект, по нашему мнению, обусловлен изменением липидного состава ядерных мембран после активации геном указанными гормонами. Об этом же свидетельствует наблюдаемое нами усиление реакций перекисного окисления липидов, что в данной работе не обсуждается. Обратное влияние исследуемых стероидов в условиях *in vivo* связано с экранирующим действием «загрязнений», а также с наличием в этих препаратах эндогенных антиоксидантов в более заметных количествах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гукисва В. М. Канд. дисс., М., 1976.
2. Закарян А. Е., Цасикян А. Р., Погосян Г. А., Пиносян Г. А. Биолог. журн. Арм. ССР, 43, 1, 51—54, 1990.
3. Саксонен Н. П. Радиобиология, 28, 12, 262—264, 1978.
4. Herezny R. D., Funk L. F., Crane F. L. Biochim. et biophys. acta, 243, 5, 531—546, 1970.
5. Bloher G., Frankz V., Science, 134, 76—79, 1966.
6. Glese G., Franke W. Anal. Biochem., 104, 2, 282—288, 1979.
7. Lowry O. H., Rosebrough N. Y., Farr A. L., G. Biochem. J., 191, 1, 265—275, 1951.
8. Nakano M., Sugioka K., Nishi J. Biochim. biophys. Res. Comm. 142, 3, 919—924, 1987.
9. Sugioka K., Shimozakura Y., Nakano M. FEBS Letters, 210, 1, 37—39, 1987.

Поступило 25. VII, 1990 г.

Бюлл. журнал Арч. биол. 44 (7), 1994

УДК 613.63:577.1.18

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ИЗУЧЕНИЯ ВОЗДЕЙСТВИЯ МЕТАЛЛОВ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

К. Л. ЕРЗИНЬЯН

Научно-практический медицинский центр, Москва

Металлы—организм человека.

Неорганические соединения свинца поступают в организм человека через дыхательные пути и пищеварительный тракт, а органические—через кожу и слизистые оболочки, а также с пищей и водой.

Свинцовые интоксикации вызывают энцефалопатии, нарушения кроветворения, эмбрионального развития, желудочно-кишечную патологию [3, 7]. В связи с этим в течение ряда лет нами проводилось изучение обмена макро- и микроэлементов, активности металлофер-

Сокращения: ХСН—хроническая свинцовая интоксикация, ПДК—предельно допустимая концентрация.

ментов, адаптивных и тиреоидных гормонов у лиц, длительное время контактирующих со свинцом на производстве.

При хронической свинцовой интоксикации имеет место нарушение обмена макро- и микроэлементов, играющих важную роль в регуляции процессов жизнедеятельности (табл.) [1]. Ввиду преимущественной локализации свинца в эритроцитах крови (в 16 раз больше, чем в плазме крови) его содержание определялось в цельной крови.

Содержание макро- и микроэлементов в плазме и цельной крови при ХСН [1]

Э.е- мент	Плазма, мг/мл			Цельная кровь, мкг/мл		
	контроль	ХСН	p	контроль	ХСН	p
Pb	—	—	—	$0,31 \pm 0,03$	$0,31 \pm 0,05$	<0,001
Mg	$23,1 \pm 6,2$	$23,1 \pm 3,2$	>0,05	$41,1 \pm 2,0$	$41,9 \pm 4,5$	>0,05
P	$151 \pm 8,3$	$193 \pm 1,4$	<0,01	$325 \pm 15,0$	$382 \pm 14,0$	<0,001
Zn	$1,09 \pm 0,21$	$0,77 \pm 0,05$	<0,001	$3,15 \pm 0,15$	$3,7 \pm 0,59$	<0,001
Cu	$0,91 \pm 0,17$	$0,69 \pm 0,12$	<0,001	$1,02 \pm 0,08$	$0,99 \pm 0,11$	<0,001
S	1527 ± 84	1025 ± 63	<0,001	$1,86 \pm 0,04$	$1,90 \pm 0,08$	<0,001

Примечание: p — уровень значимости различия между ХСН с контролем.

Как видно из таблицы, повышение уровня свинца в цельной крови сопровождается одновременным увеличением содержания фосфора в плазме и цельной крови. Это связано с тем, что попадающий в организм свинец циркулирует в виде высокодисперсных коллоидов фосфата и откладывается главным образом в костной ткани [2], а также в мягких тканях в виде триметаллического фосфата свинца [1]. В условиях насыщения органов и тканей солями свинца имеет место их избыточное поступление в кровь. Наблюдаемое снижение концентрации цинка, меди и серы в плазме и цельной крови обусловлено ослаблением процессов их связывания в кишечнике в кровь вследствие имеющей место при хронической свинцовой интоксикации выраженной атрофии слизистой, понижения активности некоторых кишечных ферментов и гипермоторной дискинезии тонкой кишки. Недостаточность цинка и меди в плазме и цельной крови, кроме того, может быть обусловлена способностью свинца вытеснять эти биоэлементы из активных центров содержащих их ферментов. Об этом свидетельствуют полученные нами данные об уменьшении активности цинксодержащего фермента—щелочной фосфатазы [1] и имеющиеся в литературе сведения о снижении при длительном воздействии свинца активности цинк- и медьсодержащих ферментов—порфибилиногенсинтазы и цитохром-оксидазы [5, 8].

У обследованного контингента, длительное время контактирующего со свинцом, выявлено снижение концентрации тиреоидных гормонов тироксина и трийодтиронина в сыворотке крови, под контролем которых в организме находятся такие важные биохимические процессы, как ме-

габолизм нуклеиновых кислот, синтез белка, дифференцировка и рост тканей. Кроме того, установлено пониженное по сравнению с нормой содержание адаптивных гормонов кортизола и альдостерона в сыворотке крови, свидетельствующее о нарушении механизмов адаптационной защиты [6].

Таким образом, можно заключить, что использование наряду с определением ПДК более углубленных методов анализа при оценке токсического действия металлов (в частности, свинца), заключающихся в выявлении влияния их длительного воздействия на физиологические и биохимические системы организма, установлении взаимосвязей между уровнем накопления и величиной токсического эффекта, позволяет получать более несомную информацию о механизмах токсического действия металлов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ершакян К. Т., Протасова О. В., Максимова И. А., Пещенко Л. А. Журн. эксперим. и клин. медицины, 27, 5, 501—504, Ереван, 1987.
2. Гигиенические критерии состояния окружающей среды, 3. М., 1980.
3. Дикерман А. А. Роль загрязнителей окружающей среды в нарушении эмбрионального развития, М., 1980.
4. Тарасова А. В., Давидова Г. Н. Тр. Ленингр. санитарно-гигиенического института, 75, 207, 1963.
5. Максимова Ю. К. Социальная гигиена и организация здравоохранения, гигиена труда, профессиональная патология, 1, 210—211, Алма-Ата, 1970.
6. Протасова О. В., Максимова И. А., Кравцова В. П. В кн. Эндокринная система организма и факторы внешней среды, 191, Л., 1987.
7. Environmental Lead, N.Y., 1981.
8. Mitchell R. A., Drake J. E., Wittlin L. A. Clin. Chem., 24, 1, 105—112, 1977.

Поступило 2, VIII, 1993 г.

Биолог. журн. Армении № 1 (47), 1991

УДК 58.04.633.11

СОВМЕСТНОЕ ДЕЙСТВИЕ РЕНГЕНОБЛУЧЕНИЯ И ГИББЕРЕЛЛИНА НА НАЧАЛЬНЫЙ РОСТ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

Г. Г. МЕЛЯН

Институт земледелия МСХ Армении, г. Эчмиадзин

Растение пшеницы — рентгеновские лучи — гиббереллин

Индукцированный мутагенез — новый важный источник создания исходного материала в селекции растений. Одним из эффективных приемов экспериментального мутагенеза может стать комбинированное применение физических и химических веществ.

Известны тысячи химических соединений, способных снижать степень радиационного поражения при введении их в растение перед об-

чением, и сотни соединений, оказывающихся эффективными при использовании в пострадиационный период [5].

В литературе имеются сведения о способности ГК модифицировать генетический эффект мутагенных факторов, проявляя при этом радиозащитные [1, 2, 6, 8] и антимутагенные свойства [9]. Показана мутагенная активность ГК на организменном уровне [4, 6].

Поскольку данные о генетической активности весьма противоречивы, мы изучали совместное влияние рентгенооблучения и ГК на начальный рост пшеницы.

Материал и методика. Объектом исследования служили воздушно-сухие семена мягкой пшеницы сорта Армянки 60. Облучение проводили на рентгеновской установке РУМ-11 при силе тока 15 МА, напряжении на трубке 200 кВ, мощности дозы 10 Гр/мин, в дозах 100, 150, 200 Гр. Сразу после облучения семена обрабатывали водопроводной водой в течение 10 мин, проращивали в рулонах из фильтровальной бумаги на полиэтиленовой пленке по методу [3] в термостате при температуре 25°. На 7-й день проращивания подсчитывали число проростков и измеряли их длину. Опыты были поставлены в 3-кратной повторности, по 30 семян в каждом.

Результаты и обсуждение. Результаты всхожести семян, измерения проростков и корешков (наиболее длинного) представлены в таблице. Согласно полученным данным, при облучении семян в дозе 150 Гр всхожесть понижается на 12,2%, а в дозе 200 Гр—27,5% по сравнению с контролем. При пострадиационной обработке 0,01% и 0,005%-ой ГК всхожесть семян, облученных в дозе 200 Гр, не повышается, а в дозе 150 Гр повышается на 6,0 и 3,8% соответственно. В остальных случаях всхожесть семян находится на уровне контроля.

Из таблицы видно, что обработка семян 0,01 и 0,005%-ой ГК вызывает стимуляцию ростовых процессов, причем 0,01%-ая ГК наиболее эффективна. Облучение семян в дозе 150, 200 Гр угнетает рост 7-дневных проростков и корешков, а в дозе 100 Гр не вызывает достоверных отклонений по этим показателям.

При 150 Гр рост проростков по сравнению с контролем снижается на 17,8, рост корешков—на 35,9%, а при дозе 200 Гр соответственно на 37,5 и 65,1%. Видно, что у семян под воздействием рентгенооблучения корешки оказались более чувствительными, чем проростки. Пострадиационная обработка 0,01 и 0,005%-ой ГК семян, облученных в дозе 100, 150 Гр, вызывает стимуляцию роста проростков и корешков, однако стимуляция роста корешков при комбинированном действии рентгенооблучения+0,005%-ная ГК незначительная по сравнению с одним только облучением. Явное угнетение ростовых процессов, наблюдаемое при облучении в дозе 200 Гр, сохраняется и при пострадиационной обработке семян 0,01 и 0,005%-ой ГК.

Таким образом предполагается, что эффективность совместного применения рентгенооблучения и ГК зависит как от дозы облучения, так и от концентрации ГК.

Влияние факторов облучения и ГК на начальный рост 7-дневных растений пшеницы

В а р и а н т ы	Всхожесть	Длина проростков, см ($M \pm m$)	Рост по от- ношению к контролю, %	Достовер- ность, %	Длина корешков, см ($M \pm m$)	Рост по от- ношению к контролю, %	Достовер- ность, %
1. Контроль (вода)	98,5	10,1 $\pm$ 0,3	100,0	—	12,8 $\pm$ 0,4	100,0	—
2. 0,01% ГК	99,2	12,0 $\pm$ 0,4	119,8	3,6	14,5 $\pm$ 0,3	113,3	3,4
3. 0,005% ГК	98,9	11,4 $\pm$ 0,3	112,8	3,1	13,9 $\pm$ 0,3	108,6	2,2
4. 100 Гр	96,3	11,2 $\pm$ 0,4	111,9	2,4	13,0 $\pm$ 0,4	101,5	0,4
5. 100 Гр + 0,01% ГК	98,6	13,1 $\pm$ 0,3	129,7	7,1	14,4 $\pm$ 0,3	112,5	3,2
6. 100 Гр + 0,005% ГК	97,0	12,8 $\pm$ 0,3	126,7	6,4	13,8 $\pm$ 0,3	107,8	2,0
7. 150 Гр	86,3	8,3 $\pm$ 0,3	82,2	4,2	8,2 $\pm$ 0,3	64,1	9,2
8. 150 Гр + 0,01% ГК	92,3	10,2 $\pm$ 0,4	100,9	0,2	10,1 $\pm$ 0,3	81,2	4,8
9. 150 Гр + 0,005% ГК	90,1	9,8 $\pm$ 0,4	97,0	0,6	9,3 $\pm$ 0,3	72,6	7,0
10. 200 Гр	71,0	6,3 $\pm$ 0,3	62,4	9,0	4,6 $\pm$ 0,4	35,9	13,6
11. 200 Гр + 0,01% ГК	70,2	7,0 $\pm$ 0,3	69,3	7,1	5,2 $\pm$ 0,3	40,6	15,2
12. 200 Гр + 0,005% ГК	71,3	6,8 $\pm$ 0,3	67,3	7,8	4,4 $\pm$ 0,3	31,4	13,8

ЛИТЕРАТУРА

1. Авакян В. А., Варданян А. А. В сб.: Генетические последствия загрязнения окружающей среды, Вып. 3. с. 203. М., 1980 г.
2. Авакян В. А. Тез. докл. на заседании секции генетических аспектов проблем «Человек и биосфера» с. 2, Орджоникидзе, 1988.
3. Бабалян Р. О. С.-х. биология, 3, 473—475, 198.
4. Бегларян Н. П. Биол. журн. Армении, 39, 10, 1986.
5. Гудков Н. Н. Клеточные механизмы повреждения и его восстановления растений, 1985.
6. Луженцкая Н. И., Щербиков В. К. Радиобиология, 20, апр., 1, 1980.
7. Таджирян О. Х. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1990.
8. Kumar S., Jindan J. Indi Plant recd. 27, 1, 1967.
9. Mait Singhani V. G., Kumar S. Genetics 74 (Supplement), 1973.

Поступила 10. I. 1992 г.

Биол. журн. Армении, № 1 (47), 1994

UDC 591.1.05

ВЛИЯНИЕ СОЛЕВОГО СТРЕССА НА НАКОПЛЕНИЕ ПРОЛИНА В ВОДОРΟΣЛЯХ *CHLORELLA PYRENOIDOSA*

А. П. ГРИГОРЯН, А. Х. АГАДЖАНИЯН

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

Chlorella pyrenoidosa — солевой стресс — пролин

Причины накопления пролина в стрессовых условиях остаются далеко не установленными. Выявление механизма накопления пролина может внести ясность в различные аспекты вопроса адаптации растений.

Настоящая работа посвящена изучению некоторых сторон биосинтеза и накопления пролина у водорослей *Ch. pyrenoidosa* при выращивании их в нормальной среде роста и в среде, содержащей высокую концентрацию хлористого натрия.

Материал и методики. Объектами исследования служили одноклеточные водоросли *Ch. pyrenoidosa*—82, полученные из Института агрохимических проблем и эволюции НАН Армении. Хлореллу выращивали на аппарате УНВ [2]. В процессе выращивания поддерживали температуру в пределах 28—30°. Культуру продували увлажненным воздухом, содержащим 2—3% CO₂.

Для выращивания хлореллы использовали стандартный раствор минер. Одроживание ферментов биосинтеза пролина проводили по методу, описанному нами ранее [1].

Экстракция свободного пролина и глицината. Для извлечения свободного пролина и глицината хлореллу растирали в ступке с 10-кратным количеством 80% этанола и экстрагировали на водяной бане при 70° в течение 20 мин. Экстракт отделяли от осадка центрифугированием при 4000 об/мин, 10 мин.

Сокращения: АЛК-α-аминолевулиновая кислота.

Определение пролина. Проллин определяли как хроматографически, так и химическим методом. Хроматографическое определение проводили по методу Грабетовой и Тули [13], химическое—по Блюменкратцу [9]. Чувствительность метода составляет 1 мкг. К 1 мл образца добавляли 1 мл индикаторного реагента (3 г индикатора в 180 мл ледяной уксусной кислоты и 20 мл формалина). Смесь кипятили 1 мин при 100° или 4 мин при 75° и охлаждали льдом. В качестве стандарта использовали пролин в концентрации 2 мкг/мл.

Определение глутамата. Глутамат определяли методом бумажной хроматографии—проявлением 0,2%-ным раствором индикатора в этаноле.

Пятна элюировали 5 мл 0,05%-ного C^1Cl_3 в 40%-ном этаноле. Плотность окрашен при определении пролина и глутамата определяли путем фотометрирования на фотокориметре типа КФК—2 с длиной волны 540 мкм.

Результаты и обсуждение. Данные, приведенные в табл. 1, показывают, что в присутствии хлористого натрия накопление пролина у *Ch. pyrenoidosa* по сравнению с контролем увеличивается в 2 раза.

Таблица 1. Влияние некоторых аминокислот на накопление пролина у хлореллы при ее выращивании в среде с хлористым натрием

В а р и а н т ы		Накопление сырой биомассы, мг	Накопление пролина, мкг на 1 г сырого веса
Контроль	—	148	1.41±0.15
NaCl	$4.3 \cdot 10^{-1}$ М	184	2.83±0.35
В присутствии хлористого натрия ($4.34 \cdot 10^{-2}$ М)	L-орн $4.7 \cdot 10^{-3}$ М	229	1.43±0.20
	L-про $6.9 \cdot 10^{-3}$ М	120	6.65±0.61
	α-кг $5.4 \cdot 10^{-3}$ М	113	5.65±0.64
	L-орн, α-кг	164	4.28±0.44
	L-глу $5.4 \cdot 10^{-3}$ М	102	5.46±0.72
В отсутствие хлористого натрия	L-орн $2.3 \cdot 10^{-3}$ М	114	5.51±0.68
	L-орн $4.7 \cdot 10^{-3}$ М	114	7.46±0.63
	L-орн $7.1 \cdot 10^{-3}$ М	103	7.46±0.70

Согласно литературным данным, аналогичное возрастание содержания пролина при солевом стрессе наблюдается также у одноклеточных зеленых водорослей *Ch. stigmatophora* [5], у других видов зеленых водорослей накопление пролина увеличивается в 10^1 раза [11]. Это свидетельствует о том, что в условиях засоления степень накопления свободного пролина в клетках водорослей зависит от их видовой принадлежности.

Некоторые исследователи причиной накопления пролина считают замедленное включение экзогенного меченого ^{14}C -пролина в белки и его превращение в глутамат и аргинин [7].

Данные табл. 1 показывают также, что из соединений, добавленных в среду с хлористым натрием, лишь орнитин способствует уменьшению накопления пролина у водорослей, доводя его содержание до

такового в контроле. Одновременно в указанном варианте наблюдается резкое увеличение биомассы подорослей по сравнению с остальными. Однако в среде без хлористого натрия, независимо от концентрации орнитина, приводит к повышению накопления пролина по сравнению с контролем и с вариантом с NaCl, при этом резко уменьшается биомасса водорослей. Это можно объяснить тем, что NaCl способствует накоплению пролина, а орнитин, по-видимому, являясь индуктором пролиноксидазы, приводит к интенсивному окислению накопившегося пролина, т. е. орнитин не расходуется при этом как субстрат для биосинтеза пролина. Индукция пролиноксидазы аргинином выявлена у жуков фасолевой зерновки (неопубл. данные нашей лаборатории), *Bacillus licheniformis* [12], а орнитином — у *Sacch. cerevisiae* [5]. Сказанное подтверждается еще и тем, что в присутствии орнитина и α -КГ пролина накапливается даже больше, чем в контроле и в варианте с NaCl. Увеличение накопления пролина в присутствии α -КГ может быть результатом восстановления его в глутамат и превращения последнего в пролин.

Мы исследовали также влияние некоторых метаболитических ядов на накопление пролина у *Ph. pyrenoidosa*. Полученные данные приведены в табл. 2.

Таблица 2. Влияние метаболитических ядов на накопление пролина в присутствии и в условиях отсутствия хлористого натрия у *Ch. pyrenoidosa*, мкМ про на 1 г ткани

В а р и а н т ы		Накопление пролина
В присутствии хлористого натрия	NaCl	$4.3 \cdot 10^{-1}$ М
	Na ₂ AsO ₄	$8 \cdot 10^{-4}$ М
	Na ₂ AsO ₄	$2.5 \cdot 10^{-3}$ М
	NaF	$4.1 \cdot 10^{-3}$ М
	NaF	$8.2 \cdot 10^{-3}$ М
	NaN ₃	$4.3 \cdot 10^{-3}$ М
	NaN ₃	$1.3 \cdot 10^{-2}$ М
	CH ₃ COOH	$7 \cdot 10^{-1}$ М
	(H ₂ ClCOOH	$2.3 \cdot 10^{-3}$ М
Контроль		
В отсутствии хлористого натрия	NaF	$4.1 \cdot 10^{-3}$ М
	NaF	$8.2 \cdot 10^{-3}$ М
	NaF	$2 \cdot 10^{-2}$ М
	NaN ₃	$4.3 \cdot 10^{-3}$ М
	NaN ₃	$1.3 \cdot 10^{-2}$ М
	NaN ₃	$2.1 \cdot 10^{-2}$ М
	NaF	$1.04 \cdot 10^{-2}$ М
	NaN ₃	$1.07 \cdot 10^{-2}$ М

Видно, что применяемые ингибиторы дыхания и гликолиза значительно уменьшают накопление пролина, причем при сравнительно высоких концентрациях ингибиторов этот процесс не имеет места. Снижение синтеза пролина ингибитором гликолиза фтористым натрием свидетельствует о взаимосвязи между этими процессами.

Исследования показали, что фтористый натрий и азид натрия усиливают интенсивность биосинтеза пролина. Примечательно, что при выращивании водорослей в среде с аргинином и указанных соединений биосинтез пролина замедляется, по-видимому, вследствие ингибирования катаболизма аргинина и ограниченного снабжения орнитинном, обеспечивающим биосинтез пролина.

Наряду с индуцированным аргинином органиком и репрессией пролином, обнаруженными ранее нами у водорослей [3], это еще одно доказательство функционирования аргиназы в системе биосинтеза пролина у этих организмов.

В литературе нет единого мнения о включении пролина в молекулу хлорофилла. Одни исследователи включение пролина у растений в экстремальных условиях считают результатом задержки его включения в молекулу хлорофилла [8], другие не видят связи между содержанием пролина и синтезом хлорофилла.

Известно, что в животных тканях порфириновое кольцо гема синтезируется из сукцината и глицина через АЛК, а у растений последняя образуется из глутамата превращением его в глутамил-1-фосфат, глутамил-1-полуальдегид, пирролил-5-карбоксилат и пролин [4]. Кофакторами первых двух реакций являются АТФ и НАДФН.

Для выявления взаимосвязи превращения глутамата в пролин, с одной стороны, и глутамата в АЛК — с другой, мы следили за изменением содержания пролина в водорослях при внесении в среду их выращивания глутамата, различных кофакторов и органических кислот на свету и в темноте. Результаты исследований свидетельствуют о том, что синтез пролина при выращивании водорослей из одного глутамата интенсивнее, чем при его сочетании с кофакторами и органическими кислотами. Это дает основание предположить, что в присутствии кофакторов превращение глутамата в пролин замедляется и имеет место его превращение в АЛК. Можно допустить, что предполагаемое другими авторами [10] включение пролина в пирроловое кольцо хлорофилла через АЛК не происходит, очевидно, у изученного нами объекта это происходит как у *Ch. vulgaris* [14], где включение глутамата в АЛК обнаруживается лишь при одновременном присутствии глутамата, АТФ, Mg^{2+} и НАДФН.

Высказанное мнение подтверждается и тем, что образование пролина из глутамата значительно подавляется при одновременном присутствии окисленного НАДФ, малата и нитрата. По-видимому, при этом восстановление НАДФ, катализируемое НАДФ-зависимыми глутамат, малат и нитрат дегидрогеназами, приводит к восстановлению НАДФ, усилению превращения глутамата в АЛК с включением

последней в пирроловое кольцо хлорофилла. Этот процесс интенсивнее протекает в темноте, чем на свету. Причем образование пролина из глутамата более чем в три раза слабее в темноте, чем на свету.

Таким образом, синтез хлорофилла и биосинтез пролина в темноте и на свету протекают с разной интенсивностью, а именно на свету интенсивнее синтез пролина, а в темноте — синтез хлорофилла.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян А. Х., Давтян М. А. Биолог. журн. Армени, 27, 19, 1974.
2. Владимирова М. Ф., Семенов В. Е. Интенсивная культура одноклеточных водорослей. М.: 1962.
3. Григорян А. П., Агаджанян А. Х., Тамбян Н. Н., Давтян М. А. Биолог. журн. Армени, 41, 4, 1988.
4. Гудовик Т., Мерсер Э. Введение в биохимию растений. М., 1976.
5. Каликина Л. Г., Строгонова Б. П. Физиол. раст., 33, 46, 1984.
6. Маматашян Э. А. Биолог. журн. Армени, 37, 46, 1984.
7. Палфи Г., Биро М., Палфи Т. Физиол. раст., 20, 2, 1973.
8. Bongston C., Klockare B., Klockare R., Zanson S., Sundqvist C. Physioli. Pl. 43, 105 1978.
9. Blumenkrantz A. Clin. biochem., 13, 4, 1980.
10. Breyhan Th., Hellinger F. Phytochemistry, 5, 811, 1966.
11. Brown J., Hellebust T. Can. J. Bot., 56, 676, 1978.
12. Zatshtey E., Barnlohr R. I. Bacteriol., 98, 322, 1968.
13. Hrobelowa E. Tury Z. J. Chromatogr., 3, 2, 199, 1960.
14. Weinstein T., Beall S. Arch. Biochem. Biophys., 237, 454, 1985.

УДК 586.2.

О ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТИ ВНЕДРЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВА ВОДОРΟΣЛЕЙ В АРМЕНИИ

К. А. МИКАЕЛЯН, С. А. АЗАТЯН

Центр эколого-ноосферных исследований ИАН РА

Водоросли — перспективы применения

Нынешнее состояние республики — неблагоприятная экономическая ситуация, постоянная угроза экономической блокады, энергетический кризис, разваленная кормовая база — диктует необходимость улучшения условий окружающей среды, создания относительно дешевой и устойчивой базы для производства пищи и кормов.

В решении этих задач определенную роль может сыграть внедрение в хозяйство республики производства водорослей, которое относительно просто и не требует больших капитальных вложений.

К настоящему времени лучше изучены представители зеленых (*Chlorella*, *Scenedesmus*, *Chlamydomonas*) и сине-зеленых (*Spirulina*) водорослей, расширяются исследования и по другим видам.

Многочисленные литературные данные свидетельствуют о том, что культура водорослей как объект исследований, вышла из рамок лабораторных изысканий и нашла широкое производственное применение. Как известно, крупные хозяйства по производству водорослей существуют в Японии, Китае, Мексике, на Тайване, где чаще всего производят хлореллу и спируллину [6].

В изолированных автоматизированных установках продуктивность хлореллы составляет 100—140 г сухого вещества на 1 м² в сутки или 360—500 т/га в год [3]. В установках открытого типа при массовом культивировании и естественном освещении максимальная продуктивность ее достигает 60 г/м² в сутки, средняя составляет 14—35 г/м² сухой массы (1). По выходу белка за единицу времени на единицу площади плантации водорослей на 1—3 порядка превосходят швейцарское поле [1].

Биомасса хлореллы, содержащая в обычных условиях до 50% белка, 35% сахаров, 5% липидов и 10% золы, считается дополнительным высококачественным источником белка, жиров, углеводов, витаминов, ферментов, веществ с антибиотическими и биостимуляторными свойствами, в особенности для молодняка крупного рогатого скота, птицы, поросят [3].

Водоросли находятся в первом ряду среди «санитаров» Земли, им принадлежит важная роль в общем балансе кислорода планеты. Обогащая воду кислородом, они принимают участие в утилизации органических соединений, тяжелых металлов, в том числе радиоактивных.

Природно-климатические условия Армении (от Араратской равнины до г. Арагац, оз. Севан, горячие источники Джермук и пр.) позволяют выделить из окружающей среды разные виды водорослей и в лабораторных условиях путем отбора получить термо- и хладостойкие штаммы, растущие на слабых и концентрированных растворах, в сточных водах, при низкой и высокой интенсивности света. Выделенные формы водорослей можно использовать в нужных целях. Например, недостаток кормов загнал в тупик животноводство республики—производство водорослей может сыграть положительную роль в решении этой трудной задачи. Минеральные источники различных районов Армении богаты питательными элементами, углекислым газом и могут служить дешевой средой для массового культивирования водорослей. При этом важно, что многие минеральные источники находятся именно в животноводческих районах республики (Джермук, Дилижан, Сисиан и др.). Установки по производству водорослей, построенные на базе минеральных вод, могут обогатить корма витаминами, стимуляторами, антибиотиками. На горячих источниках возможно организовать круглогодичное производство, используя для подогрева естественную температуру воды.

В настоящее время в республике около 3 тыс. га занимают рыбноводческие хозяйства, а приобретение корма довольно сложно. Сухая и свежая биомасса водорослей может служить кормом как для рыб,

так и для беспозвоночных, которыми они питаются. Птицеводческие хозяйства республики приняли в полный упадок, в основном вследствие отсутствия кормов. Биомасса водорослей может помочь и здесь как дополнительная белково-витаминная подкормка.

Естественные источники Армении белны йодом, обогащенную йодом биомассу водорослей можно использовать в лечебных целях. При авариях на АЭС, наряду с другими мерами, хлореллу можно использовать как биологический фильтр для утилизации радиоактивных элементов, в том числе йода.

Большая литература, а также многолетние обнадеживающие данные, полученные в Институте агрохимических проблем и гидропонии АН Армении по минеральному питанию и массовому производству хлореллы, ситуация с кормами в республике диктуют необходимость возобновления этих работ и позволяют рекомендовать масштабное производство одноклеточных водорослей в качестве дополнительного витаминного корма [5]. Изучение водорослевого состава естественных вод в различных районах республики поможет выяснению экологической ситуации, прибавит еще один показатель ко многим критериям чистоты окружающей среды.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аманов Ч. А., Байрамян Р. А., Альбицкая О. Н. и др., Изд. АН Туркм., ССР, Сер. физ.-тех., хим. и геол. наук, 2, 42—45, 1981.
2. Белякин В. Н. Светозависимый рост высших фототрофов. Новосибирск, 94, 1984.
3. Выращивание одноклеточных водорослей, Ереван, 57, 1968.
4. Исследования в области выживаемости и продуктивности одноклеточных водорослей. Ереван, 71, 1977.
5. Orlegu A. M. Bot. Mag., 3, 162—166, 1972.
6. Souza F. Rev. Int. helio eche. 44—48, 1978.

ОЦЕНКА МОРОЗОУСТОЙЧИВОСТИ НЕКОТОРЫХ НОВЫХ СОРТОВ
И ЭЛИТНЫХ ФОРМ ПО ИМПЕДАНСУ ТКАНЕЙ

К. С. ПОГОСЯН, К. А. САФАРЯН

Институт виноделия, виноградарства и плодОВОДСТВА МСХ РА, п. Мерцаван

Растение виноградное—морозоустойчивость—импеданс.

Морозоустойчивость — свойство интегральное, определяемое перестройкой всего метаболизма под влиянием меняющихся условий на протяжении годичного цикла развития, в результате чего изменяются химические, структурные, физико-химические и биофизические свойства клетки. Исходя из этого, в настоящее время ведутся широкие исследования по оценке морозоустойчивости по одному какому-либо параметру или комплексу признаков, обеспечивающих достоверность степени устойчивости.

В последние годы получило распространение изучение полного сопротивления клеток или так называемого импеданса [1—4]. Сущность метода заключается в измерении комплексного сопротивления тканей растений электрическому току, как электрическая емкость и омическое сопротивление, замеренные на переменном токе, а также комплексная электропроводность тканей или импеданс, определяемый при постоянном токе. Показатель импеданса зависит от целого ряда трудно поддающихся учету внутренних и внешних факторов, в связи с чем используют не абсолютные, а сравнительные для исследуемых сортов значения. Особенно контрастна разница при НЧ определении электрического сопротивления, изменения которого связывают с физиологическим состоянием живого растения, тогда как ВЧ характеризует сопротивление погибших тканей [4].

Однако при всей изменчивости абсолютных значений импеданса в ряде исследований установлена прямая коррелятивная связь между комплексным сопротивлением тканей побегов многолетних растений и морозоустойчивостью, ибо ряд физиологических процессов, способствующих становлению свойства морозостойкости, в конечном итоге повышает сопротивление растительной ткани электротоку. Имеются также данные, отрицающие прямую коррелятивную связь этих показателей, особенно в сортовом разрезе. В связи с этим нами была поставлена задача выявить эту зависимость не только в аспекте генотипической природы различных сортов и элитных форм, но также в плане воздействия различных отрицательных температур в осенне-зимний период.

Исследования показали, что в период активной вегетации показатель импеданса низок и не отражает уровня морозоустойчивости сортов элитных форм. В частности, в условиях орошаемого возделывания

Сокращения: НЧ — низкочастотный; ВЧ — высокочастотный

культуры, независимо от генотипа, эта величина в основном составляет 4,4—7,8 ком. Высокий показатель импеданса побегов проявляется после I фазы закаливания (конец ноября) и несколько колеблется в зависимости от происхождения сорта или элитной формы. Отмечается общая тенденция у форм межвидового происхождения в период покоя, в частности, с прохождением I фазы закаливания при температурах $-2+10^{\circ}\text{C}$ резко повышается этот показатель: у амуро-европейских форм достигает 41—48,2 ком при 10° частоте, американо-европейских—46—60,1 ком и соответственно 21,4 и 35,6 ком у европейских форм и у аборигенного позднеспелого сорта Воскеат с минимальным комплексным сопротивлением.

Результаты исследований показали, что при понижении температур до $-10-17^{\circ}\text{C}$, не являющихся замораживающим в этот период зимы (декабрь—середина января), наблюдалось некоторое повышение импеданса тканей и практически эта величина не изменялась до наступления критических температур, а в умеренные зимы—до наступления потепления. Определения, проведенные после зимовки (март), показали, что с повышением температур, т. е. началом активизации физиологических процессов, показатель импеданса у винограда существенно понижается, особенно у высокоморозоустойчивых форм (у сортов Артагес, Бурмунк, Кармрени, элитной формы 1712/32 с 51—63 ком до 21,3—27,6 ком), в то время как у аборигенного сорта Воскеат в этот период величина импеданса изменялась незначительно.

Для изучения влияния закалочных температур, а затем действия критических температур на изменчивость этого показателя и степень повреждаемости почек и тканей лозы были проведены специальные исследования. Установлено, что после ступенчатого понижения температуры и замораживания при -15°C показатель импеданса несколько повышается в соответствии с генотипическими особенностями сорта или элитной формы. При температурах $-15-18^{\circ}\text{C}$ эти величины существенно не меняются, за исключением таковых у сорта Воскеат. При дальнейшем понижении температуры до -26°C отмечается резкая разность в показателях импеданса в зависимости от сорта или элитной формы. У некоторых сортов, таких как Бурмунк, Артагес, Кармрени, показатель импеданса не изменялся. У этих форм наряду с незначительными повреждениями почек не были выявлены тканевые повреждения по длине побега (1—12 глазок). Во всех остальных случаях наблюдалось снижение показателя импеданса. Если у многих сортов и гибридов амуро-европейского происхождения, а также среднеморозостойких сортов европейского происхождения снижение показателя импеданса после -26°C составляло 30—35% от исходного значения, то у сортов Кахет, Адиси, Лернату наблюдалось значительное его падение, что коррелирует с сильной повреждаемостью клеток в области флоемы. Минимальное значение импеданса (14,5 ком) отмечалось у сорта Воскеат, у которого наряду с полной гибелью почек сильно повреждались флоэма, лубяная паренхима и сердцевинные лучи.

Исследования показали, что при всех температурах промораживания прямая корреляция между степенью устойчивости почек, тканей побега и показателем импеданса проявляется в основном у сортов с высокой морозоустойчивостью (Артагес, Бурмунк, Кармрени), а также у сортов с очень слабой устойчивостью (Воскеат). У остальных сортов и элитных форм она была менее выраженной.

На основании вышеприведенных данных можно констатировать, что у морозоустойчивых форм повышение импеданса тканей происходит в диапазоне температур $-3-24^{\circ}\text{C}$, а у неморозоустойчивых форм $-3-18^{\circ}\text{C}$, после чего у последних, при воздействии температур $-19-20^{\circ}\text{C}$ и ниже, происходит резкое понижение показателя.

Проведенные исследования позволили выявить тесную связь между импедансом и степенью морозоустойчивости лишь у тех сортов и элитных форм, которые или отличаются высокой устойчивостью к критическим температурам (Артагес, Кармрени, Бурмунк) или же, наоборот, весьма слабой, как Воскеат и другие аборигенные сорта. Варьирование показателя импеданса в пределах 5—10 ком в основном не коррелирует с уровнем выживаемости почек и тканей при предпороговых и критических температурах. Тесная зависимость между импедансом и степенью повреждаемости проявляется в том случае, когда изменения величины импеданса до и после воздействия пониженных температур достигают 18—26 ком.

Обобщая данные об электросопротивлении тканей и уровня морозоустойчивости, можно заключить, что эта зависимость особенно выражена у резко отличающихся по признаку устойчивости к низким температурам отдельных сортов и элитных форм, что целесообразно учитывать при первичной оценке большого селекционного материала с целью раннего отбора форм на признак морозоустойчивости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Голодрига П. Я., Осипов Л. В. Физиология и биохимия культурных растений. 4. 6. 1972.
2. Погосян К. С. Лабораторный метод оценки морозостойкости виноградной лозы. Ереван, 1972.
3. Рядчун О. П., Исаенко В. В., Осадный И. Я. В сб.: Методы оценки устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды, 184—190. Л., 1976.
4. Wither A. J. General viticulture. University of California Press, Berkeley and Los Angeles, 1962.

Поступило 12 IV 1994