

ISSN 0366-5119

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ
ԿԵՆՏՐԱԼՆԱԿԱՆ ՀԱՆԴԵՍ

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
АРМЕНИИ

BIOLOGICAL JOURNAL
of ARMENIA

Выходит с 1948 года на армянском, русском и английском языках

«Հայաստանի կենսաբանական հանդեսը» հրապարակվում է Հայաստանի Գիտությունների Ազգային Ակադեմիայի կողմից և փափագում է հոգվածներ բուսաբանության, կենդանաբանության, ֆիզիոլոգիայի, կենսաքիմիայի, կենսաֆիզիկայի, կենսաբանությունների, միկրոբիոլոգիայի, գենետիկայի և ընդհանուր ու կիրառական կենսաբանության այլ բնագավառների վերաբերյալ:

“Биологический журнал Армении” издается Национальной Академией Наук Армении и публикует оригинальные статьи по ботанике, зоологии, физиологии, биохимии, биофизике, микробиологии, биотехнологии, генетике и другим отраслям общей и прикладной биологии.

“Biological Journal of Armenia” is functioning under the auspice of the National Academy of Sciences of Armenia and publishes original papers in botany, zoology, physiology, biochemistry, biophysics, microbiology, biotechnology, genetics and other fields of general and applied biology.

Editor - in chief - E.G. Afrikian

Executive Secretary - N.H. Apinyan

Խմբագրական կոլեգիա՝ Է.Գ. Աֆրիկյան (գլխավոր խմբագիր), Ճ.Մ. Ավագյան, Մ.Ա. Դավթյան, Ժ.Ի. Նակոբյան (գլխավոր խմբագրի տեղակալ), Ռ.Մ. Նարոտյունյան, Կ.Գ. Ղարազյոզյան, Ս.Խ. Մայրապետյան, Ս.Հ. Մովսիսյան, Ն.Հ. Ապինյան (պատասխանատու քարտուղար)

Խմբագրական խորհուրդ՝ Է.Գ. Աֆրիկյան (նախագահ), Ա.Ս. Աղաբալյան, Յու.Թ. Ալեքսանյան, Է.Յ. Գաբրիելյան, Ա.Ա. Գալոյան, Ա.Լ. Թախադջյան, Բ.Տ. Ղարիբջանյան, Կ.Ս. Պողոսյան, Ա.Գ. Փանոսյան, Լ.Լ. Օսիպյան

Редакционная коллегия: Э.К.Африкян (главный редактор), Ц.М.Авакян, Ж.И.Акопян (заместитель главного редактора), Р.М.Арутюнян, М.А.Давтян, К.Г.Карагезян, С.Х.Майрапетян, С.О.Мовсесян, Н.А. Апинян (ответственный секретарь)

Редакционный совет: Э.К.Африкян (председатель), А.С.Агабалян, Ю.Т.Алексамян, Э.Ц.Габриелян, А.А.Галоян, Б.Т.Гарибджанян, Л.Л.Осипян, А.Г.Паносян, К.С.Погосян, А.Л.Тахтаджян

Оригиналы հոդվածներ • Оригинальные статьи • Original articles

Биол. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 577.152.32

**ТРАНСГЛЮКОЗИЛИРОВАНИЕ СТЕВИОЗИДА
ЦИКЛОДЕКСТРИНГЛЮКАНОТРАНСФЕРАЗАМИ РАЗЛИЧНЫХ
ГРУПП МИКРООРГАНИЗМОВ**

В.А. АБЕЛЯН*, А.М. БАЛАЯН*, В.Т. КОЧИКЯН*, А.А. МАРКОСЯН**

**Институт микробиологии НАН Армении, 378510 Абовян, Армения*

***Биотехнологическая корпорация «Стевиан», 50450 Куала Лумпур, Малайзия*

Циклодекстринглюканотрансферазы (ЦГТаза, КФ 2.4.1.19) из мезофильных, термофильных, алкалофильных и галофильных бацилл использованы для трансгликозилирования стевиозида с целью устранения горечи и послевкусия, с использованием циклодекстринов (ЦД) в качестве донора. Показано, что ЦГТаза экстремофильных микроорганизмов могут быть эффективными биокатализаторами. Оптимальные pH и температура для всех ферментов находились в пределах 6,5-7,5 и 45° соответственно. Оптимальное соотношение стевиозида и ЦД и общая концентрация сухих веществ для получения продукта с наилучшими вкусовыми качествами были 1:1 (вес/вес) и 11,6% соответственно.

Սեվոզիդի, Թերմոֆիլի, ալկալոֆիլի և հալոֆիլ բացիլների ցիկլոդեքստրին գլյուկանոտրանսֆերազները (ՅԳՏ-ազ, ՖԴ 2.4.1.19) օգտագործվել են ստեվիոզիդի տրանսգլիկոզիլացման համար համային հատկանիշների բարելավման նպատակով, ցիկլոդեքստրինները (ՅԴ) որպես դոնոր կիրառելով: Ցույց է տրվել, որ էքստրեմոֆիլ միկրոօրգանիզմների ՅԳՏ-ազները կարող են հանդես գալ որպես արդյունավետ կենսակատալիզատորներ: Բոլոր ֆերմենտների համար pH-ի և ջերմաստիճանի օպտիմալ արժեքները գտնվել են համապատասխանաբար 6,5-7,5 և 45° սահմաններում: Լավագույն համային հատկություններով օժտված պրոդուկտի ստացման համար ստեվիոզիդի և ՅԴ-ների օպտիմալ հարաբերակցությունը և չոր նյութերի ընդհանուր կոնցենտրացիան կազմել են 1:1 (զ/զ) և 11,6%, համապատասխանաբար:

The cyclodextrin glucanotransferases (CGTase, EC 2.4.1.19) produced by mesophilic, thermophilic, alcalophilic and halophilic bacilli have been applied for the transglycosylation of stevioside to remove the bitterness and aftertaste, using the cyclodextrins (CDs) as donors. It was shown that the CGTases produced by extremophilic microorganisms can be used as efficient biocatalists. The optimum pH and temperature were in the range of pH 6,5-7,5 and 45°, respectively. The optimum ratio of stevioside to CD and total concentration of dry materials for the synthesis of the product with most better taste quality were 1:1 (w/w) and 11,6%, respectively.

*Циклодекстринглюканотрансферазы - трансглюкозилирование -
подсластители - стевиозид*

Стевиозид является натуральным подсластителем, который выделяют из листьев растений *Stevia rebaudiana*. Он обладает низкой калорийностью

и широко используется в качестве натурального подсластителя - заменителя сахара [5, 6, 9, 10, 13, 14].

Водно-спиртовой экстракт содержит смесь различных дитерпеновых гликозидов, которые имеют единую основу — стевиол и отличаются содержанием углеводных остатков в положении C13 и C19. Были выделены и идентифицированы стевиозид, ребаудиозиды А, С, Е и D, дулкозид А, рубузоид и стевиобиозид. Основным компонентом среди них является стевиозид, который в 250-300 раз слаще сахара. При его регулярном употреблении снижается содержание сахара, радионуклидов и холестерина в организме, улучшается регенерация клеток и коагуляция крови, тормозится рост новообразований, укрепляются кровеносные сосуды. Он проявляет также желчегонное, противовоспалительное и диуретическое свойства, препятствует образованию язв в желудочно-кишечном тракте [3].

Однако стевиозид обладает остаточной горечью и послевкусием, которые влияют на его качественные характеристики. Их можно снять реакцией межмолекулярного трансгликозилирования под действием различных ферментов, в течение которой происходит присоединение новых углеводов в вышеуказанных положениях. Именно количество углеводных единиц в указанных позициях определяет качество и степень сладости компонента.

В качестве трансгликозилирующего фермента используют пуллулазу, изомальтазу [12], β -галактозидазу [8] и декстрин сахаразу [17], а в качестве доноров — пуллулан, мальтозу, лактозу и частично гидролизированный крахмал соответственно. Однако они позволяют устранять горечь только частично из-за низкого выхода производных с требуемыми качественными характеристиками.

Наилучшие результаты получены трансгликозилированием с помощью циклодекстринглюканотрансферазы (ЦГТаза) из *Bacillus macerans* и крахмала в качестве донора [4]. При этом из полученных производных только два (4''-О- α -D-глюкозил-стевиозид и 4'''-О- α -D-глюкозил-стевиозид) обладали соответствующими вкусовыми качествами, однако их выход достаточно низок и составлял 2,5 и 6,5% соответственно. Кроме того, очистка смеси производных стевиозида представляет собой достаточно сложную задачу из-за большого количества низкомолекулярных мальтоолигосахаридов.

Цель работы - изучение особенностей трансгликозилирования стевиозида с применением ЦГТаз различных групп микроорганизмов и циклодекстрина в качестве донора.

Материал и методика: В качестве продуцентов ЦГТаз использовали вновь выделенные мезофильные бациллы: *Bacillus macerans* ИНМИА-В10-4м, *Bacillus circulans* ИНМИА-В10-5м, термофильный штамм *Bacillus stearothermophilus* ИНМИА-В-4006, алкалофильный *Bacillus alcalophilus* ИНМИА-ВА-4229 и галофильный *Bacillus halophilus* ИНМИА-В10-12Н.

Выращивание штаммов в глубинных условиях и получение ЦГТаз осуществляли по ранее описанной схеме [1, 2]. Биомассу отделяли центрифугированием при 5000 g в течение 20 мин. Ультрафильтрационное концентрирование осуществляли на приборе УПЛ-0,6 на колонке АР-0,2 (Россия). Количественное определение ЦД и производных стевиозида проводили с помощью ВЭЖХ согласно [11]. Белок определяли по Лоури, используя БСА в качестве стандарта; количество редуцирующих сахаров — по методу Сомоджи-Нельсона.

Определение циклизирующей активности ЦГТаз. Смесь 2 мл 2%-ного раствора картофельного крахмала в соответствующем буфере (оптимальный pH для каждого фермента) и 0,5 мл неочищенного фермента инкубировали при 50°. Через определенные интервалы времени (0,5-1,0 мин) отбирали 600 мкл пробы и добавляли 900 мкл фенолфталеинового [16] или бромкрезолового зеленого [7] реагента для идентификации β- или γ-ЦД соответственно. Количество α-ЦД определяли методом ВЭЖХ. За единицу активности принимали количество фермента, которое продуцировало 1 мкмоль ЦД в 1 мин.

Определение трансгликозилирующей активности ЦГТаз. Определение проводили согласно модифицированному методу [15]. Реакционная смесь, содержащая испытуемый препарат ЦГТазы (4,0 ед.), 10 мг растворимого крахмала, 50 ммоль сахарозы и 10 ммоль CaCl₂ в 1 мл 0,1 М буфера с оптимальным pH, инкубировали при 50° в течение 15 мин. Реакцию останавливали кипячением (10 мин) и после центрифугирования (10000 g, 10-15 мин) определяли количество мальтозилфруктозы методом ВЭЖХ. За единицу активности принимали количество фермента, образующее 1 мкмоль мальтозилфруктозы за 1 мин.

ТСХ продуктов проводили в системе растворителей этилацетат-этанол-вода (8:2:1) на пластинках "Silufol" (ЧССР).

В работе использовали стевииозид "Shandong Huaxian Stevia Co., LTD" (КНР) и реактивы производства «Wako Pure Chemical Industries», LTD (Япония).

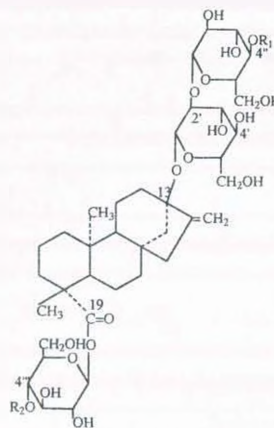
Результаты и обсуждение: Исследовали трансгликозилирующую активность ЦГТаз из различных групп микроорганизмов для получения гликозилированных производных стевииозидов в присутствии различных циклодекстринов (ЦД) в качестве доноров. Полученные соединения очищали методом ВЭЖХ, а их вкусовые качества оценивали органолептически в ГНУ ВНИМИ и ВНИИ кондитерской промышленности (Москва).

Получение трансгликозилированного стевииозидов. β-Циклодекстрин (β-ЦД) в количестве 58 или 116 г растворяли в 600 мл воды, добавляли 58 или 116 г стевииозидов соответственно и раствор выдерживали при 45° в течение 15 мин до полного растворения компонентов (конечная концентрация субстратов составляет 11,6 и 23,2%; pH реакционной среды был оптимальным для каждого фермента). Добавляли 5,0; 8,5; 17,0; 34,0 или 68 единиц ЦГТазы на 1 г стевииозидов, количество раствора доводили до 1 л дистиллированной водой и трансформацию осуществляли при вышеназванной температуре в течение 8 ч и дополнительно 12 ч при 32°.

Для приготовления растворов 40- и 60%-ной концентрации вместо β-ЦД использовали α-ЦД.

По истечении этого времени реакционную смесь подвергали термообработке при 100° в течение 10 мин для инактивации фермента, обрабатывали активированным углем (1%) при 70° в течение 20 мин, отработанный уголь отделяли фильтрованием и фильтрат выпаривали при 45-50° под вакуумом до содержания сухих веществ 60%.

Очистка трансгликозилированных продуктов. Концентрированную реакционную смесь выдерживали в течение 10-12 ч при 10-12° для осаждения остаточного ЦД, фильтровали и фильтрат пропускали через колонку с DIAION HP-20 (1,6 x 50 см) в количестве 10% (вес/объем). Колонку промывали тремя объемами дистиллированной воды, элюцию трансгликозилированных продуктов проводили последовательно двумя объемами 20-, 40-, 80- и 96%-ного этилового спирта и растворы высушивали досуха при 45-50° под вакуумом



R1	R2	Наименование
1. α -Glc	H	4''-O- α -D-глюкозил-стевиозид
2. H	α -Glc	4'''-O- α -D-глюкозил-стевиозид
3. α -Glc ⁴ _a 'Glc	H	4''-O- α -мальтозил-стевиозид
4. α -Glc	α -Glc	4'',4'''-ди-O- α -D-глюкозил-стевиозид
5. H	α -Glc ⁴ _a 'Glc	4'''-O- α -мальтозил-стевиозид
6. α -Glc ⁴ _a 'Glc ⁴ _a 'Glc	H	4''-O- α -мальтотриозил-стевиозид
7. α -Glc ⁴ _a 'Glc	α -Glc	4'''-O- α -мальтозил-4''-O- α -D-глюкозил-стевиозид
8. α -Glc	α -Glc ⁴ _a 'Glc	4''-O- α -D-глюкозил-4''-O- α -мальтозил-стевиозид
9. H	α -Glc ⁴ _a 'Glc ⁴ _a 'Glc	4'''-O- α -мальтотриозил-стевиозид

Рис. 1. Продукты α -1,4-трансгликозирования стевиозида.

Дополнительную очистку осуществляли с помощью ТСХ.

В результате было выделено девять производных (рис.1), которые существенно отличались своими вкусовыми качествами. Лучшими были признаны 4''-O- α -D-глюкозил-стевиозид и 4'''-O- α -D-глюкозил-стевиозид (табл.1). Эти результаты согласуются с данными, полученными при использовании в качестве донора крахмала [4].

Таблица 1. Сравнительная сладость различных гликозидов

Гликозиды	Относительная сладость к сахарозе	Вкус	Соотношение глюкозных единиц в положениях 13-ОН и 19-COOH
Стевиозид	160	Похож на сахарозу	2:1
Производные стевиозида (см. рис.1)			
1	190	приятный, очень вкусный	3:1
2	210	приятный, очень вкусный	4:1
3	140	плохое послевкусие	3:2
4	140	плохое послевкусие	2:3
5	125	послевкусие	5:1
6	150	горький	4:2
7	150	плохое послевкусие	3:3
8	130	освежающий вкус	2:4
9	140	горькое послевкусие	3:2

Влияние pH и температуры. Для выявления оптимальных значений pH и температуры процесса по 5,8г β -ЦД и стевииозида растворяли в 85мл буферного раствора с соответствующим pH, добавляли 8,5 единиц ферментного раствора на 1г стевииозида и проводили наблюдения при 37°; 45°; 50° и 55° течение 8 ч и при 32° – 12 ч.

Эффективность процесса оценивали по выходу 4''-О- α -D-глюкозил-стевииозида и 4'''-О- α -D-глюкозил-стевииозида и по вкусовому качеству реакционной смеси после обработки активированным углем, отделения остаточного ЦД и высушивания досуха.

Оптимальный pH для всех исследованных ферментов находился в пределах 6,5-7,5 (рис.2).

Оптимальная температура для ферментов, продуцируемых мезофильным и галофильным штаммами находилась в пределах 45-50°, а для ЦГТаз термофильного и алкалофильного штаммов - 50-55° (рис.3). Однако по выходу 4''-О- α -D-глюкозил-стевииозида и 4'''-О- α -D-глюкозил-стевииозида и по вкусовым качествам реакционных смесей наилучшей температурой для проведения процесса признали 45° для всех изучаемых ферментов.

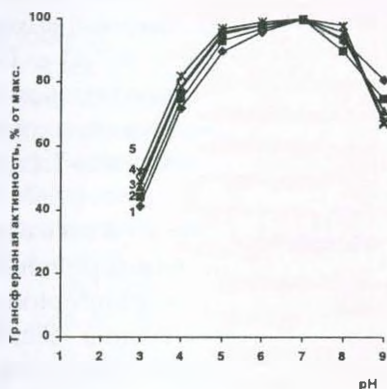


Рис.2. Влияние pH на трансферазную активность ЦГТаз. (1), *B. alcalophilus*; (2), *B. halophilus*; (3), *B. stearothermophilus*; (4), *B. circulans*; (5), *B. macerans*.

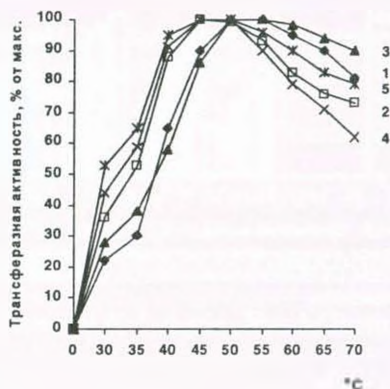


Рис.3. Влияние температуры на трансферазную активность ЦГТаз. (1), *B. alcalophilus*; (2), *B. halophilus*; (3), *B. stearothermophilus*; (4), *B. circulans*; (5), *B. macerans*.

Влияние количества фермента. Для выявления количества вносимого фермента на эффективность процесса готовили 11,6%-ный раствор (pH 7,0) стевииозида и β -ЦД в соотношении 1:1 (вес/вес), добавляли различные количества ферментов, реакцию осуществляли в течение 8 ч при 45° и дополнительно 12 ч при 32°.

В случае всех исследованных ферментов с увеличением количества биокатализатора повышалась степень трансферазной реакции. Однако суммарный выход 4''-О- α -D- и 4'''-О- α -D-глюкозил-стевииозидов достигает максимума при использовании 8-9 единиц фермента на 1г стевииозида для ЦГТаз *B. macerans* и *B. stearothermophilus*, 11-11,5 единиц для фермента *B. circulans* и 15-16 единиц для ЦГТаз, продуцируемых *B. halophilus* и

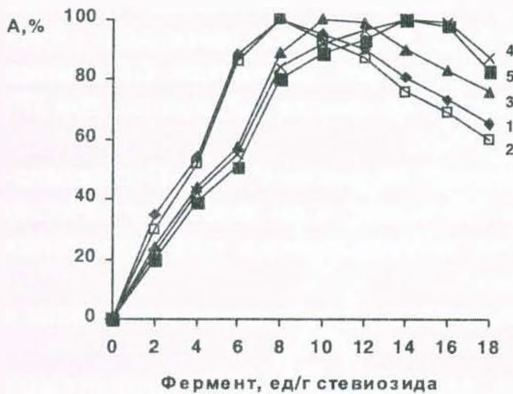


Рис.4. Суммарный выход (А, %) 4''-О-α-D- и 4'''-О-α-D-глюкозил-стевиозидов в зависимости от количества добавляемой ЦГТазы. (1), *B. macerans*; (2), *B. stearothermophilus*; (3), *B. circulans*; (4), *B. halophilus*; (5), *B. alcalophilus*.

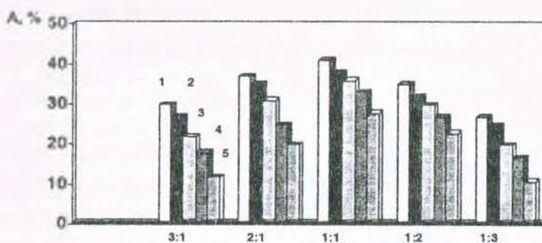


Рис.5. Суммарный выход (А, %) 4''-О-α-D- и 4'''-О-α-D-глюкозил-стевиозидов в зависимости от соотношения стевиозидов и бета-ЦД. (1), *B. macerans*; (2), *B. stearothermophilus*; (3), *B. circulans*; (4), *B. halophilus*; (5), *B. alcalophilus*.

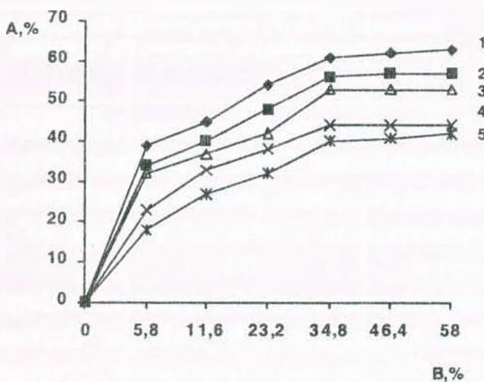


Рис.6. Влияние общей концентрации субстратов (В, %) на трансферазную активность (А, %) ЦГТаз. (1), *B. macerans*; (2), *B. stearothermophilus*; (3), *B. circulans*; (4), *B. halophilus*; (5), *B. alcalophilus*.

B. alcalophilus (рис.4).

Влияние соотношения и концентрации субстратов. На трансглюкозилирование стевиозидов определенное влияние оказывает также соотношение исходных компонентов в реакционной смеси. Для выявления оптимального варианта, готовили 11,6%-ный раствор стевиозидов и циклодекстрина в различных соотношениях, добавляли оптимальные количества ЦГТаз. Реакцию осуществляли в течение 8 ч при 45° и дополнительно 12 ч при 32°. Выявлено, что в данных условиях эксперимента суммарный выход 4''-О-α-D- и 4'''-О-α-D-глюкозил-стевиозидов достигает максимума при соотношении субстратов 1:1 в/в (рис.5).

Эффективность трансглюкозилирования повышается пропорционально увеличению общей концентрации субстратов, однако это не приводит к полному устранению горечи и послевкусия. По вкусовым качествам конечного продукта наилучшей выбрана концентрация 11,6% при весовом соотношении стевиозидов и циклодекстрина 1:1 (рис.6).

Таким образом, в результате проведенных сравнительных исследований впервые показано, что ЦГТазы экстремофильных микроорганизмов, помимо

ферментов, продуцируемых *V. mascaresans*, могут быть эффективными биокатализаторами в реакциях трансгликозилирования стевииозида. Причем, вместо крахмала в качестве донора могут быть использованы различные ЦД. При этом существенно облегчается процесс очистки конечного продукта, а также уменьшается суммарное количество производных стевииозида с более длинными углеводными цепочками и линейных олигосахаридов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абеян В.А., Балаян А.М., Манукян Л.С., Афян К.Б., Меликсетян В.С., Андреасян Н.А., Маркосян А.А. Прикл. биохимия и микробиология. 38, 6, 616-624, 2002.
2. Абеян В.А., Ямамото Т., Африкян Э.Г. Биохимия. 59, 6, 778-788, 1994.
3. Зубцов В.А., Осипова Л.Л., Лебедева Т.И., Антипова Н.В. Мат-лы I Междунар. научно-практической конференции «Растительные ресурсы для здоровья человека», 23-27 сентября 2002, Москва-Сергиев-Пасад, «Арес», 356-358.
4. Fukunaga Y., Miyata T., Nakayasu N., Mizutani K., Kasai R., Tanaka O. Agric. Biol. Chem. 53, 1603-1607, 1989.
5. Kaneda N., Kasai R., Yamasaki K., Tanaka O. Chem. Pharm. Bull. 25, 2466-2472, 1977.
6. Kasai R., Kaneda N., Tanaka O., Yamasaki K., Sakamoto I., Murimoto K., Okada S., Kitahata S., Furukawa H. Nippon Kagaku Kaishi. P. 726, 1981.
7. Kato T., Horikoshi K. Anal. Chem. 56, 1738-1740, 1984.
8. Kitahata S., Ishikawa H., Miyata T., Tanaka O. Agric. Biol. Chem. 53, 11, 2923-2928, 1989.
9. Kobayashi S., Horikawa S., Degrandi I.H., Ueno J., Mitsuhashi H. Phytochemistry. 16, 1405-1411, 1977.
10. Kohda H., Kasai R., Yamasaki K., Murakami K., Tanaka O. Phytochemistry. 15, 981-986, 1981.
11. Kolb N., Herrera J.L., Ferreyra D.J., Uliana R.F. J. Agric. Food Chem. 49, 4538-4541, 2001.
12. Lobov S.V., Kasai R., Ohtani K., Tanaka O., Yamasaki K. Agric. Biol. Chem. Dec 55, 2959-2965, 1991.
13. Mosetting E., Beglinger U., Dolder F., Lichiti H., Quitt P., Waters J.A. J. Am. Chem. Soc. 85, 2303-2305, 1963.
14. Nabeta K., Ito K., Sugisawa H. Nippon Nogeikagaku Kaishi. 51, 179-184, 1977.
15. Nakamura A., Hega K., Yamane K. FEBS Lett. 337, 66-70, 1994.
16. Vikmon M. Proc. first intern. symp. on cyclodextrins / Ed. Szejtli J. Budapest: D.Reidel. 69-74, 1982.
17. Yamamoto K., Yoshikawa K., Okada S. Biosci. Biotechnol. Biochem. 58, 9, 1657-1661, 1994.

Поступила 07.X.2003

Биолог. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 663.0:577.0

МНОГОКРИТЕРИАЛЬНАЯ ОПТИМИЗАЦИЯ ФЕРМЕНТАЦИОННЫХ СРЕД

З.Н. БАГДАСАРЯН, Г.А. АЛЕКСАНИАН, А.М. МИРЗОЯН

Армянский научно-исследовательский институт прикладной химии „АРИАК“,
375029 Ереван

Произведена многокритериальная оптимизация состава сред и условий культивирования *Erwinia sp.*, обладающей высокой фумаразной и аспартазной активностью. С помощью известных математических моделей глобальной функции качества $\varphi(X)$ оценены альтернативы в поставленном эксперименте. В результате оценивания и сравнений определены модели глобальной функции, наилучшим образом характеризующие локальные качества альтернатив, и альтернативы, обеспечивающие $\max \varphi(X)$.

Կատարված է ֆումարազային և ասպարտազային բարձր ակտիվությամբ *Erwinia sp.* կուլտուրայի աճման միջավայրի բաղադրության քանակական և աճման պայմանների բազմաչափանիշային օպտիմիզացիա: Որակը բնութագրող $\varphi(X)$ գլոբալ ֆունկցիայի հայտնի մաթեմատիկական մոդելների միջոցով գնահատված և համեմատված են առաջադրված փորձնական տարբերակները, որի արդյունքում բացահայտված են ինչպես տարբերակների որակը բնութագրող $\varphi(X)$ լավագույն մոդելները այնպես էլ, ըստ այդ մոդելների, լավագույն փորձնական տարբերակները, որոնք ապահովում են $\varphi(X)$ -ի մաքսիմում արժեքները:

Multicriterion optimization of nutritious media and cultivation conditions for *Erwinia sp.* has been performed. The alternatives in given experiment have been estimated by known mathematic models of global function of quality $\varphi(X)$. The following results have been realized: models of global function what completely determine the local qualities of alternatives and alternatives providing $\max \varphi(X)$.

*Микробиологический синтез – многокритериальная оптимизация –
мультипликативная модель – многоуровневый план*

Периодический характер многих процессов микробиологического синтеза делает их труднодоступными с точки зрения управления. Поэтому вопросы разработки и внедрения новых методов совершенствования их в обозримый период времени останутся актуальными. В настоящее время для совершенствования этих процессов разработаны и внедрены ряд методов, среди которых особое место занимает «Оптимизация состава питательных сред и условий культивирования микроорганизмов» [3]. Эта задача возникает на ранних этапах разработки микробиологического процесса. Поэтому подбор оптимальной среды конкретного микробиологического процесса можно осуществить с помощью большого количества экспериментов, направленных как на определение основных компонентов среды, так и на поиск их оптимального количественного соотношения. Применение математических

методов планирования эксперимента позволяет решать задачу оптимизации проведением относительно малого числа экспериментов [1, 5, 7, 11, 13]. Широкие возможности этих методов позволяют путем обработки и оценки экспериментальных данных построить простейшие математические модели процесса, с помощью которых можно предсказать условия, обеспечивающие целенаправленное изменение параметра или критерия оптимизации. Накоплен достаточно большой опыт использования таких, ставших уже традиционными и универсальными, математических методов применительно к задачам оптимизации сред и условий культивирования в микробиологии [2, 12, 14]. В существующих руководствах по использованию этих методов высказывается убеждение, что статистические методы планирования эксперимента и оптимизации не имеют особой специфики при использовании их на разных объектах, так как во всех случаях используется одна и та же математическая модель объекта - полиномиальная. В результате такого подхода теряется интерес к связям, существующим в самом объекте, и постепенно аппроксимирующая полиномиальная модель становится единственным мерилom достоинств или недостатков различных моделей и связанных с ними методов оптимизации. В настоящей работе решается задача оптимизации сред и условий культивирования на многокритериальном пространстве.

Многолетний опыт показывает, что традиционные методы однокритериальной оптимизации не могут удовлетворить специалиста, поставившего перед собой задачу оптимизации среды и условий культивирования одновременно по нескольким параметрам или критериям оптимизации [12, 15]. Основная особенность задачи многокритериальной оптимизации состоит в том, что ее решением является, как правило, целое множество оптимальных решений, так как выбранные критерии оптимизации очень часто противоречивы и достигают оптимума в различных решениях множества оптимумов. Процедура решения многокритериальных задач оптимизации основывается на выборе наилучшего решения путем оценивания и сравнения альтернатив на допустимом множестве. Классификация известных процедур решения многокритериальных задач впервые была приведена в работе Красненкера [9], где они, по типу используемой дополнительной информации, делятся на «априорные», «апостериорные» и «адаптивные». Широкое распространение «априорных» процедур объясняется тем, что в них вся информация, позволяющая определить наилучшее решение, скрыта в формальной модели задачи, не используется никакая дополнительная информация, и для определения оптимального решения вполне достаточно задание множества альтернатив X и целевых функций $f_1(X), \dots, f_n(X)$, каждая из которых характеризует некоторое локальное качество альтернативы X . Наилучшая альтернатива характеризуется наиболее удачным сочетанием всех этих локальных качеств, т.е. имеет максимальное значение «глобального» качества. Таким образом, для решения поставленной задачи необходимо определить, каким образом глобальное качество зависит от локальных качеств, после чего многокритериальная задача

будет сведена к задаче скалярной оптимизации. Из существующих априорных процедур весьма популярны те, где используются следующие модели глобальной функции качества [8]:

-аддитивная модель, получившая название принципа равномерной оптимальности [4];

$$\varphi(X) = \sum f_i(X); \quad i=1, \dots, n \quad (1)$$

-мультипликативная модель, получившая название принципа справедливого компромисса [14];

$$\varphi(X) = \prod f_i(X); \quad i=1, \dots, n \quad (2)$$

-модель, получившая название принципа гарантированного результата [15];
 $Uc_i(X) = f_i(X) / [f_i^M(X)]$; где $f_i^M(X) = \max f_i(X)$; $0 \leq Uc_i(X) \leq 1$; $Uc_i(X)$ рассматривается как функция принадлежности альтернативы X размытому множеству A_i , характеризующему соответствие цели C_i (при наличии группы целей $C_1, C_2, \dots, C_n$ можно ввести совокупную цель $C = \bigcap C_i$; $i=1, 2, \dots, n$ функция принадлежности пересечению размытых множеств определяется

$$\text{как } Uc(X) = \min_{1 \leq i \leq n} Uc_i(X).$$

Так как вид глобальной функции качества существенно зависит от типа решаемой задачи, то поставленная задача оптимизации состава сред и условий культивирования *Erwinia sp.*, обладающей высокой фумаразной и аспартазной активностью, сводилась к определению наиболее подходящей модели и затем к оцениванию и сравнению (с использованием выбранной модели) альтернатив, полученных экспериментальным путем. В качестве целевых функций (критериев качества) нами были использованы:

- $f_1(X)$ - выход биомассы (г/мл);

- $f_2(X)$ - выход фермента по активности (мМ/ч х мл);

- $f_3(X)$ - удельная активность фермента (активность/биомасса, мМ/г х ч);

- $f_4(X)$ - отклонение от экспериментального среднего

$$[f_4(X) = |f_i(X) - \bar{f}_i(X)|, \text{ где } i = 1; 2; 3];$$

- $f_5(X)$ - отклонение от расчетного значения

$$[f_5(X) = |f_i(X) - f_i(X)|, \text{ где } i = 1; 2; 3];$$

- $f_6(X)$ - отношение выхода биомассы к объему исходной среды

$$[f_6(X) = f_1(X) / V_{\text{среда}} (\text{г/мл})];$$

- $f_7(X)$ - отношение объема исходной среды к объему колбы

$$[f_7(X) = V_{\text{среда}} / V_{\text{колба}} (\text{мл/мл})];$$

- $f_8(X)$ - эффективность процесса ферментации [$f_8(X) = W/C$; где C - расходы на ферментацию и эксплуатацию оборудования]

$C = C_E \cdot t + A_S \cdot C_S + C_Y \cdot C_E$ - эксплуатация установок за $t=24$ часа; C_S - стоимость единицы исходного сырья; C_Y - расходы на процесс ферментации; A_S - количество исходного сырья; W - стоимость конечного продукта].

Практика микробиологического синтеза показала, что очень часто высокая активность ферментов обнаруживается одновременно у одного и того же штамма, и в связи с этим возникает необходимость в разработке условий культивирования для оптимального выхода того или иного фермента. Предварительные исследования показали также, что максимальный выход фумаразной и аспартазной активности *Erwinia sp.* проявляется при разных значениях компонентов питательной среды и pH.

Поэтому для определения множества альтернатив X нами спланирован эксперимент по следующим факторам в следующих оптимальных пределах их значений: по аспартазной активности БВК (%) 6-6,75; меласса (%) 1,4-1,7; NH_4 - фумарата (%) 1,55-1,7; pH 7,9-8,2; объем питательной среды (мл) 35-50; по фумаразной активности БВК (%) 5,75 - 6,5; меласса (%) 1,1-1,4; Na-фумарата (%) 1,3-1,6; pH 7,2-7,5; объем питательной среды (мл) 35-50. Исследования проводились по ортогональному многоуровневому плану с пятью факторами на 4-х уровнях с числом опытов 16 [3, 5] в 500мл колбах. Целью эксперимента являлось определение максимального выхода биомассы фумаразной и аспартазной активности культуры *Erwinia sp.* в приведенных пределах оптимальных значений факторов, полученных экспериментально. Для использования формул (1) и (2) целевые функции приведены к безразмерному виду путем введения функции [6]:

$$\text{- для аддитивной модели } \varphi(X) = \sum_{i=1}^n \lambda_i f_i(X) - C,$$

$$\text{где } \lambda_i = 1/[f_i^M(X) - f_i^m(X)], C = \sum_{i=1}^n \lambda_i f_i^m(X);$$

$$\text{- для мультипликативной модели } \varphi(X) = \prod_{i=1}^n \lambda_i f_i(X) - C,$$

$$\text{где } \lambda_i = 1/[f_i^M(X) - f_i^m(X)], C = \prod_{i=1}^n \lambda_i f_i^m(X)$$

Значения экспериментальных уровней входных факторов для аспартазной и фумаразной активности приведены в табл. 1, а результаты обработки экспериментальных данных - в табл. 2 и 3. В этих таблицах значения функций $f_4(X)$ и $f_5(X)$ для $f_1(X)$, $f_2(X)$, $f_3(X)$ вычислены отдельно.

Расчетные значения функций $\hat{f}_1(x)$, $\hat{f}_2(X)$, $\hat{f}_3(X)$ определены с помощью уравнений множественной линейной регрессии [1, 2]. В графах Σ , Π , $\cap$ приведены значения глобальной функции $\varphi(X)$ по трем вышеописанным моделям соответственно. Знак (+) в графе $\cap$ показывает, что данная альтернатива является элементом множества пересечений размытых множеств A_i при $U_c(X) \geq 80\%$.

Таблица 1. Экспериментальные значения уровней входных факторов

N	Для аспартазной активности					Для фу마разной активности				
	БКВ, %	Меласса, %	NH ₄ - фумарат, %	pH	Объем среды, мл	БКВ, %	Меласса, %	Na- фумарат, %	pH	Объем среды, мл
1	6	1,4	1,55	7,9	35	5,75	1,1	1,3	7,2	35
2	6,5	1,4	1,65	8,0	50	6,25	1,1	1,5	7,3	50
3	6,75	1,4	1,7	8,2	40	6,5	1,1	1,6	7,5	40
4	6,25	1,4	1,6	8,1	45	6	1,1	1,4	7,4	45
5	6	1,6	1,65	8,2	45	5,75	1,3	1,5	7,5	45
6	6,5	1,6	1,55	8,1	40	6,25	1,3	1,3	7,4	40
7	6,75	1,6	1,6	7,9	50	6,5	1,3	1,4	7,2	50
8	6,25	1,6	1,7	8,0	35	6	1,3	1,6	7,3	35
9	6	1,7	1,7	8,1	50	5,75	1,4	1,6	7,4	50
10	6,5	1,7	1,6	8,2	35	6,25	1,4	1,4	7,5	35
11	6,75	1,7	1,55	8,0	45	6,5	1,4	1,3	7,3	45
12	6,25	1,7	1,65	7,9	40	6	1,4	1,5	7,2	40
13	6	1,5	1,6	8,0	40	5,75	1,2	1,4	7,3	40
14	6,5	1,5	1,7	7,9	45	6,25	1,2	1,6	7,2	45
15	6,75	1,5	1,65	8,1	35	6,5	1,2	1,5	7,4	35
16	6,25	1,5	1,55	8,2	50	6	1,2	1,3	7,5	50

Таблица 2. Обработка экспериментальных данных для аспартазной активности

N	$f_1(X)$	$f_2(X)$	$f_3(X)$	$f_4(X)$			$f_5(X)$			$f_6(X)$	$f_7(X)$	$f_8(X)$	$\varphi(X)$		
				$f_4(X)$	$f_4(X)$	$f_4(X)$	$f_5(X)$	$f_5(X)$	$f_5(X)$				Σ	П	П
1	1,029	15050	14626	0,156	2375	149	0,032	1199	733	0,0294	0,07	0,077	3,12	0,01	-
2	1,245	24500	19679	0,06	7075	4904	0,109	3763	4364	0,0249	0,1	0,093	9,1	93,1	+
3	1,172	19600	16724	0,013	2125	1949	0,048	430	1096	0,0293	0,08	0,088	4,53	0,017	-
4	1,215	18000	14815	0,03	575	40	0,023	1384	1447	0,027	0,09	0,092	3,76	0,001	-
5	1,211	19350	15985	0,026	1925	1210	0,048	1260	431	0,0269	0,09	0,09	4,32	0,023	+
6	1,088	20400	18750	0,097	2975	3975	0,051	3180	3632	0,0272	0,08	0,082	6,33	9,1	+
7	1,5	18000	12000	0,315	575	2775	0,054	1025	1157	0,03	0,1	0,113	6,75	0,001	+
8	0,97	12250	12635	0,215	5175	2140	0,056	1855	1126	0,0277	0,07	0,073	3,57	1,05	-
9	1,31	19000	14504	0,125	1575	271	0,008	1400	986	0,0262	0,1	0,098	4,56	0,01	-
10	1,005	16100	16028	0,18	1325	1253	0,009	402	547	0,0288	0,07	0,075	2,87	0,004	-
11	1,332	16650	12500	0,147	775	2275	0,013	1305	1113	0,0296	0,09	0,1	4,96	0,065	-
12	1,192	14400	12080	0,007	3025	2695	0,016	260	56	0,0298	0,08	0,089	3,33	0,00	-
13	1,092	13600	12454	0,093	3825	2321	0,007	1930	1677	0,0273	0,08	0,082	3,5	0,111	-
14	1,305	17100	13103	0,12	325	1672	0,01	461	458	0,029	0,09	0,098	4,18	0,002	-
15	1,047	16800	16053	0,138	625	1278	0,007	114	9	0,0299	0,07	0,078	2,24	0,00	-
16	1,245	18000	14458	0,06	575	317	0,024	3187	2238	0,0249	0,1	0,093	4,55	0,03	-

Выводы:

-из табл. 2 и 3 видно, что все три модели глобальной функции $\varphi(X)$ выбирают по $\max \varphi(X)$ одни и те же альтернативы, однако для решения поставленной задачи более подходят две последние модели, т.к. качественная и количественная оценка альтернатив с их помощью выражается более четко и ясно;

Таблица 3. Обработка экспериментальных данных для фумаразной активности

N	$f_1(X)$	$f_2(X)$	$f_3(X)$	$f_4(X)$			$f_5(X)$			$f_6(X)$	$f_7(X)$	$f_8(X)$	$\varphi(X)$		
				$f_4(X)$	$f_5(X)$	$f_6(X)$	$f_7(X)$	$f_8(X)$	$f_9(X)$				Σ	Π	Π
1	0,98	5635	5750	0,16	1842	812	0,05	155	42	0,028	0,07	0,102	3,26	0,07	-
2	1,23	8125	6606	0,09	648	44	0,013	238	126	0,0246	0,1	0,127	4,62	0,003	-
3	1,072	7300	6810	0,068	177	248	0,021	415	248	0,0268	0,08	0,111	3,46	0,012	-
4	0,999	6183	6189	0,141	1294	373	0,113	225	426	0,0222	0,09	0,103	4,02	0,84	-
5	1,157	7020	6070	0,017	457	492	0,022	169	27	0,0257	0,09	0,12	3,37	0,001	-
6	0,976	6000	6148	0,164	1477	414	0,134	903	71	0,0244	0,08	0,101	4,59	0,88	-
7	1,34	10000	7463	0,2	2523	901	0,029	935	548	0,0268	0,1	0,139	9,22	36,57	+
8	1,015	8400	8276	0,125	923	1714	0,019	777	904	0,029	0,07	0,105	6,21	5,73	-
9	1,365	9000	6593	0,225	1523	31	0,054	216	107	0,0273	0,1	0,141	7,04	0,06	+
10	1,064	7245	6809	0,076	232	247	0,015	186	80	0,0304	0,07	0,11	3,04	0,002	-
11	1,26	8325	6607	0,12	848	45	0,006	38	62	0,028	0,09	0,131	4,75	0,00	+
12	1,14	7600	6667	0,00	123	105	0,018	766	1058	0,0285	0,08	0,118	4,74	0,00	+
13	1,064	6500	6109	0,076	977	453	0,007	59	15	0,0266	0,08	0,11	4,68	0,002	-
14	1,166	8100	6950	0,026	623	388	0,041	823	449	0,0259	0,09	0,121	5,29	0,25	+
15	1,113	7700	6918	0,027	223	356	0,093	389	249	0,0318	0,07	0,115	4,41	0,043	-
16	1,295	6500	5019	0,155	977	1543	0,098	385	88	0,0259	0,1	0,134	6,34	1,64	-

-согласно результатам обработки экспериментальных данных (табл. 2 и 3) по критерию $\max \varphi(X)$ в качестве оптимальных выбраны следующие альтернативы:

-для аспаразной активности

Альтер- натива	Увеличение относительно экспериментального среднего		
	биомасса, г/мл	активность, мм/ч х мл	удельная активность, мм/г х ч
2	1,05	1,41	1,33
5	1,02	1,11	1,08
6	0,92	1,17	1,27
7	1,27	1,03	0,8

-для фумаразной активности

Альтер- натива	Увеличение относительно экспериментального среднего		
	биомасса, г/мл	активность, мм/ч х мл	удельная активность, мм/г х ч
7	1,18	1,34	1,14
9	1,2	1,2	1,0
11	1,0	1,02	1,02
12	1,11	1,11	1,01
14	1,02	1,1	1,06

ЛИТЕРАТУРА

1. Адлер Ю.П., Маркова Е.В., Грановский Ю.В. Планирование эксперимента при поиске оптимальных условий. М., Наука, 283 с, 1976.
2. Афифи А., Эйзен С. Статистический анализ: Подход с использованием ЭВМ. Пер. с англ. М., Мир, 488 с., 1982.
3. Бирюков В.В., Кантере В.М. Оптимизация периодических процессов микробиологического синтеза. М., Наука, 290 с., 1985.
4. Борисов В.И. В кн.: Исследование операций. Методологические аспекты. М., Наука, 1972.
5. Бродский В.З. Введение в факторное планирование эксперимента. М., Наука, 342 с., 1976.
6. Волкович В.Л. В кн.: Труды семинара Кибернетика и вычислительная техника, «Сложные системы управления», Киев, Наукова думка, вып. 1, 1969.
7. Грачев Ю.П. Математические методы планирования экспериментов. М., Пищ. Пром-сть, 200 с., 1979.
8. Дубов Ю.А., Травкин С.И., Якимец В.Н. Многокритериальные модели формирования и выбора вариантов систем. М., Наука. 296 с., 1986.
9. Красненкер А.С. В кн.: Вопросы оптимального программирования в производственных задачах. Изд. Воронежского университета, 18-23, 1972.
10. Кэррол Л. История с узелками. М., Мир. 496с, 1974.
11. Bayne C.K., Rubin I.B. Practical experimental designs and optimization methods for chemists, 1986.
12. De Meo M., Laget M., Phan-Tan-Luu R., Mathieu D., Dumenil G. Application des plans d'experiences a l'optimisation des milieux et conditions de culture en fermentation. BIO - SCIENCES - 4, 4, 1985.
13. Deming S.N., Morgan S.L. Experimental Design: a Chemometric Approach. Data Handling in science and technology, 3, 1987.
14. Esgalhado M. Eugenia, J. Carlos Roseiro & M.T. Amaral Collaco. Interactive Effects of pH and Temperature on Cell Growth and Polymer Production by *Xanthomonas campestris*. Process Biochemistry. 30, 7, 667-671. 1995.
15. Zadeh L.A. Fuzzy sets. Information and Control, 8, 338-353, 1965.

Поступила 01.III.2000

Биол. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 616:28.284-002

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ОТОМИКОЗА

А.В. АЙРАПЕТЯН

Медицинский Центр «Святого Григория Просветителя» (база кафедры болезней уха, горла и носа НИЗ МЗ РА им. С.Х. Авдалбекяна), 375056, Ереван

Проведен микробиологический анализ у больных отомикозом. Определены основные роды грибов — возбудителей микозов данной локализации, проведена их видовая идентификация в зависимости от клинических форм микотических отитов. Выявлена частота и значимость сопутствующей бактериальной флоры при грибковых заболеваниях уха. Исследования показали, что рациональная терапия больных отомикозом требует развернутых и целенаправленных микологических и бактериологических исследований.

Կատարվել է մանրէաբանական վերլուծություն օտոմիկոզով հիվանդների մոտ: Սնկային ախտահարումների ժամանակ որոշվել են հարուցիչ սնկերի հիմնական ցեղերը, անց է կացվել նրանց տեսակային դասակարգում կախված սնկային ականջաբորբերի կլինիկական ձևերից: Բացահայտվել է ուղեկցվող բակտերիալ ֆլորայի հաճախականությունը և նրանց դերը ականջի սնկային հիվանդությունների ժամանակ: Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ օտոմիկոզով հիվանդների ռացիոնալ բուժումը պահանջում է ծավալուն և նպատակաուղղված սնկաբանական և բակտերիոլոգիական հետազոտություններ:

Microbiological analysis is carried out among patients with otomycosis. Basic genus of fungal agents of mycosis of given localization are defined, their form identification is carried out depended on clinical forms of mycotic otitis. Frequency and importance of concomitant bacterial flora is determined in cases of fungal diseases of ear. Examinations showed that rational therapy of patients with otomycosis requires developed and purposeful mycological and bacteriological examinations.

Ототмикоз - плесневые и дрожжеподобные грибы - бактериальная флора

В последние годы отмечается неуклонный рост грибковой патологии во всем мире [3, 7]. По данным ВОЗ (1995), 20% населения планеты страдает различного рода микозами. Многие авторы отмечают увеличение частоты микотического поражения ЛОР-органов, в частности отомикозов [4 - 6, 8]. Исследования, проведенные в Московском НИИ оториноларингологии показали, что среди грибковых поражений ЛОР-органов отомикоз встречается чаще всего (50% от всех диагностированных больных с микозами ЛОР-органов).

Одной из причин значительного поражения населения грибковыми заболеваниями ушей является недостаточная осведомленность о путях распространения грибковой инфекции и мерах профилактики. В свою очередь, не все врачи оториноларингологи хорошо знакомы с данной патологией [1, 4, 5]. До настоящего времени недооценивается роль грибковой флоры при

патологии среднего уха, поскольку существовала научная концепция о том, что отомикоз – это грибковое заболевание только наружного уха. Между тем микотическим процессом поражается не только наружное ухо, но и среднее, а также послеоперационные полости уха [1, 4, 5, 8, 11].

Возбудителями отомикоза являются в основном плесневые грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium* и дрожжеподобные грибы рода *Candida*. Это условно - патогенные грибы, которые широко распространены в природе и при соответствующих условиях эндогенного и экзогенного порядка переходят к паразитическому образу жизни и вызывают заболевание [4]. По мнению многих авторов, основную роль в этиологии микотических отитов играют грибы рода *Aspergillus* [2-5, 12]. Не менее значимую роль другие авторы приписывают грибам рода *Candida* и *Penicillium* [8, 10, 11]. В отдельных случаях грибковые заболевания ушей могут вызывать грибы родов *Mucor*, *Alternaria*, *Scopulariopsis*, *Scedosporium apiospermum* и др. [4, 9, 10]. В настоящее время известно более 150 видов патогенных грибов, которые были описаны как возбудители отомикоза [4].

Лишь в единичных публикациях авторами приведены сообщения о наличии сопутствующей бактериальной флоры и ее роли в клинических проявлениях при грибковых поражениях уха [2, 13].

Целью нашего исследования было определение возбудителей наружных и средних микотических отитов и микозов послеоперационных полостей уха, их видовая идентификация, выявление наличия сопутствующей бактериальной флоры и ее роль в клиническом течении отомикоза.

Материал и методика. В период с 2001 по 2004 г. под нашим наблюдением находились 175 больных с верифицированным диагнозом отомикоз в возрасте от 15 до 82 лет. Из них мужчин было 74 (42,3%), женщин - 101 (57,7%).

Всем больным при поступлении или обращении в клинику проводили комплекс обязательных и специальных диагностических исследований, в том числе микробиологические - микроскопия и культуральная диагностика.

Материалом для бактериологического и бактериоскопического исследований явилось патологическое отделяемое из наружного слухового прохода, среднего уха и послеоперационной полости уха. Забор патологического материала проводили с помощью одноразовых стерильных тампонов с транспортной средой, острой стерильной ложечкой путем соскоба поверхностного слоя эпидермиса со стенок слухового прохода или трепанационной полости, а также с помощью аттикового зонда из среднего уха через перфорационное отверстие.

Патологический материал изучали в нативных и окрашенных по методу Грама препаратах с иммерсионным микроскопированием (x 900).

Микологическое исследование проводили общепринятым методом с использованием среды Сабуро с добавлением антибиотика. Отделяемое с тампонов в транспортной среде засекали на плотную среду Сабуро с помощью бактериологической петли, втирая на небольшом участке среды тампон со всех сторон. Инкубацию засеянного материала проводили в термостате при 25-27° в течение 5 суток.

С целью выделения и идентификации сопутствующей бактериальной флоры посевы патологического материала проводили также на поверхности других питательных сред:

- ЖСА - для выделения кокковой микрофлоры, в т. ч. *Staphylococcus aureus*;
 - кровяной агар (5%-ный) - для выделения микроорганизмов с гемолитической активностью;
 - Эндо - для выделения микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae*.
- Чашки с засеянным материалом инкубировали в термостате при 37° в течение 24-48 ч. Дальнейшую идентификацию микроорганизмов проводили общепринятыми

методами. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным (противогрибковым и противобактериальным) препаратам проводили с использованием среды Mueller-Hinton диско - диффузионным методом. Кроме того, в активной стадии аспергиллёза, т. е. когда образуется много микотических масс с воздушным мицелием, для диагностики нами был использован операционный отоларингологический микроскоп (отомикроскопический способ экспресс - диагностики).

Результаты и обсуждение. Проведенные микологические исследования показали, что определяющим этиологическим фактором отомикоза являются плесневые грибы рода *Aspergillus*, которые идентифицированы у 140 больных, что составляет 80%. Отомикозы, обусловленные дрожжеподобными грибами рода *Candida*, зарегистрированы почти в 5 раз реже 26 (14,8%). И только в 9 (5,2%) случаях встречались грибы рода *Penicillium*. Причем, исследованиями видовой идентификации возбудителей отомикоза нами установлено, что наиболее частым возбудителем является *A. niger* у 75 (42,8%) больных, *A. flavus* выявили у 47 (26,8%), *A. fumigatus* у 18 (10,3%), *C. albicans* у 26 (14,8%), *P. notatum* у 9 (5,3%) больных (табл. 1).

Таблица 1. Грибы - возбудители при различных клинических формах отомикоза

Вид возбудителя	Клинические формы отомикоза						Всего	
	микотический наружный отит		микотический средний отит		микоз после- операцион- ной полости			
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
<i>A. niger</i>	53	42,4	17	44,8	5	41,7	75	42,8
<i>A. flavus</i>	36	28,8	9	23,6	2	16,7	47	26,8
<i>A. fumigatus</i>	13	10,4	4	10,5	1	8,3	18	10,3
<i>C. albicans</i>	16	12,8	7	18,5	3	25	26	14,8
<i>P. notatum</i>	7	5,6	1	2,6	1	8,3	9	5,3
Итого	125	100	38	100	12	100	175	100

При детальном анализе результатов микологических исследований в зависимости от клинической формы отомикоза нами установлено, что у 125 больных возбудителями микотического процесса в наружном ухе были грибы *A. niger* (53), *A. flavus* (36), *A. fumigatus* (13), *C. albicans* (16) и *P. notatum* (7). Сравнительный анализ видового состава грибов, явившихся причиной микотического среднего отита, показал, что наибольшее значение опять же имеют грибы рода *Aspergillus*, в частности *A. niger*, который был обнаружен у 17 из 38 больных с микотическим средним отитом. Возбудителями заболевания у больных микозом послеоперационных полостей среднего уха также были грибы родов *Aspergillus* (8), *Penicillium* (1) и дрожжеподобные грибы рода *Candida* (3). Чаше всего у 66,7% больных наблюдался аспергиллез, а основным возбудителем являлся *A. niger* (41,7% больных). Относительно часто встречался *C. albicans*, который зарегистрирован нами у 25%. Вместе с тем, у 7 (4%) больных отомикозом выявлено наличие смешанной инфекции - сочетание *A. niger* и *C. albicans*. Контаминация *A. niger* и *A. flavus* идентифицирована в 5 (2,8%) случаях. При этом, наиболее часто смешанная грибная инфекция выявлена при микотических средних отитах.

Очень важно отметить, что у 115 (65,7%) больных отомикозом отмечалось наличие сопутствующей бактериальной флоры (табл. 2).

Таблица 2. Сочетание грибковой и бактериальной флоры у больных отомикозом

Грибы \ Бактерии	<i>A.niger</i>		<i>A.flavus</i>		<i>A. fumigatus</i>		<i>C.albicans</i>		<i>P.notatum</i>		Итого	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
<i>S. aureus</i>	19	31,1	12	37,5	3	27,3	3	42,8	1	25	38	21,7
<i>S. epidermidis</i>	13	21,3	8	25	5	45,4	2	28,6	-	-	28	16
<i>Streptococcus ssp.</i>	15	24,6	7	21,9	2	18,2	1	14,3	2	50	27	15,4
<i>Enterobacter</i>	4	6,55	2	6,25	-	-	-	-	-	-	6	3,42
<i>P. vulgaris</i>	5	8,2	3	9,35	1	9,1	-	-	1	25	10	5,71
<i>P.seudomonas</i>	5	8,25	-	-	-	-	1	14,3	-	-	6	3,42
Всего	61	100	32	100	11	100	7	100	4	100	115	65,7

Наиболее часто встречается сочетание *A. niger* с *S. aureus* 19 (31,1%). Ассоциация *A. niger* со *S. epidermidis* и *Streptococcus ssp.* зарегистрирована в 13(21,3%) и 15(24,6%) случаях соответственно. Основные представители сопутствующей бактериальной инфекции были: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus ssp.*, *P. vulgaris*, *Enterobacter* и *Pseudomonas*.

На основании клинических наблюдений мы пришли к выводу, что 90% резистентных, трудно поддающихся лечению случаев отомикозов связаны с наличием смешанной грибково – бактериальной инфекции. Следовательно, клинические проявления при микотических наружных и средних отитах, микозах послеоперационных полостей обусловлены не только грибковым поражением, но и симптоматикой отёчно-воспалительного гнойного наружного и среднего отита.

Таким образом, проведенные исследования показали, что ведение больных отомикозом требует развернутых и целенаправленных микробиологических исследований для проведения комплексной, патогенетически обоснованной рациональной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бурова С.А., Макова Г.Н., Клешин Д.А. Успехи медицинской микологии. М., 2, с. 218, 2003.
2. Воробьева А.Г., Ходжаева К.А., Баженов Л.Г. Успехи медицинской микологии. М., 2, 284-286, 2003.
3. Качук М.В. Успехи медицинской микологии. М., 2, 65-66, 2003.
4. Кунельская В.Я. Concilium-Medicum, 3, 8, 2001.
5. Кунельская В.Я., Шадрин Г.Б. Успехи медицинской микологии. М., 2, 254-265, 2003.
6. Морозова С.В. Русский медицинский журнал, 9, 16-17, 2001.
7. Рыжко П.П. Успехи медицинской микологии. М., 2, 145-148, 2003.
8. Чистякова В.Р., Наумова И.В. Журн. "Лечащий врач", 02-03, 1999.
9. Besbes M., Makni F., Cheikh-Rouhou F., Sellami H., Kharrat K., Ayadi A.

Revue de Laryngologie Rhinologie, 123 (2): 77-8, 2002.

10. *Garcia-Martos P., Delgado D., Marin P., Mira J.* Enferm Infecc Microbiol Clin, Nov; 11 (9): 487-9, 1993.
11. *Kurnatowski P., Filipak A.* Mycoses, 44 (11-12): 472-9, Dec 2001.
12. *Ologe F.E., Nwabuisi C.* West African Journal of Medicine. 21 (1): 34-6, 2002 Jan-Mar.
13. *Ozcan K.M., Orecan M., Karaarslan A., Karaarslan F. J.* Laryngol Otol, 117 (1): 39-42, Jan 2003.
14. *Del Palacio A., Garau M., Tena D.* Rev. Iberoam Micol, 16: 161-163, 1999.

Поступила 28.IV.2004

Биол. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 579.6:620.193.8

ОБ АДГЕЗИВНЫХ СВОЙСТВАХ ГРИБОВ-БИОДЕГРАДАНТОВ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ

Л.Г. АНТОНЯН, В.Б. ГОГИНЯН, Н.Л. КАЗАНЧЯН, Э.К. АФРИКЯН

Республиканский Центр Депонирования Микробов НАН Армении, 378510,
г. Абовян, microbio@sci.am

Изучена адгезия к поверхности полимерных пленок спор различных видов грибов, выделенных из биоповрежденной космической техники. С применением оригинальной методики показано, что адгезивные свойства спор изученных видов грибов имеют штаммовые отличия и в определенной степени приурочены к отдельным видам. С использованием культуры активного биодеграданта *Penicillium aurantiogriseum* исследованы особенности процесса адгезии спор к поверхности лавсана (полиэтилентерефталат).

Ուսումնասիրվել են կենսաքայքայված տիեզերական տեխնիկայից անջատված տարբեր տեսակի սնկերի սպորների ադիզիվ ադիզիվային թաղանթների մակերևույթին: Յուրօրինակ մեթոդիկայի կիրառմամբ ցույց է տրվել, որ սնկերի ուսումնասիրված տեսակների ադիզիվային հատկությունները ունեն որոշակի տեսակային և շտամային պատկանելիություն: Օգտագործելով ակտիվ կենսաքայքայիչ *Penicillium aurantiogriseum*-ի կուլտուրան ուսումնասիրվել են սպորների ադիզիվայի երևույթը լավսանի (պոլիէթիլենտերեֆտալատ) մակերևույթին:

Adhesion of spores of different species of fungi isolated from biodegraded space technique to the surface of polymeric films has been studied. Using an original methodology it was revealed that adhesive properties have species specificity with strains deviations. By application of active biodegradant culture of *Penicillium aurantiogriseum* the patterns of adhesion phenomena have been investigated to dacron (polyethylene terephthalate) films.

Грибы-биодеграданты - адгезия — полимерные материалы

Способность микробных клеток прилипать к различным поверхностям (адгезионная способность) представляет большой интерес для решения широкого круга вопросов инфекционной патологии, биодеградации различных материалов и микробных ценозов в природе. В физическом плане существенный интерес представляют работы по определению силы адгезии частиц (клеток) путем фиксации их с последующим отрывом под действием центробежной силы инерции и вычислением силы адгезии по числу отделившихся частиц (клеток) [2, 3].

Адгезия микробных клеток является начальной стадией биообрастания материалов, однако общепринятыми методами невозможно рассматривать этот процесс в комплексном подходе для оценки микробного биоповреждения и биоразрушения полимерных материалов. Целевой установкой этих работ должна явиться разработка научно-технических предложений и рекомендаций

по направленному созданию синтетических полимерных материалов и других органических соединений с заданными свойствами на микробиологическую стойкость. Условия эксплуатации неметаллических материалов в герметически замкнутых системах, в частности обитаемых космических аппаратах, требуют предотвращения обрастания неметаллических материалов микроорганизмами, которые могут служить источником различных инфекций.

Процессы микробного обрастания и разрушения синтетических полимеров имеют определенные закономерности и общие особенности.

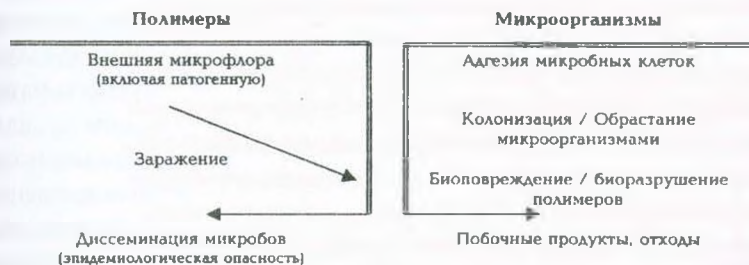


Рис. 1. Основные стадии микробных повреждений и разрушений материалов из синтетических полимеров.

На рис. 1 схематично представлены основные этапы развития процесса микробного повреждения полимерных материалов: адгезия клеток, рост и колонизация, образование различных метаболитов, таких как ферменты, органические кислоты и другие продукты микробного метаболизма.

Ведущей группой микроорганизмов, участвующих в процессах обрастания и биоповреждений материалов, являются микроскопические грибы, причем внутри отдельных родов и видов грибов обнаруживается большая вариабельность, что проявляется как их сильной агрессивностью, так и полным отсутствием ее [1, 4].

В настоящее время опубликованы крайне ограниченные сведения, касающиеся микробиологических повреждений материалов, применяемых в космической технике, несмотря на исключительную важность данной проблемы для жизнеобеспечения космических полетов.

Наша работа посвящена изучению адгезии спор грибов, выделенных из космической техники, к поверхности полимерных пленок.

Материал и методика. Объектами исследований служили водные суспензии спор грибов-биодegradантов, выращенных на агаризованных средах Чапека и Сабуро (инкубация 14 сут., 28°): *Aspergillus ustus* 8268*, *A. fumigatus* 12036, *A. niger* 8133, *A. puniceus* 8287, *A. terreus* 8114, *Cladosporium herbarum* 8270, *Paecilomyces variotii* 8135, *Penicillium aurantiogriseum* 8119, *P. aurantiogriseum* 12040, *P. chrysogenum* 8128, *P. funiculosum* 8120, *P. melinii* 12035, *P. melinii* 12038, *P. chrysogenum* 12039, *Scopulariopsis brevicaulis* 8272, *Trichoderma viride* 8125, *Ulocladium botrytis* 12037.

На поверхность пленок полимеров (фторопласты, полиамиды, полиимиды и др.), закрепленных на вращающемся алюминиевом диске диаметром 10 см, наносили суспензию спор микромицетов (титр 100 тыс. КОЕ/мл) в объеме 1,0 мл. Далее, после последовательных вращений с угловой скоростью 500 и 3000 об/мин в течение 2 мин и одномоментной фазой покоя между ними, проводили исходные отпечатки. Затем, последовательно

* Номера штаммов указаны по Коллекции культур Республиканского Центра Депонирования Микробов.

проводили смывы стерильной водой и 1%-ным раствором твина 60, и после вращения диска с угловой скоростью 3000 об/мин проводили новые последовательные отпечатки на чашки Петри с предварительно разлитой средой Чапека. Чашки инкубировали в термостате при 28° в течение 5-7 сут. Учет числа колоний проводили с помощью трафарета, подкладываемого под чашку Петри. Число выращенных колоний учитывали по формуле, на единицу площади радиальной поверхности чашки:

$$S_k = N_k / (R_k - R_{k-1})^2,$$

где S_k - число колоний на единицу площади; N_k - количество радиально расположенных колоний; R_k и R_{k-1} - радиусы.

Результаты и обсуждение. Нами испытаны различные методы исследования адгезии микроорганизмов на поверхности синтетических материалов с использованием установки с прокачиванием культуральной жидкости между двумя параллельными дисками исследуемого материала и установки с вращающимся экспериментальным диском с заданными выходными параметрами. С использованием созданных установок исследована кинетика адгезии микробов при различных угловых скоростях вращения диска.

На основе сравнительного изучения выбран метод исследования адгезии клеток микробов с определением радиального распределения микроорганизмов на поверхности вращающегося в плоскости диска с пленкой полимерного материала. Результаты опыта позволили установить из изученных культур наиболее активные по адгезивным свойствам штаммы, что видно из выборочных данных, представленных в таблице.

Таблица. Адгезивные свойства некоторых штаммов грибов-биодегрантов (средние данные 3-х повторностей)

Культуры грибов-биодегрантов	Число колоний на единицу площади радиальной зоны R_n чашки Петри								
	Исходный отпечаток			Отпечаток после смыва стерильной водой			Отпечаток после смыва 0,5%-ным раствором твина 60		
	R1	R3	R5	R1	R3	R5	R1	R3	R5
<i>Aspergillus fumigatus</i> 12036	1,0	10,8	Сп. р.	0	4,8	Сп. р.	0	1,1	11,3
<i>A. niger</i> 8133	0	0,3	1,8	Н.д.	Н.д.	Н.д.	Н.д.	Н.д.	Н.д.
<i>A. puniceus</i> 8287	40,0	32,0	Сп. р.	1,0	0,8	1,5	2,0	0,2	0,5
<i>A. terreus</i> 8114	Сп. р.	Сп. р.	Сп. р.	20,0	16,0	15,0	11,0	14,0	0
<i>A. ustus</i> 8268	10,0	48,0	35,0	10,0	6,0	0	0	0,2	0
<i>Cladosporium herbarum</i> 8270	60,0	24,0	20,0	5,0	2,0	7,3	0	0	1,3
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> 8119	120,0	36,0	0	1,0	3	0	0	3,6	5,5
"-" 12040	Сп. р.	Сп. р.	Сп. р.	1,0	8,4	3,3	0	2,8	2,1
<i>P. chrysogenum</i> 8128	20,0	14,0	17,0	0	1,4	3,5	0	0,2	2,2
<i>P. funiculosum</i> 8120	60,0	48,0	Сп. р.	1,0	2,2	13,3	1,0	1,2	1,7
<i>P. chrysogenum</i> 12039	1,0	3,6	7,1	0	3,0	2,6	1,0	0,4	1,1
<i>P. melinii</i> 12035	120,0	32,0	40,0	16,0	9,6	10,7	20,0	16,0	8,0
"-" 12038	50,0	42,0	44,0	3,0	0,8	8,0	1,0	0	10,7
<i>Paecilomyces variotii</i> 8135	30,0	16,0	11,0	0	0,4	1,4	0	0,2	0
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> 8272	Сп. р.	Сп. р.	Сп. р.	10,0	1,6	0,9	1,0	0	3,3
<i>Trichoderma viride</i> 8125	Сп. р.	Сп. р.	Сп. р.	0	17,6	24,8	0	10,0	0
<i>Ulocladium botrytis</i> 12037	1,0	1,2	Сп. р.	0	0	1,3	0	0	0

Условные сокращения: Сп. р. - сплошной рост, Н.д. - нет данных.

Равномерное распределение колоний на поверхности питательной среды после отпечатков наблюдалось при $\omega=500$ об/мин. Наиболее оптимальным является объем суспензии 1 мл при титре 100 тыс. КОЕ/мл. Адгезивные свойства исследованных микромицетов, согласно полученным данным, являются видоспецифичными. Так, например, штамм *A. niger* 8133, имея сходные структуру и размеры конидий с *A. ustus* 8268, в отличие от второго, высокими адгезивными свойствами не обладал. В другом случае, вид *C. herbarum* 8270 с гладкостенными конидиями обладал высокими адгезивными свойствами.

Серия специальных исследований, проведенных для установления наличия взаимоотношений между размерами и поверхностью спор с их адгезивностью, не позволила установить существование определенной закономерности между ними.

Исследованиями обнаружено, что высокой адгезивностью характеризуются споры следующих видов: *P. aurantiogriseum* (*cyclopium*) 8119, *P. aurantiogriseum* 12040, *P. chrysogenum* 8128, *P. funiculosum* 8120, *P. melinii* 12035, *P. melinii* 12038, *P. variotii* 8135, *T. viride* 8125, *A. terreus* 8114; *A. puniceus* 8287, *A. ustus* 8268, *C. herbarum* 8270, *S. brevicaulis* 8272.

В процессе изучения явления адгезии микроорганизмов на поверхности полимерных материалов исследована зависимость процесса обрастания от угловых скоростей вращения диска с использованием смыва суспензии грибов водой и детергентами (твин, желчь).

Одним из наиболее активных штаммов грибов-биодegradантов являются споры *P. aurantiogriseum* 8119, который был более подробно изучен с применением различных детергентов по схеме, представленной на рис. 2.

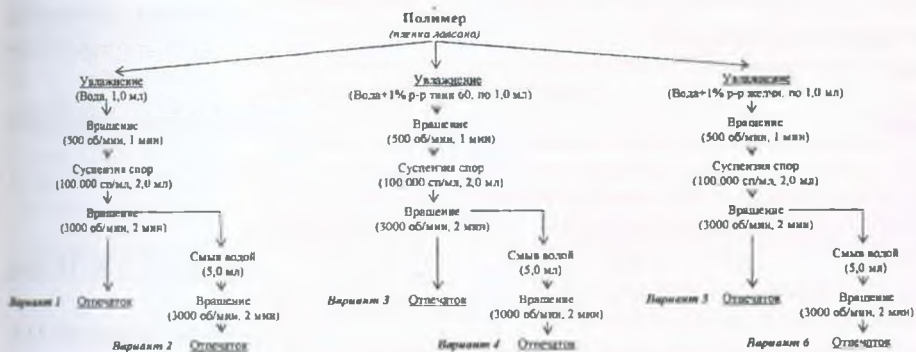


Рис.2. Схема вариантов опыта изучения адгезивных свойств *Penicillium aurantiogriseum* 8119

На рис. 3 представлено графическое изображение зависимости адгезивных свойств спор *P. aurantiogriseum* 8119 к лавсану от детергентов, которыми обрабатывали поверхность полимера.

Видно, что при увлажнении материала водой с последующим нанесением суспензии спор микромицета и отпечатками происходит относительно равномерное распределение количества колоний по всей поверхности питательной среды, что указывает на высокую адгезивную активность микроорганизма даже при достаточно высокой угловой скорости

вращения диска с полимером. Отпечатки спор более отчетливо видны на ближних к центру радиальных поверхностях материала. Однако при нанесении детергентов, таких как 1%-ные растворы твина 60 и желчи, сила сцепления микроба с поверхностью материала резко уменьшается. Отпечатки испытуемого материала показали, что споры распределяются на средних и дальних радиальных поверхностях полимера как при низких, так и при высоких угловых скоростях, причем надо отметить и тот факт, что споры культуры полностью не смываются с поверхности лавсана.



Рис. 3. Адгезивные свойства *Penicillium aurantiogriseum* 8119 к лавсану (варианты по схеме рис.2).

Таким образом, сравнительные испытания с использованием штаммов различных видов грибов с биоповреждающей активностью к полимерам позволили сделать заключение о наличии определенной видовой специфики испытанных грибов в явлении микробной адгезии. Полученные данные использованы для разработки математических формул для интерпретации адгезии микробных клеток.

Авторы выражают признательность С.А. Геворкян и Н.С. Хачатурян за идентификацию предоставленных культур грибов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Микробное повреждение материалов. Сб. под ред. Африкяна Э.К. Изд-во Академии наук Арм. ССР, Ереван, 180 с, 1985.
2. Трусков В.М. Сибирский вестник сельскохозяйственной науки, 3, 111-114, 1982.
3. Microbial Adhesion to Surfaces. Berkeley R.C. W. et al., eds. E. Horwood Ltd, London., Chichester Publishers. 560 pp, 1980.
4. Zita A., Hermansson M. FEMS Microbiology Letters, 152, 2, 299-306, 1997.

Поступила 02.IV.2004

Биолог. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 628.35:579.66

ОБ ИНТЕНСИФИКАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД АМИНОКИСЛОТНОГО ПРОИЗВОДСТВА

А.С. АВЕТИСЯН, Р.В. ПАРОНЯН, А.В. АРУТЮНЯН

АОЗТ “НИИ Биотехнологии” МТЭР РА, 375056, Ереван

Проведено лабораторное исследование возможности интенсификации биологической очистки сточных вод в производстве аминокислот с использованием водорастворимого переносчика кислорода. Показано, что применение переносчика кислорода интенсифицирует процесс очистки при повышенной нагрузке на активный ил. При этом химическое потребление кислорода очищенной воды снижается на 20% по сравнению с контролем, что служит показателем стимулирующего действия переносчика. Установлено, что степень очистки сточной воды при внесении переносчика кислорода увеличивается на 10%.

Լաբորատոր պայմաններում ուսումնասիրվել են ամինաթթուների արտադրության կեղտաջրերի կենսաբանական մաքրման արդյունավետության բարձրացման հնարավորությունները ջրում լուծելի թթվածնի փոխադրիչի կիրառմամբ: Ցույց է տրված, որ թթվածնի փոխադրիչը մաքրման պրոցեսը ինտենսիֆիկացնում է ակտիվ տիղմի վրա բարձր բեռնվածության պայմաններում: Ընդ որում մաքրված ջրի թթվածնի քիմիական պահանջը ստուգիչ փորձի համեմատ նվազում է 20%-ով, որը թթվածնի փոխադրիչի խթանող ազդեցության ապացույց է: Հաստատվել է, որ թթվածնի փոխադրիչի ներմուծման դեպքում կեղտաջրի մաքրման աստիճանը ավելանում է 10%-ով:

The laboratory tests on biological treatment of sewage intensification in amino acid production with oxygen transfer were carried out. The use of oxygen transfer intensifies the purification process with an increased load on the active bed. The chemical use of the oxygen found in purified water decreases by 20% in comparison with the control results, which is a good indication of the stimulating activity of the transfer agent. It is stated that the degree of sewage purification with the oxygen transfer increases by 10%.

Аминокислота — сточные воды — биологическая очистка — переносчик кислорода

Одной из проблем микробиологической промышленности является очистка сточных вод [6]. Широко применяемый биологический метод очистки имеет ряд недостатков, существенным из которых является низкая степень аэрации стоков, а отсюда лимит по кислороду для микроорганизмов активного ила, применяемых в процессе биологической очистки [5,8].

Одним из путей повышения концентрации растворенного кислорода при очистке стоков может быть введение в очищаемую воду веществ, лабильно связывающих кислород газовой фазы (аналогично функции гемоглобина) и передающих его в жидкость или клетку [4]. Указанные вещества в свою очередь должны быть инертными (нетоксичными) и легко отделяться от очищенной воды. Повышение концентрации растворенного кислорода в

очищаемой воде путем увеличения удельного расхода воздуха или парциального давления кислорода в газовой фазе приводит к увеличению энергозатрат, а также к отдувке легколетучих веществ в атмосферу [4].

Целью настоящей работы является исследование возможности интенсификации биологической очистки сточных вод микробиологического производства L-лизина. Биологическая очистка сточных вод производства L-лизина ранее исследовалась в работах [1, 3, 9].

Материал и методика. Объектом исследования служил сорбционный сток микробиологического производства кристаллического L-лизина (ОПУ "НИИ Биотехнологии"). Использован переносчик кислорода, разработанный в КХТИ-Россия [2].

Исследуемый сток, химическая потребность кислорода (ХПК) которого составляет 32000 мгО₂/л, нейтрализовали щелочью до pH 6,5-7,5 и после разбавления исследовали от 100 до 10 раз.

Исследования проводили на первой ступени лабораторной установки биологической очистки, которая включает аэротенк объемом 2 л и отстойник – 0,4 л. Сточная вода из сборника равномерно подавалась в начало аэротенка с помощью мембранного насоса. Передача активного ила из отстойника в аэротенк осуществлялась с помощью такого же насоса. В аэротенк подавали воздух, который проходил через аэратор. В качестве аэратора использовали тканевый фильтр, который способствовал измельчению пузырьков воздуха, что в свою очередь обеспечивало равномерное перемешивание ила со стоком и увеличивало массообмен с кислородом. На воздуховоде установили регулятор с ротаметром (марка РМ-А-0,063Г), с помощью которого поддерживали необходимый расход воздуха. Иловая смесь самотеком поступала в отстойник, где ил осаждался. Для поддержания возраста активного ила из соответствующих отверстий аэротенка периодически удаляли определенное количество активного ила – избыточный ил (ИИ). Возвратный ил (ВИ) из отстойника с помощью мембранного насоса перекачивали в аэротенк. Переносчик кислорода (ПК) соответствующей концентрации добавляли в сборник для очищаемой сточной воды. Для оценки эффективности переносчика кислорода в очистке сточных вод опыты проводили на двух параллельных установках при одинаковых условиях очистки, одна из которых работала без переносчика кислорода (контроль).

ХПК определяли бихроматным методом [7].

Результаты и обсуждение. Сточные воды микробиологических производств L-аминокислот образуются в основном на стадиях биосинтеза, ионообменного выделения и очистки целевого продукта. В производстве кристаллического L-лизина кормового назначения культуральная жидкость в стадии биосинтеза подается на ионообменную колонну без предварительной обработки, что позволяет сорбционный сток использовать в качестве модельного субстрата в процессе биологической очистки. В Армении потенциальным производителем кристаллического L-лизина является АО "Лизин" (Чаренцаван).

Изучение влияния переносчика кислорода на эффективность биологической очистки сточных вод производства L-лизина в зависимости от нагрузки на активный ил по ХПК показывает, что с увеличением нагрузки повышается эффективность влияния переносчика кислорода на очистку (табл. 1).

Показано, что максимальное и стабильное повышение эффективности очистки с использованием водорастворимого переносчика кислорода наблюдается после адаптации активного ила при заданном режиме по нагрузке. Данные приведены в табл. 2. Пуск и выход в лабораторной установке по биологической очистке сточных вод на первый заданный режим с ХПК очищаемой воды ≈ 1000 мгО₂/л длится 15 дней.

Таблица 1. Повышение эффективности очистки в зависимости от нагрузки на активный ил

Контрольный опыт без переносчика кислорода			Опыт с переносчиком кислорода			Повышение эффективности, %
ХПК, мг О ₂ /л		Степень очистки, %	ХПК, мг О ₂ /л		Степень очистки, %	
до очистки	после очистки		до очистки	после очистки		
720	80	89.0	720	70	90.0	12.5
1100	130	88.0	1100	110	90.0	15.0
1960	300	84.7	1960	220	88.8	27.0
3950	830	79.0	3950	630	84.0	23.0

Таблица 2. Влияние переносчика кислорода на повышение эффективности при заданном режиме очистки

Дни	Концентрация активного ила, г/л		ХПК, мг О ₂ /л			Повышение эффективности, %
	до очистки	опыт	до очистки	после очистки		
				контроль	опыт	
15	-	-	1000	380	340	10.5
16	-	-	972	208	-	-
17	-	-	1000	246	180	26.8
18	-	-	1000	230	160	30.4
19	-	-	1100	200	160	20.0
20	-	-	1100	190	154	18.9
21	-	-	1280	-	-	-
23	-	-	1800	364	324	11.0
24	2.36	2.38	1960	504	412	18.2
25	2.48	2.59	2560	656	616	6.0
26	3.05	2.84	2920	780	716	8.2
27	2.73	3.13	3468	890	810	9.0
28	3.03	2.78	-	-	-	-
29	3.19	2.98	3760	970	880	9.3
30	2.95	3.03	4180	1100	952	13.4
31	3.08	2.96	3900	1000	890	11.0
33	3.06	2.90	3940	860	712	17.2
35	3.00	2.92	3940	806	704	12.7
38	-	-	3980	788	624	20.8
40	3.12	2.96	3960	824	632	23.3
41	-	-	3930	818	634	22.5
45	3.20	3.10	3920	808	660	18.3
46	-	-	3960	810	646	20.2
47	3.18	3.08	3920	824	638	22.5
49	3.16	3.04	-	-	-	-
51	3.16	3.04	-	-	-	-

Как видно из табл.2, после 17-го дня адаптация активного ила при данном режиме по нагрузке завершается, и эффективность очистки как без применения переносчика кислорода, так и с применением стабилизируется. Повышается и стабилизируется также влияние переносчика кислорода на очистку. На второй заданный режим со значением ХПК около 4000 мг O_2 /л установка выводится в течение 9 дней (30-й день), столько же дней требуется для адаптации активного ила. В течение 10 дней установка работает стабильно, а повышение эффективности очистки с использованием переносчика составляет в среднем 20%. Из табл. 2 видно также, что концентрация активного ила в аэротенке с переносчиком по сравнению с таковой в аэротенке без переносчика ниже на 5-7%, что немаловажно в промышленных условиях.

Таблица 3. Влияние переносчика кислорода на повышение эффективности при заданном режиме очистки.

Дни	ХПК, мг O ₂ /л				
	До очистки	После очистки			
		Контроль	Опыт при различных концентрациях переносчика кислорода, г/л		
			-	0.005	0.01
14	940	440	420	380	400
15	1000	360	300	300	320
16	972	288	280	316	284
17	1000	260	220	270	200
18	1000	208	1320	168	150
19	1100	200	168	150	140
20	1100	188	162	132	124
21	1280	220	216	208	160
23	1800	372	300	320	292
24	1960	488	436	440	420
25	1980	408	348	400	326
26	2040	380	288	320	300
27	2030	360	300	268	260
29	2000	328	220	240	200
30	1950	314	200	220	200
31	1950	280	200	220	200
33	1960	320	220	220	200
35	1820	290	200	210	210

Изучение зависимости повышения эффективности очистки от концентрации переносчика кислорода показывает, что изменение концентрации переносчика кислорода от 0.005 г/л до 0,02г/л заметно не влияет на эффективность очистки (табл.3). При нагрузке на активный ил по ХПК ≈ 2000 мг O_2 /л после адаптирования биоценоза в течение 4-5 дней повышение эффективности очистки стоков с использованием переносчика кислорода составляет в среднем 30% и не зависит от концентрации переносчика.

Одним из основных технологических параметров аэробной очистки является продолжительность аэрации. Для выявления зависимости эффективности очистки от продолжительности аэрации проведена серия опытов в двух параллельных лабораторных аэротенках: в одном — без переносчика кислорода (контрольный опыт), в другом — с переносчиком кислорода (концентрация 0,01г/л). Время аэрации варьировали от 12 до 24 ч. Результаты опытов приведены на рис. 1. Как видно из рис. 1, продление времени аэрации от 12 до 24 ч приводит к увеличению степени очистки как в случае опытов без переносчика, так и в опытах с переносчиком. Однако скорость увеличения эффективности очистки с 12 ч до 18 ч значительно выше, чем таковая с 18 ч до 24 ч. Влияние переносчика кислорода на повышение эффективности очистки в зависимости от времени аэрации стабильное и составляет в среднем 22%.

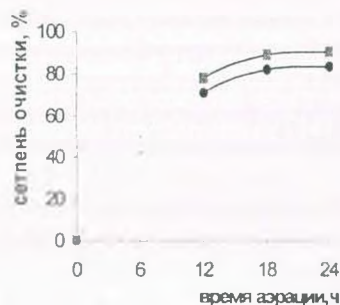


Рис. 1. Зависимость эффективности очистки ила от времени аэрации.

■ опыт с переносчиком кислорода
● опыт без переносчика кислорода

Таким образом, полученные результаты подтверждают, что использование водорастворимого переносчика кислорода в биологической очистке сточных вод микробиологических производств аминокислот, в частности L-лизина, повышает эффективность очистки, стабилизирует активный ил и заметно сокращает количество избыточного активного ила.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аветисян А.С., Шамян В.Л., Захватаева Н.В., Паронян Р.В., Бондарев А.А. Всесоюзн. симп. "Биотехнические и химические методы охраны окружающей среды". Тезисы докладов, Самарканд, 1-3 ноября 1988.
2. Билялова З.М., Емельянов В.М., Еникеев Ш.Г. Гидролизная и лесохимическая промышленность, 1, 15, 1987.
3. Виестур У.Э., Дубровский В.С., Саксе А.К., Руклиш М.П. Изв. АН Латв. ССР, 8, 102-105, 1987.
4. Еникеев Ш.Г., Емельянов В.М. Микробиологическая промышленность, 9, 151, 6-9, 1977.
5. Жуков А.И., Монгайт И.Л., Родзиллер И.Д. Методы очистки производственных сточных вод, М., Стройиздат, 208, 1977.
6. Ковалева Н.Г., Ковалев В.Г. Биохимическая очистка сточных вод производств химической промышленности. М., Химия, 155, 1982.
7. Лурье Ю.Ю., Рыбникова А.И. Химический анализ производственных сточных вод, М., Химия, 1974.
8. Шахматова Р.А., Варшавер Л.С. Водоснабжение и санитарная техника. 3, 27-28, 1989.
9. Яковлев С.В., Карюхина Т.А., Рыбаков С.А., Художа Я., Решетки Д. Очистка сточных вод предприятий химико-фармацевтической промышленности, М., Стройиздат, 40, 1985.

Поступила 14. V. 2003

Биолог. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 577.3:535.37

СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И МЕМБРАННЫХ СТРУКТУР В ПРИСУТСТВИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

А.Е. ЗАКАРЯН, Н.А. САРКИСЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биофизики, 375028

Исследовано влияние противоопухолевых препаратов на процесс перекисного окисления липидов при различных значениях pH среды и активность ферментов антиокислительной защиты — пероксидазы и супероксиддисмутазы биологической мишени. Обнаружено, что все испытываемые препараты подавляют свободнорадикальный окислительный процесс, что отражается в уменьшении уровня спонтанной хемилюминесценции и содержании конечного продукта окисления малонового диальдегида. Выявлено, что степень ингибирования неодинакова для разных препаратов и зависит от pH среды. Показано также, что активность ферментов биологической мишени уменьшается в присутствии противоопухолевых соединений, свидетельствуя об антиоксидантном характере действия последних.

Յետազոտված է հակառնուցքային պրեպարատների ազդեցությունը կենսաբանական թիրախի լիպիդների զերօքսիդային օքսիդացման վրա տարբեր pH դեպքում և հակաօքսիդային պաշտպանության համակարգի ֆերմենտների (պերօքսիդազա և սուպերօքսիդիդիսմուտազա) ակտիվության վրա: Բացահայտված է, որ բոլոր հետազոտվող պրեպարատները ճնշում են լիպիդների ազատ ռադիկալային օքսիդացումը, որը արտահայտվում է քիմյուլմինեսցենցիայի մակարդակի և օքսիդացման վերջնական արդյունքի մալոնային դիալդեհիդի կոնցենտրացիայի նվազմամբ: Ցույց է տրված, որ ինհիբացման աստիճանը տարբեր է հետազոտվող պրեպարատների համար և կախված է միջավայրի pH-ից: Բացահայտված է նաև, որ պերօքսիդազա և սուպերօքսիդիդիսմուտազա ֆերմենտների ակտիվությունը ընկնում է հակառնուցքային պրեպարատների ազդեցության ներքո, որը վկայում է վերջինների հակաօքսիդային հատկությունների մասին:

The influence of some anticancer preparations on lipid peroxidation under different pH of solution and activity of enzymes of antioxidant defense system — peroxidase and superoxide dismutase was investigated. It was found out that these preparations suppressed lipid free radical oxidation, which is reflected by decrease of the level of chemiluminescence and concentration of an end product of lipid peroxidation — malone dialdehyde. It was shown that inhibitor activity is different for investigated preparations and depends on pH of solution. Also it was found that activity of enzymes is decreased under influence of anticancer preparations, which stated about their antioxidant activity.

*Перекисное окисление липидов - противоопухолевые препараты -
спонтанная хемилюминесценция - ферменты*

Процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и липидсодержащих структур, протекающие по свободнорадикальному механизму, играют большую роль в нормальной жизнедеятельности организма [3, 9]. Под влиянием различных факторов, например УФ и ионизирующей радиации,

а также при некоторых патологиях наблюдается изменение уровня этих процессов. В этом аспекте есть много данных по изучению этих нарушений, связанных с развитием злокачественных новообразований [1, 8]. Известно также, что важным этапом при лечении раковых заболеваний является химиотерапия, осуществляемая противоопухолевыми препаратами [14]. В литературе мало данных о взаимодействии противоопухолевых средств с биохимическими компонентами клетки [6, 10], однако вопрос о характере и механизмах этого взаимодействия представляется очень актуальным. В связи с этим нами изучалось влияние различных противоопухолевых препаратов на свободнорадикальное окисление липидов биологической мишени и активность ферментов антиокислительной защиты пероксидазы и супероксиддисмутазы (СОД).

Материал и методика. Одним из лучших и объективных физических методов исследования процессов, протекающих по свободнорадикальному механизму, в том числе и ПОЛ является метод регистрации и изучения спонтанной хемилюминесценции (СХЛ) [12, 13]. В данном случае в качестве хемилюминесцирующего объекта была использована биологическая мишень - гомогенат мозга крупного рогатого скота в трисНСIбфере (соотношение 1:10, рН 7,4). Для изучения действия противоопухолевых препаратов на интенсивность свечения биологическую мишень помещали в оптическую измерительную кювету в объеме 2 мл, а уровень ее СХЛ принимали за исходную величину. Далее к испытываемому образцу добавляли изучаемый препарат с конечной концентрацией 10^{-3} М. СХЛ регистрировали на квантометрической установке в импульсном режиме при температуре, близкой к физиологической ($40 \pm 0,5$) [4]. Изменение уровня свечения в присутствии растворов противоопухолевых веществ служило мерой для оценки активности испытываемых препаратов.

Действие противоопухолевых средств на ПОЛ изучали также по накоплению конечного продукта свободнорадикального окисления липидов - малонового диальдегида (МДА) по методу Стальной и Гаришвили [7].

С целью определения влияния исследуемых средств на пероксидазную активность этой биологической мишени, приготовленной в данном случае на основе фосфатного буфера (рН 7,0), был использован спектрофотометрический метод измерения оптической плотности продуктов реакции, образовавшихся при окислении йодида калия за определенный промежуток времени [2].

Для оценки действия испытываемых противоопухолевых веществ на активность СОД биологической мишени в фосфатном буфере (рН 7,8) был использован метод определения активности указанного фермента, основанный на реакции фоторазложения нитросинего тетраозоля с образованием синего формазана [11].

В экспериментах были использованы противоопухолевые средства, а именно сарколизин, циклофосфан, тиофосфамид, 5-фторурацил, фторафур и колхицин из различных фармакологических групп.

Полученные результаты подвергали статистической обработке по критерию Стьюдента-Фишера и представлены в виде средних арифметических величин и их среднеквадратичных отклонений, что отражено на гистограммах и в таблице.

Результаты и обсуждение. Изучалось влияние исследуемых противоопухолевых препаратов на свободнорадикальный окислительный процесс биологической мишени при разных значениях рН среды. Из полученных экспериментальных данных следует, что при повышении рН от 6,5 до 8,0 наблюдается усиление активации свечения гомогената мозга от 68 ± 2 имп/10сек до 192 ± 4 имп/10сек, то есть более чем на 180%, что не противоречит литературным данным [5] (табл.). При воздействии противоопухолевыми соединениями на биологическую мишень наблюдается снижение интенсивности СХЛ, что, возможно, обусловлено антиокислительной активностью (АОА) испытываемых веществ. Как следует

Таблица 1. Влияние противоопухолевых препаратов на интенсивность спонтанной хемилюминесценции биологической мишени при различных значениях рН среды ($t\ 40^\circ$), (фон установки 30 ± 5 имп./10с)

рН	Гомогенат (контроль)	5-Фторурацил		Фторафур		Тиофосфамид		Циклофосфан		Сарколизин		Колхицин	
	интен- сив- ность СХЛ	интен- сив- ность СХЛ	% инги- бирован- ия	интен- сив- ность СХЛ	% инги- бирован- ия	интен- сив- ность СХЛ	% инги- бирован- ия	интен- сив- ность СХЛ	% инги- бирован- ия	интен- сив- ность СХЛ	% инги- бирован- ия	интен- сив- ность СХЛ	% инги- бирован- ия
6,5	68 ± 2	57 ± 2	16	59 ± 6	13	58 ± 6	15	64 ± 6	6	60 ± 4	12	60 ± 6	12
7	130 ± 8	101 ± 4	22	102 ± 5	21	100 ± 3	23	102 ± 5	21	91 ± 3	30	79 ± 3	39
7,4	126 ± 6	103 ± 4	18	101 ± 6	20	98 ± 8	22	103 ± 3	18	93 ± 3	26	81 ± 5	36
8	192 ± 4	161 ± 7	16	143 ± 4	26	144 ± 4	25	147 ± 1	24	148 ± 2	23	135 ± 4	30

из приведенных данных, степень ингибирования неодинакова для разных препаратов и зависит от pH среды. Так, например, обнаруженная АОО исследуемых соединений имела наибольшее значение при нейтральных значениях pH среды (pH 7,0). При этом наибольшее ингибирование интенсивности свечения биологической мишени наблюдается при действии колхицина и сарколизина (39% и 30% соответственно). При повышении pH среды в сторону щелочных значений проявление антиокислительного действия противоопухолевых препаратов оказывается менее выраженным.

Далее изучалось действие противоопухолевых веществ на образование МДА, отражающее уровень свободнорадикального окисления биологической мишени. Было обнаружено, что все испытываемые препараты приводят к уменьшению образования МДА (рис.1) путем ингибирования цепного свободнорадикального окислительного процесса; при этом степень ингибирования опять-таки неодинакова для разных препаратов. Например, максимальная ингибирующая активность вновь проявляется в случае использования колхицина (60%), а минимальная – тиофосамида (12%).

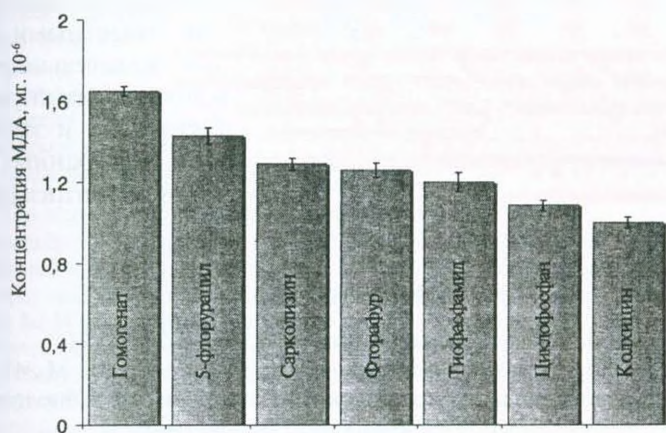


Рис.1. Изменение концентрации МДА под влиянием противоопухолевых препаратов

Таким образом, экспериментальные данные и в этом случае свидетельствуют об антиоксидантном характере действия изучаемых веществ на уровень свободнорадикального ПОЛ биологической мишени и согласуются с результатами, полученными при использовании метода ХЛ анализа.

В последующих экспериментах было изучено влияние исследуемых препаратов на активность ферментов антиокислительной защиты - пероксидазы и СОД (рис.2). Было выявлено, что активность ферментов уменьшается в присутствии противоопухолевых соединений в биологическом материале, при этом максимальное ингибирующее влияние этих препаратов наблюдается при использовании колхицина (40% и 50% соответственно). Как видно из приведенных данных, СОД по сравнению с пероксидазой более чувствительна к действию изучаемых веществ.

Из литературы [3, 6, 8] известно, что при росте злокачественных опухолей, как правило, увеличивается потребность в антиоксидантах (АО), что отражается падением уровня свободнорадикального окисления липидов и угнетением интенсивности СХЛ. Однако в связи с тем, что эти препараты

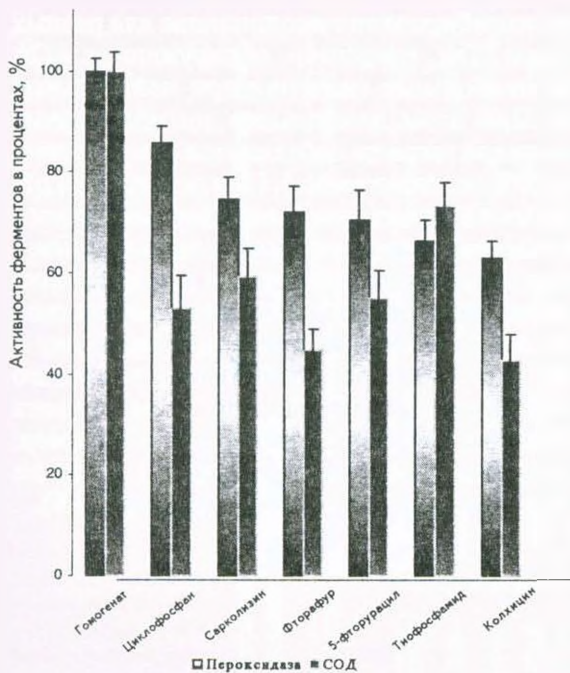


Рис. 2. Ингибирование противоопухолевыми препаратами активности ферментов пероксидазы и супероксиддисмутазы.

ингибируют и активность ферментов антиокислительной защиты, впоследствии их роль в качестве классических АО сводится к минимуму, хотя они все-таки могут играть некоторую мембраностабилизирующую роль.

Таким образом, все изучаемые препараты проявляют антиоксидантный характер при применении различных методических подходов исследования. Это означает, что при обсуждении механизмов биологического действия вышеуказанных препаратов, наряду с общеизвестными объяснениями, желательно учитывать и их антиоксидантную роль для стабилизации и защиты клеточных мембранных структур во время малигнизации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Благосклонный М.В. Успехи соврем. биологии, 3, 2, 260-275, 1991.
2. Ермаков А.И. Методы биохимического исследования растений, М., 41-42, 1982.
3. Закарян А.Е. Свободнорадикальное окисление липидов в биологических и модельных системах в норме и патологии, Ереван, 1995.
4. Закарян А.Е., Цагикян А.Р., Погосян Г.А., Паносян Г.А. Биол. журн. Армении, 43, 51, 1, 1990.
5. Панасенко О.М., Арихольд Ю., Серменко В.И. Биофизика, 51, 3, 463-469, 1998.
6. Серкиз Я.И., Чеботарев Е.Е., Барабой В.А. и др. Хемилюминесценция крови в экспериментальной и клинической онкологии. Киев, Наукова Думка, 1984.
7. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Современные методы в биохимии (под ред. Ореховича В. Н.), М., Медицина, 66-68, 1977.
8. Тарусов Б.Н. Биофизика рака, Киев, Наукова Думка, 107-120, 1976.
9. Benzol F.F. Lipid peroxidation. Inf. T. Food. Sci. and Nutr, 47, 3, 233-261, 1996.
10. Durnev A.D., Sazontova T.G., Guseva M.V., Seredenin S.B. Biull. Eksp. Biol. Med., 5, 121, 528-532, 1996.
11. Fried R. Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxide dismutase. Biochemie, 57, 657-660, 1975.
12. Kondo Y., Ohnishi M., Kawaguchi M. J. Agric. Food. Chem., 5, 47, 1781-1785, 1999.
13. Kuzmenko A.I., Morozova R.P., Nikolenko I.A., Donchenko G.V. Jablonski Centennial Cont. Luminescence and Photophys, Torun, Book Abstr., p.172, 1998.
14. Lennard L. Brit. J. Clin. Pharmacol., 47, 2, 131-143, 1999.

Поступила 12.XII.2003

Биолог. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 591.1.05

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ АРГИНАЗЫ В РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНАХ САЗАНА *CYPRINUS CARPIO L.*

А.Х. АГАДЖАНИЯН, З.С. МИНАСЯН, А.А. ЗАХАРЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии, 375049

Исследовали регуляцию активности аргиназы в различных органах сазана. Выявлено, что аргиназная активность наиболее высокая в почках и превышает таковую печени в четыре раза. Активность аргиназы всех органов самок примерно в пять раз выше, чем в соответствующих органах самцов. Активность фермента всех органов рыб подавляется орнитином, лизином, пролином и валином, причем наиболее эффективно в печени и жабрах. Ингибирование аргиназы пролином свидетельствует о ее функционировании в процессе биосинтеза пролина. Ионы Cd^{2+} подавляют аргиназную активность в почках и в жабрах. Значение K_i аргиназы печени примерно на один порядок меньше по сравнению с K_i аргиназы почек.

Ասումնասիրվել է ծածանի տարբեր օրգանիզմներում արգինազի ակտիվության կարգավորումը: Բացահայտվել է, որ արգինազային ակտիվությունն առավել բարձր է երիկամներում և գերազանցում է լյարդի արգինազային ակտիվությանը չորս անգամ: Էգերի բոլոր օրգանների արգինազային ակտիվությունը հինգ անգամ գերազանցում է արուների համապատասխան օրգանների արգինազային ակտիվությանը: Ձկան բոլոր օրգաններում ֆերմենտի ակտիվությունը ճնշվում է օրնիտինով, լիզինով, պրոլինով և վալինով: Ինհիբիցիան առավել էֆեկտիվ է ընթանում լյարդում և խոիկներում: Պրոլինով արգինազի ինհիբիցիան վկայում է պրոլինի կենսասինթեզի պրոցեսում դրա մասնակցության մասին: Երիկամներում և խոիկներում Cd^{2+} իոնները ճնշում են արգինազային ակտիվությունը: Լյարդի արգինազի K_i -ի արժեքները մոտ 10 անգամ ցածր են երիկամների արգինազի համեմատությամբ:

Arginase activity is higher in the kidney of common carp. It is four times more than arginase activity of the liver. Arginase activity in all organs of the female is five times more than those in the corresponding organs of the male. Ornithine, lysine, proline and valine depress enzyme activity. Inhibition is more effective in the liver and gills. Inhibition of arginase by proline shows its functioning in the process of proline biosynthesis. Cd^{2+} ions increase arginase activity in the kidney and in the gills. K_i of liver arginase activity is about ten times lower in comparison with K_i of the kidney arginase.

Аргиназа - регулирование активности - пролин - сазан.

Регуляция аргиназной активности может осуществляться при участии ряда соединений, которые выполняют роль положительных или отрицательных модуляторов.

Согласно данным Хунтера и Даунса [6], орнитин и лизин являются конкурентными ингибиторами, в то время как остальные аминокислоты проявляют смешанный тип ингибирования. Имеются подробные исследования по ингибированию аргиназы печени овцы аминокислотами [8].

По Газировской и сотр. [5], изофермент аргиназа A_1 конкурентно

ингибируется орнитином в печени, слюнной железе и мозге, а в почках это ингибирование носит смешанный характер.

Изоэнзимы A_3 в печени и A_2 в слюнной железе также ингибируются конкурентно. Особый интерес представляет ингибирование аргиназы пролином. Пролин ингибирует активность аргиназы опухолей молочной железы мышей, что может играть регулируемую роль в механизме метаболизма этих опухолей [9]. Неконкурентный характер ингибирования обнаружен у инфузорий, у лактирующих крыс в молочной железе, фасолевого зерновки и др. [1].

Campbell [4] отмечает активирование аргиназы печени крыс двухвалентными ионами Cd^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , но не Co^{2+} . По данным же Кейсона и Штрекера [7], аргиназа почек активируется ионами Mn^{2+} , Mg^{2+} , в то время как Fe^{2+} , Hg^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} уменьшают активность фермента.

Настоящая работа посвящена изучению некоторых регуляторных возможностей аргиназы в различных органах сазана.

Материал и методика. Объектом исследований служила рыба сазан (*Cyprinus carpio*) массой 1-1.5 кг. Аргиназную активность определяли методами Ратнера [10] с небольшими изменениями, мочевины - методом Арчибальда [3]. Гель-фильтрацию проводили на колонке с сефадексом G-150. Константу Михаэлиса (K_m) определяли графическим методом Лайнуивера-Бэрка, константу ингибирования - по методу Диксона.

Результаты обсуждения. Изучали активность аргиназы в разных органах сазана (табл. 1).

Таблица 1. Активность аргиназы в разных органах сазана

Органы	Активность фермента, $\mu\text{мМ/г}$ свежей ткани	
	Самец	Самка
Почка	54.72 ± 3.4	155.4 ± 6.1
Печень	13.68 ± 0.8	60.7 ± 3.5
Сердце	10.64 ± 0.9	30.2 ± 2.8
Жабры	9.12 ± 0.8	28.3 ± 2.4
Мозг	15.2 ± 1.1	

Выявлено, что активность аргиназы в большей степени проявляется в почках, по сравнению с другими органами, и примерно в 4 раза превосходит таковую в печени. Интересно отметить, что у рыб активность аргиназы в мозге выше, чем в печени. Активность аргиназы всех органов самок превосходит таковую соответствующих органов самцов в 3-4 раза. Это может быть обусловлено половым диморфизмом и откладыванием яиц.

Изучали влияние некоторых аминокислот на активность аргиназы сазана (табл. 2).

Согласно таблице, все изученные нами аминокислоты подавляют активность аргиназы всех органов, но в меньшей степени в печени и жабрах. Наибольшим ингибиторным эффектом обладает орнитин. Подавление активности аргиназы пролином является доказательством того, что неуреотелические организмы участвуют в процессе биосинтеза пролина [2].

Таблица 2. Влияние некоторых аминокислот на активность аргиназы сазана, 1мкМ/г свежей ткани

Органы	Аминокислоты	Активность фермента	Ингибирование, %
Почка	без ингибитора	64,8 ± 4,1	
	Орн	37,8 ± 2,6	41,7
	Лиз	34,3 ± 2,4	47,1
	Про	51,3 ± 3,7	20,8
	Вал	31,8 ± 2,0	50,9
Печень	без ингибитора	20,7 ± 2,1	
	Орн	16,2 ± 1,9	21,7
	Лиз	15,97 ± 1,8	22,9
	Про	5,13 ± 2,1	10,6
	Вал	3,18 ± 2,0	20,8
Сердце	без ингибитора	12,78 ± 1,4	
	Орн	6,04 ± 1,1	52,8
	Лиз	5,1 ± 0,8	59,9
	Про	11,2 ± 1,3	11,8
	Вал	4,1 ± 0,9	67,7
Жабры	без ингибитора	10,3 ± 1,2	
	Орн	7,9 ± 0,9	23,3
	Лиз	5,9 ± 0,7	42,7
	Про	8,9 ± 0,9	13,8
	Вал	7,9 ± 0,8	23,3

Исследовали также влияние некоторых ионов на активность аргиназы сазана (табл. 3).

Таблица 3. Влияние некоторых ионов на активность аргиназы сазана, 1мкМ/г свежей ткани

Органы	Ионы	Активность фермента	Ингибирование, %
Почка	Mn ²⁺	62,4 ± 3,8	
	Cd ²⁺	5,8 ± 0,8	90,7
	Fe ²⁺	49,2 ± 3,1	21,2
	Fe ³⁺	8,61 ± 0,9	86,2
Сердце	Mn ²⁺	14,3 ± 1,4	
	Cd ²⁺	14,3 ± 1,5	0
	Fe ²⁺	0	100
	Fe ³⁺	14,3 ± 1,3	0
Жабры	Mn ²⁺	11,7 ± 1,2	
	Cd ²⁺	0	100
	Fe ²⁺	4,3 ± 0,2	63,3
	Fe ³⁺	15,5 ± 1,6	0

Обнаружено, что по сравнению с ионами Mn²⁺, который является истинным кофактором фермента, ионы Cd²⁺ в почке и жабрах практически

полностью подавляют активность аргиназы, ионы Cd^{2+} и Fe^{3+} не влияют на активность аргиназы в сердце, но повышают ее в жабрах. Существенно различают влияние двухвалентных и трехвалентных ионов на активность аргиназы. Двухвалентные ионы по сравнению с трехвалентными (86%) очень слабо ингибируют ее в почках (21%).

При гель-фильтрации экстрактов почек и печени сазана обнаружены по два изоэнзима аргиназы и три белковых пика (рис. 1, 2). Активность изоэнзима почек значительно уступает таковой II изоэнзима, а в печени обнаруживается обратная картина. Были изучены K_m для двух изоэнзимов аргиназы (табл. 4).

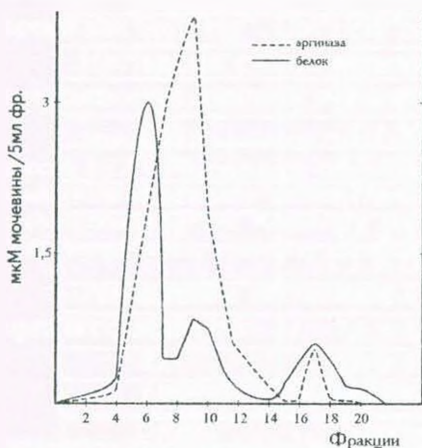


Рис. 1. Изоэнзимы аргиназы печени сазана.

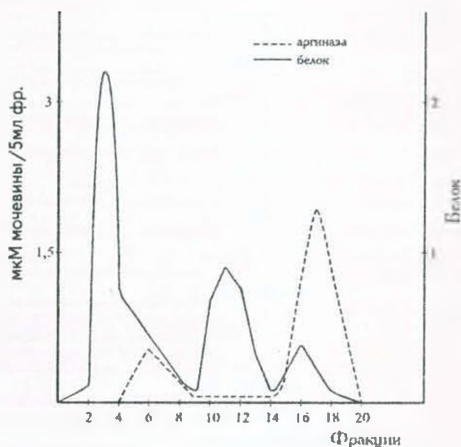


Рис. 2. Изоэнзимы аргиназы почек сазана.

Данные показывают, что все изоэнзимы аргиназы имеют высокие сродства к субстрату. Были проведены исследования по определению константы ингибирования (K_i). Однако из-за низкой активности изоэнзима I аргиназы почек и изоэнзима II аргиназы печени определить ее было невозможно.

Таблица 4. Константа Михаэлиса изоэнзимов аргиназы разных органов сазана, mM

Органы	Изоэнзимы	
	I	II
Почки	0,25	0,28
Печень	0,029	1,2

Таблица 5. Характер ингибирования изоэнзимов аргиназы печени и почек сазана

Органы	Аминокислоты	K_i , mM	Характер ингибирования
Почки II изоэнзим	лизин	0,33	конкурентный
	валин	0,11	конкурентный
Печень I изоэнзим	лизин	0,024	неконкурентный
	валин	0,021	неконкурентный

Из данных табл. 5 видно, что лизин по сравнению с валином более сильный ингибитор. Интересен тот факт, что значения K_i аргиназы печени на один порядок меньше по сравнению с значениями K_i аргиназы почек. Что касается характера ингибирования, то ингибирование аргиназы печени валином и лизином является неконкурентным, в то время как ингибирование аргиназы почек в обоих случаях является конкурентным.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян А.Х. Докт. дисс., Ереван, 1990.
2. Давтян М.А., Агаджанян А.Х. Биолог. журн. Армении. 35, 8, 631-636, 1982.
3. Archibald R.M. J. Biol. Chem., 156, 121-142, 1944.
4. Campbell J.W. J. Biochem. Physiol., 18, 179-199, 1966.
5. Gasirowska I., Porembaska Z., Jachimowicz J., Mochnacka I. J. Biochem., 17 19-30, 1970.
6. Hunter A., Downs C.E. J. Biol. Chem., 157, 427-446, 1945.
7. Kaysen G.A., Strecker H.J. J. Biochem., 133, 779-788, 1973.
8. Kesava Rao K.V., Reddy S.R.R., Swami K.S. J. Biochem., 4, 62-70, 1973.
9. Kesava Rao K.V., Pai S.R., Bapat C.V. J. Cancer, 30, 129-135, 1974.
10. Ratner S., Pappas A. J. Biol. Chem., 179, 1183-1198, 1949.

Поступила 16.IV.2001

Биолог. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 557.1.05

ДЕЗАМИНИРОВАНИЕ АДЕНИНА В НЕКОТОРЫХ РАСТЕНИЯХ, ЖИВОТНЫХ И МИКРООРГАНИЗМАХ

Г.Г. СЕМЕРДЖЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии, 375025

Исследовали процесс дезаминирования в микроорганизмах (*Candida guilliermondii* НП-4), растениях (моховидные — *Pellia epiphylla*), животных (крыса). Выявлено, что в вышеперечисленных организмах действует фермент адениндезаминаза, который проявляет в 2 раза больше активности у моховидных, по сравнению с дрожжами. Исследовано влияние ионов двухвалентных металлов (Mn^{2+} , Zn^{2+}) на активность фермента. Низкие концентрации ионов Zn^{2+} угнетают активность адениндезаминазы. При низких концентрациях ионы Mn^{2+} слабо влияют на активность фермента. Угнетающее влияние увеличивается с увеличением концентрации Mn^{2+} .

Методом гель-фильтрации получены два белковых пика и два ферментативных пика, которые не совпадают с белковыми.

Ուսումնասիրվել է դեզամինացման արոցքը միկրոօրգանիզմների (*Candida guilliermondii* НП-4), բույսերի (մամռանմաններ *Pellia epiphylla*) և կենդանիների մոտ: Բացահայտվել է, որ վերոհիշյալ օրգանիզմների բջիջներում գործում է ադենինդեզամինազ ֆերմենտը, որը մամռանմանների մոտ դրսևորում է երկու անգամ մեծ ակտիվություն խմորասնկերի համեմատությամբ: Ուսումնասիրվել է երկվալենտ մետաղների իոնների (Mn^{2+} , Zn^{2+}) ազդեցությունը ֆերմենտի ակտիվության վրա: Zn^{2+} իոնների ցածր կոնցենտրացիան արդեն ճնշող ազդեցություն է ունենում ֆերմենտի ակտիվության վրա: Mn^{2+} իոնների ցածր կոնցենտրացիաները թույլ ազդեցություն են թողնում ֆերմենտի ակտիվության վրա: Իոնների կոնցենտրացիայի մեծացմանը զուգընթաց մեծանում է նրանց արգելակող ազդեցությունը:

Գել-ֆիլտրացիայի եղանակով ստացվել են երկու սպիտակուցային և երկու ֆերմենտային զգաթներ, որոնք չեն համընկնում իրար հետ:

Process of adenine deamination in microorganisms (*Candida guilliermondii* НП-4), plants (*moos* — *Pellia epiphylla*) and animals (rat) has been studied. Comparatively high activity of enzyme was observed by moos. The influence of different concentrations of bi-valent ions (Mn^{2+} , Zn^{2+}) on adeninedeaminase activity was investigated. It has been shown that the low concentrations of Zn^{2+} ions have an inhibitory influence on the enzyme activity. The low concentrations of Mn^{2+} ions have a weak influence on the enzyme activity, with the increase of concentrations Mn^{2+} ions this inhibitory influence was increased.

By gel-filtration two protein peaks and two enzymatic peaks were obtained, which don't coincide with each others.

Адениндезаминаза - *Candida guilliermondii* НП-4 - *Pellia epiphylla*

В течение долгого времени считалось, что адениндезаминаза представлена только у бактерий, дрожжей, беспозвоночных и отсутствует у позвоночных [3]. Однако применение современных методов позволило не только обнаружить активность фермента в тканях позвоночных, но и выявить

характерные особенности метаболизма аденина [13]. Возникли новые направления исследований в целях использования адениндезаминазы для энзимодиагностики при различных видах патологий. Так, обнаружение адениндезаминазы в тромбоцитах больных лейкемией и отсутствие ее в норме может представлять интерес в отношении разработки теста для определения риска развития лейкемических заболеваний [2]. Для окончательного решения вопроса о биологической распространенности адениндезаминазы необходимы исследования организмов, находящихся на разных уровнях эволюционного развития. В нашей работе приведены данные исследований адениндезаминазы в дрожжах, моховидных растениях и в органах крыс.

Материал и методика. Исследовали наличие адениндезаминазы в микроорганизмах (*Candida guilliermondii* НП-4), растениях (моховидные - *Pellia epiphylla*), животных (крысы) организмах. Эксперименты проводили в условиях фосфатного буфера (рН 7,4), в качестве субстрата применяли аденин, инкубацию проводили в термостате при t 37°, в присутствии $MgCl_2$ (29γ на 0,2м) в течение 1ч 30мин. Аммиак определяли микродиффузионным методом Зелингсона [14] в модификации Силаковой [1].

Результаты и обсуждение. В первой серии экспериментов была исследована ферментативная активность в гомогенатах у разных организмов при различных концентрациях субстрата (табл. 1).

Нами впервые обнаружена ферментативная активность в растительном объекте вообще и, в частности, у моховидных. Причем, активность у последних значительно превосходит таковую ферментов в дрожжах и у крыс.

Таблица 1. Деаминация аденина в гомогенатах различных объектов при разных концентрациях аденина, мкМ на 1 г св.ткани

Концентрация, аденина, мкМ	Количество аммиака, мкМ			
	<i>C.guilliermondii</i> НП-4	Крысы		<i>Pellia epiphylla</i>
		мышцы	мозг	
20	4,82	0,94	1,65	9,41
30	5,01	1,06	1,94	11,76
40	4,74	0,81	1,76	9,06
50	4,24	0,71	1,53	8,24

Самая высокая активность фермента проявляется при концентрации субстрата 30 мкМ, при этом у моховидных она составляет -11,76 мкМ, у *Candida guilliermondii* НП-4 — 4,74, у крыс в мышцах и мозге соответственно 0,81 и 1,76 мкМ на 1г св.ткани. Представляет интерес определенное подавление активности адениндезаминазы при повышении концентрации субстрата. Так, у моховидных активность фермента при концентрации субстрата 50 мкМ снижалась до 8,24 мкМ от активности фермента 11,76 мкМ при концентрации субстрата 30 мкМ. Это подавление наблюдается также в отношении фермента тканей крыс и дрожжей, хотя и несколько слабее. Подобное ингибирование активности ферментов под влиянием высоких концентраций субстрата обнаружено лишь в отношении некоторых

Таблица 2. Влияние ионов Zn^{2+} на активность адениндезаминазы разных организмов, мкМ на 1 г св.ткани

Объект	Концентрации ионов Zn^{2+} , мкМ													
	Гомогенат		0.05		0.25		0.5		1.0		2.5		5.0	
	мкМ	%	мкМ	%	мкмоль	%	мкМ	%	мкМ	%	мкМ	%	мкМ	%
Мозг крыс	2,31	100	0.82	35.90	0,61	26,67	0,47	20,45	0.12	5.13	0.05	2.05	0.01	0,5
<i>P. epiphylla</i>	10,35	100	-	-	4,47	43,18	2,59	25,00	1,41	13,64	0,48	4,66	0,094	0,9
<i>C. guilliermondii</i> НП-4	4,35	100	-	-	3,76	80,49	2,82	64,87	1,88	43,24	0,75	17,30	0,58	13,24

Таблица 3. Влияние ионов Mn^{2+} на активность адениндезаминазы различных организмов, мкМ на 1 г св.ткани

Объект	Концентрации ионов Mn^{2+} , мкМ													
	Гомогенат		0.05		0.25		0.5		1.0		2.5		5.0	
	мкМ	%	мкМ	%	мкМ	%	мкМ	%	мкМ	%	мкМ	%	мкМ	%
Мозг крыс	2,31	100	1.76	76.2	1.07	46.7	0,92	40,0	0.59	25.00	0.26	10.28	0.15	6.70
<i>P. epiphylla</i>	10,35	100	-	-	7,29	70,45	5,76	55,68	3,06	29,55	1,18	11,36	0,47	4,55
<i>C. guilliermondii</i> НП-4	4,35	100	-	-	4,12	94,60	3,29	75,68	1,88	43,24	1,16	26,76	0,70	16,22

ферментов (ксантиноксидазы, оксидазы L-аминокислот, неорганической пирофосфатазы и др.), возможно, вследствие образования неэффективных фермент-субстратных комплексов.

Исследования, проведенные при концентрации субстрата 30 мкМ, показали, что фермент в изученных объектах полностью обнаруживается в надосадке, полученном при центрифугировании гомогената (9000, 15мин), что позволяет констатировать отсутствие адениндезаминазы в крупных субклеточных структурах.

Дальнейшие исследования посвящены влиянию ионов двухвалентных металлов (Mn^{2+} , Zn^{2+}) на адениндезаминазу дрожжей, мозга крыс, моховидных. Полученные результаты обобщены в табл. 2 и 3. Как видно из данных табл. 2, Zn^{2+} ингибирует активность адениндезаминазы, причем ингибирующее влияние увеличивается по мере повышения его концентрации. Наиболее чувствителен в этом отношении фермент мозга крыс, тогда как фермент дрожжей проявляет некоторую стабильность в отношении влияния Zn^{2+} . Так, при концентрации Zn^{2+} 0,5 мкМ на пробу активность мозгового фермента угнетается на 80%, тогда как у дрожжевого всего на 35%. При концентрации же Zn^{2+} 0,25 мкМ на пробу активность фермента в мозге и у дрожжей ингибируется на 74% и 20% соответственно. Согласно литературным

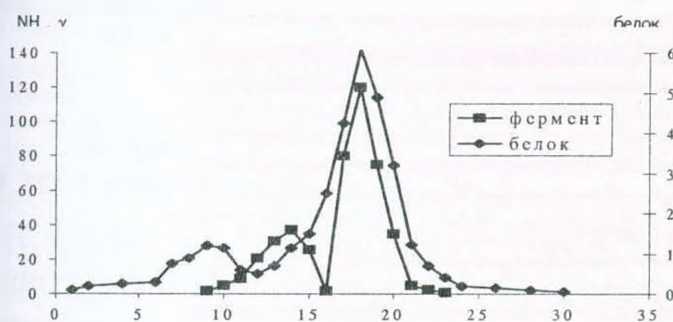


Рис. 1. Изоэнзимный спектр адениндезаминазы у моховидных *P. epiphylla*.

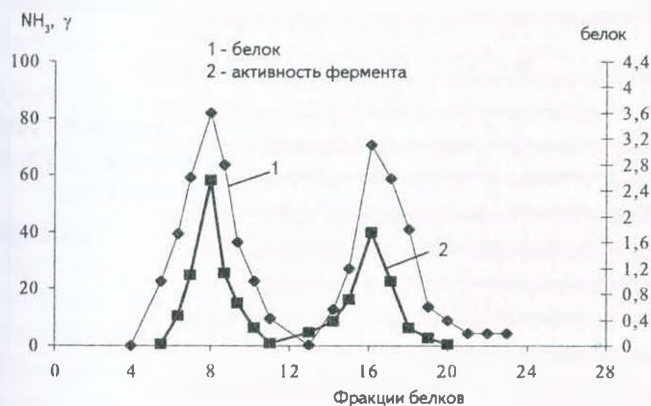


Рис. 2. Изоэнзимный спектр адениндезаминазы у *C. guilliermondii* НП-4.

данным, Zn^{2+} также ингибирует адениндезаминазу дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* [4], тогда как активирует фермент дрожжей *Candida utilis* [5, 6, 11]. Из данных табл. 3 явствует, что Mn^{2+} тоже ингибирует адениндезаминазу, ингибирующее влияние усиливается по мере увеличения концентрации иона, и в данном случае Mn^{2+} сильнее влияет на мозговой фермент, несколько слабее на фермент моховидных и еще слабее на фермент дрожжей. Однако по ингибирующему воздействию ионы Mn^{2+} несколько уступают ионам Zn^{2+} . Авторы отмечают ингибирование адениндезаминазы у *Azotobacter vinelandii* [8, 9, 12], у дрожжей *Torulopsis utilis*, *C. utilis* [7, 10], *S. cerevisiae* [11].

Наши дальнейшие исследования на вышеуказанных объектах продолжались в направлении частичной очистки адениндезаминазы. Произведено фракционирование надосадков гомогената методом гель-фильтрации (сефадекс G-200). У моховидных обнаружены два белковых пика (рис.1), причем активность высокомолекулярного фермента (40γ) в три раза превосходит активность низкомолекулярного (120γ).

У дрожжевых организмов также выявлены 2 пика активности (рис.2), однако активность высокомолекулярного фермента (60γ) на 35% превышает таковую низкомолекулярного (40γ).

Таким образом, у моховидных растений и у дрожжей обнаружены по два изоэнзима (низкомолекулярный и высокомолекулярный), соотношение активности которых у исследованных объектов различно.

ЛИТЕРАТУРА

1. Силакова А., Труш Г. Вopr. мед. химии, 5, 538, 1962.
2. Соковнина Я. Тенцова И., Дебов С. Вopr. мед. химии, 3, 425, 1997.
3. De Bersagues J. J. Invest. Derm., 48, 169, 1967.
4. Guern J., Dorel M., Lequay J., et al. C.R.Acad.Sci., 275-D, p.377, 1972.
5. Gribanov V.A., Vulf L., Miestein O. Latv. PSR Zinat. Akad. Vestis, 11, p. 72, 1972.
6. Hartensten R.C., Fridovich J.E. J. Biol. Chem, 242, p. 740, 1967.
7. Happel L.A., Hurwitz J., Horecker B.L. J. Am. Chem. Soc., 7, p. 630, 1957.
8. Hardy R.W., Knight E. Biochem. Biophys. Acta, 122, p. 52, 1966.
9. Larry G.H. Diss. Abstr., 29-B, p. 2737, 1969.
10. McElray N.D. Meth. Enzymol., 6, p. 203, 1963.
11. Medhat P. Diss. Abstr. 27-B, p. 1785, 1966.
12. Vishikno, Ogasawara N., Suzuki N., et al. Ibid., 146, p. 620, 1967.
13. Zielke C.L., Sulter C.H. In: The Enzymes. New York, 4, p. 47, 1971.
14. Zelingson D., Zelingson H. J.Lab.Clin. Med., 38, 324, 1951.

Поступила 22.IV.2004

Биолог. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 619:616:937.5

**TREPONEMA HYODYSENTERIAE ՍՊԻՐՈՒՆԵՏԻ
ԿԵՆՍԱԲԱՆՈՒԹՅԱՆ ՀՈՒՐՁ**

Ա.Գ. ԵՂՈՅԱՆ

*Հայկական Գյուղատնտեսական Ակադեմիա, Համաճարակաբանության և
մակարութաբանության ամբիոն, 375009, Երևան*

Ուսումնասիրվել է դիզենտերիայով հիվանդ խոզերից անջատված *Serpula hyodysenteriae* անաերոբ բակտերիաների դերը, որպես այդ հիվանդության առաջացման գլխավոր պատճառ: Որպես դիագնոստիկ տեստ ծառայել են մանրէաբանական և բակտերիոլոգիական հետազոտությունների ընթացքում հայտնաբերված պաթոգեն սպիրոխետները: Ցույց է տրվել, որ հիվանդ կենդանիների մոտ հայտնաբերվում են և *Treponema innocens* փոքր սպիրոխետները, որոնք կենսաբանորեն համարվում են ոչ պաթոգեն: Այս տարբերությունը հնարավորություն է ընձեռնում ստանալ յուրահատուկ հակածին միայն ախտածին տարատեսակներից:

Изучена роль анаэробной бактерии *Serpula hyodysenteriae* как главного этиологического агента при дизентерии свиней. Диагностическим тестом служили обнаруженные при микроскопическом и бактериологическом исследовании патогенные спирохеты. Показано, что у клинически больных животных обнаруживаются и малые спирохеты *Treponema innocens*, которые считаются биологически непатогенными. Эта разница дает возможность получать специфический антиген только из патогенных видов спирохет.

An anaerobic spirochete, *Serpula hyodysenteriae* has been considered to be the primary etiological agent of swine dysentery, and diagnostic tests are based on demonstrating the presence of this organism in the intestinal tissue. In clinically diseased animals small spirochetes of *Treponema innocens* are also observed which are biologically non-pathogenic. The differences in virulence between *Serpula hyodysenteriae* and *Treponema innocens* allow to receive the specific antigens only from pathological species of spirochetes.

Дизентерия свиней - Treponema hyodysenteriae - патогенность

Գյուղատնտեսական կենդանիների ինֆեկցիոն հիվանդությունների համակարգում առանձնահատուկ տեղ է զբաղեցնում խոզերի դիզենտերիան, որը լայն տարածում ունի հատկապես խոզաբուծության զարգացած բոլոր երկրներում: Չնայած հիվանդության հարուցիչը օժտված չէ առանձին շիճուկաբանական տիպերով և ենթատիպերով, այնուամենայնիվ հաշվի առնելով սպիրոխետների որոշ ժառանգական առանձնահատկությունները, առանձին հեղինակներ տալիս են տարբեր անվանումներ՝ *Treponema hyodysenteriae*, *Brashyspira hyodysenteriae* [4 - 6]: Դրանք նույն ախտածին միկրոօրգանիզմներն են, որոնք միջանկյալ տեղ են զբաղեցնում մախակենդանիների և բակտերիաների միջև: Բակտերիաներին նմանությունը կայանում է նրանում, որ նրանց նման չունեն դիֆերենցված կորիզ և օժտված են հակածնային հատկություններով, իսկ մախակենդանիներին նմանությունը կայանում է նրանում, որ բացակայում է

թաղանթը, ունեն առանցքային թել և մարմնի ակտիվ կծկումներ: Սրանք միկրոօրգանիզմներ են, որոնց բջիջները նման են բարակ ոլորված թելի: Մանրադիտակի տակ մութ տեսադաշտում երևում են բարակ պարուրազալարանման թելիկի տեսքով, որոնք ունեն լույսը թույլ բեկելու հատկություն: Ֆիքսված քսուկում աչքի են ընկնում հավասարաչափ մեծացող ոլորունությամբ, որի շնորհիվ նմանվում են խցանահանի, իսկ կախված կաթիլում ակնհայտ է առաջընթաց շարժումը [3]: Հիվանդության հարուցիչը սպոր և պատիճ չառաջացնող, 5-8 մկմ երկարության 0,3-0,4 մկմ լայնության, շարժուն, զրամ բացասական, խիստ անաերոբ մանրէներ են: Բազմացումը կատարվում է լայնակի կիսման միջոցով:

Tr. hyodysenteriae-ն հյուսվածքային մակաբույծ է, օրգանիզմից դուրս նա արագ ոչնչանում է: Հարուցչի կենսունակության համար ամենաբարենպաստ ջերմությունը 37°-42°, չորացումը նրանց բերում է արագ ոչնչացման, 60° ջերմաստիճանի պայմաններում նրաք ոչնչանում են 10-15 ր ընթացքում, իսկ մինչև 48° տաքացնելիս՝ 30 ր: 0° մինչև 20°-ի պայմաններում հատուկ պահածոյացված նյութերով պահպանվում են 1-2 տարի: Սենյակային ջերմաստիճանում պահպանվում են 1-2 օր, իսկ 37°-ում՝ 11-24 ժամ: Ուղիղ աղիքի պարունակայում և վերջինիս լործաթաղանթի քերվածքում սառնարանային 4° պայմաններում նրանք պահպանվում են մինչև 7-11 օր: Վարակումը կատարել ենք դիզենտերիայով հիվանդ խոզերից վերցված կոկոսների նմուշի 1:5 ֆիզիոլոգիական լուծույթում նոսրացված կախուկով: Մեր հաշվարկներով այն կազմել է 90-100 մլն մանրէական բջիջ:

Քանի որ ինֆեկցավորումը կատարել ենք ներքին ճանապարհով, ստամոքսահյուսքի ազդեցությունից խուսափելու նպատակով այն չեզոքացրել ենք կերակրի սողայի միջոցով:

Արտաքին միջավայրի անբարենպաստ պայմանների, ֆիզիկական և քիմիական ազդակների նկատմամբ խոզերի դիզենտերիա հիվանդության հարուցիչը օժտված է ցածր կայունությամբ: Մեր նպատակն է եղել Հանրապետությունում դիզենտերիայով հիվանդ խոզերից առաջին անգամ տարանջատել *Tr. hyodysenteriae* հարուցիչը և բացահայտել նրա ինունակենսաբանական հատկությունը:

Նյութ և մեթոդ: Հետազոտությունները կատարել ենք ՀԳԱ-ի համաճարակաբանության ամբիոնի լաբորատորիայում և Էրեբունու տարածաշրջանի Մուշական գյուղի խոզաբուծական ֆերմերային տնեսությունում:

Օգտագործել ենք 2-6-ամսական հիվանդ խոճկորներ, հիվանդության վերարտադրման համար, սպիտակ մկներ, անաերոբ սննդային պինդ և կիսահեղուկ միջավայրեր, հիվանդության հարուցիչի մաքուր աճեցվածք: Այդ նպատակով օգտագործել ենք մանրէաբանական, տինկտորիալ (ներկվող), ձևաբանական և կենսաբանական մեթոդներ [2, 6]:

Արդյունքներ և քննարկում: Նկատի ունենալով հարուցչի թույլ կայունությունը, անասնաշենքերի վարակագերծման դեպքում քիմիական ախտահանության նպատակով առաջարկում ենք օգտագործել սովորական խտության ցանկացած քիմիական ախտահանիչ նյութ:

Ուշադրության է արժանի բնության մեջ տրեպոնեմաների տարածվածությունը: Հայտարարել ենք նրանց ախտածին և ոչ ախտածին տարատեսակները, որոնք համապատասխանաբար անվանել ենք *Tr.*

hyodysenteriae և *Tr. innocens*: Նրանք տարբերվում են ոչ միայն իրենց ախտածնությամբ, այլ նաև գալարների թվով: Ախտածին տարատեսակի գալարների թիվը կազմում է 3-5 (նկ. «ա»), իսկ ոչ ախտածինը՝ 1-2 (նկ. «բ»): Այսպիսի ձևաբանական դրսևորումների բա-ցահայտումը կարևորվում է ոչ միայն ինֆեկցիայի մանրէներին նույնականացնելու և տարբերակելու, այլև հիվանդությունը ախտորոշելու համար:

Տրեպոնեմաների նորմալ բազմացման համար ակնհայտ է նրանց պահանջկոտությունը միջավայրի ջրածնի, ազոտի և ածխաթթվի նկատմամբ:

Չնայած հիվանդ խոզերի մարսողական ուղիներում, մասնավորապես հաստ աղիյում հիվանդության հարուցչի քանակությունը 1 գ պարունակյալի մեջ հասնում է տասնյակ մլն, սակայն նրա աճեցումը արհեստական սննդամիջավայրերում կապված է մեծ դժվարությունների հետ:

Որոշակի հետաքրքրություն է ներկայացնում տրեպոնեմաների աճեցվածքային և ախտածնային հատկությունների փոփոխությունները տևական փոխացանքների ժամանակ: Այսպես, հիվանդ կամ սատկած կենդանիների հաստ աղիների պարունակյալից մաքուր մանրէական աճեցվածքի ստացման համար կատարվել է 7-8 փոխացանքս 48 ժամ ընդմիջումով: Սկսած 6-րդ փոխացանքսից մանրէները ենթարկվում են էական ձևափոխության, նախ ամբողջությամբ կամ մասնակիորեն կորցնում են գալարները, երբեմն էլ ձեռք են բերում օղականման (նկ. «գ») կամ էլ ոչ բնորոշ ձև:

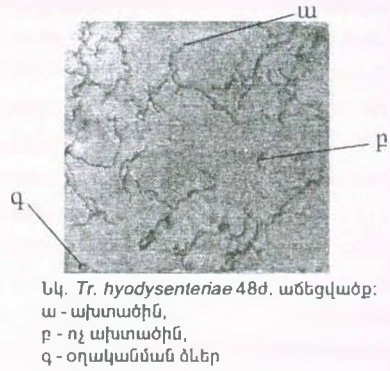
Հաշվի առնելով մանրէներին բնորոշ հատկանիշների այսպիսի փոփոխությունները, միաժամանակ նրա վարակունակության կորուստը, աննպատակահարմար ենք համարում հետագա փոխացանքների կատարումը:

Հետազոտական աշխատանքների արդյունքում բացահայտել ենք, որ հիվանդության նկատմամբ առավելապես ընկալունակ են 2-6-ամսական խոզերի մատղաշները, իսկ հասակավոր խոզերի մոտ հիվանդությունը ընթանում է սպորադիկ ձևով և, հաճախ համարվելով հիվանդության հարուցչի պահեստարան, մեծ վտանգ է ներկայացնում վարակի պարբերական կրկնման համար:

Լաբորատոր կենդանիներից ընկալունակ են հիմնականում սպիտակ մկները, իսկ ճագարների, ծովախոզուկների և այլ թույլ ընկալունակ կենդանիների մոտ ընթանում է բարորակ ձևով [3]:

Հիվանդ և վարակակիր խոզերից հարուցիչները սովորաբար արտազատվում են կղկղանքի միջոցով: Այս առումով համաճարակի ինտենսիվության բարձրացման համար նպաստավոր են համարում անասնաշենքի հակասանիտարական վիճակը: Վարակումը կատարվում է ներքին ճանապարհով, ախտավորված կերի և ջրի միջոցով: Համաճարակի ինտենսիվությունը անապահով տնտեսություններում հասնում է 30-40 %-ի, իսկ անկումները՝ 60 - 65 % [1]:

Քանի որ հիվանդության վերարտադրության և տրեպոնեմաների թարմացման համար լավագույն մոդել են համարվում սպիտակ մկները, ապա



Նկ. *Tr. hyodysenteriae* 48ժ. աճեցվածք:
ա - ախտածին,
բ - ոչ ախտածին,
գ - օղականման ձևեր

լաբորատոր պայմաններում փորձարարական աշխատանքները կատարել ենք այդ կենդանիների վրա:

Չաշվի առնելով այն հանգամանքը, որ ինֆեկցավորված սպիտակ մկների անկումները էապես կախված են վարակման բազմապատկիությունից, ուստի մեր հետազոտություններում նպատակահարմար ենք գտել կատարել եռանվազ վարակում, 24 ժամյա ընդմիջումներով:

Փորձերի արդյունքներով բացահայտել ենք, որ սկսած վերջին վարակումից, հիվանդության բնորոշ կլինիկական նշաններով մկների 70%-ը սատկել է 3-5 օրվա ընթացքում: Սատկած մկների դիափերժման ախտաբանաանատոմիական փոփոխությունների պատկերը վկայում է խոզերի դիզենտերիայով հիվանդության մասին: Սանրէաբանական հետազոտության արդյունքներով ստացել ենք բնորոշ ձևաբանական առանձնահատկություններով և կենսաբանական ակտիվությամբ օժտված տրեպոնեմա հիոդիզենտերիա սպիրոխետների մարնէական աճեցվածք: Կենսաբանական ակտիվությունը պայմանավորված է պինդ սննդային արյունային միջավայրում էրիթրոցիտների β-հեմոլիզված գոտու առաջացումով, մանրէների ելակետային վարակունակության բարձրացումով և հակածնային հատկություններով:

Տեղին ենք համարում նշել, որ հիվանդության հարուցչի հակածնային և իմունածին հատկությունների դրսևորման աստիճանը կախված է կենդանու տեսակից: Ելնելով այս հարցի կարևորությունից, որը առանձնակի նշանակություն կունենա հիվանդության կանխարգելման և պայքարի միջոցառումներում, այն կհամարվի մեր հետագա ուսումնասիրությունների առարկան:

Այսպիսով, խոզերի դիզենտերիայի հարուցչի աճեցվածքային, ձևաբանական և ախտածնային հատկությունների ուսումնասիրության արդյունքում բացահայտել ենք, որ երկարատև փոխացանքների ընթացքում *Tr. hyodysenteriae*-ն ենթարկվում է որոշակի ձևաբանական փոփոխության, որը կարևոր նշանակություն ունի համաճարակային տարատեսակից տարբերելու համար: Նկատվում է հարուցչի վարակունակության նվազումը արհեստական սննդային միջավայրերում բազմակի փոխացանքների ժամանակ: Այս հանգամանքը կարևոր նշանակություն ունի մանրէների նվազագույն մահացու դոզայի որոշման տեսակետից:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Գրիգորյան Ս.Լ. Գյուղատնտեսական կենդանիների համաճարակաբանություն և ինֆեկցիոն հիվանդություններ, 466-470, Երևան, 2002:
2. Бабина Л.Н., Бондик В.В. Бюллетень ВИЭВ.52 выпуск, М., 1983.
3. Егоян С.Г. Канд. дисс., г. Абовян, 1996.
4. Stanton T.B., Lebo D.F. Vet. Microbiol., 18, 177-190, 1988.
5. Stanton T.B., Jensen N.S., Casey, Paster B. J. Int. J Syst. Bacteriol. 41(1), 50-58, 1991.
6. Taylor D.M. New edition of "Pig Diseases", UK, 1999.

Ստացվել է 16.VII.2003

Биолог. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 616.02:612.017

ПАРАМЕТРЫ КЛЕТОЧНОГО И ГУМОРАЛЬНОГО ЗВЕНЬЕВ ИММУНИТЕТА В РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ ПЕРИОДИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ

К.А. КАЗАРЯН, З.А. ХАЧАТРЯН, М.В. ТАТЬЯН, Л.Г. БУДАГЯН,
Г.С. АКОПЯН, В.А. МКРТЧЯН, К.Г. КАРАГЕЗЯН, В.М. АРУТЮНЯН

Институт молекулярной биологии НАН РА, 375014, Ереван

Исследованы иммунологические параметры у больных, страдающих периодической болезнью. Показано подавление Т-клеточного звена иммунитета, более выраженное в острой стадии заболевания. Выявлено резкое понижение фагоцитарной функции нейтрофилов, что является показателем снижения противомикробной защиты организма. Зарегистрировано также повышение гуморальных показателей иммунитета, независимо от стадии клинического течения болезни. В работе обсуждаются возможные механизмы иммунных нарушений при ПБ.

Դետազոտվել են պարբերական հիվանդությանը (ՊԴ) տառապող հիվանդների մոտ իմունային ցուցանիշները հիվանդության դրսևորման տարբեր փուլերում: Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել Թ-բջջային իմունային ցուցանիշների ընկճում, ինչպես նաև նեյտրոֆիլների սպոնտան բակտերիցիդության անկում, որոնք ավելի արտահայտված են հիվանդության սրացման շրջանում: Արձանագրված է նաև իմունիտետի հունորալ ցուցանիշների բարձրացումը անկախ հիվանդության կլինիկական ընթացքից: Աշխատանքում քննարկվում են ՊԴ ժամանակ իմուն շեղումների զարգացման հնարավոր մեխանիզմները:

Immune indices in different stages of FMF have been tested in FMF patients. The quantitative changes of pre-immune factors (the total quantity of complement, C reactive protein, circulating immune complexes) have been detected. The decline of T-cells immune indices, as well as a decrease of spontaneous bactericidal action of neutrophils, which are more expressed in the acute stage of FMF have been revealed. An increase of humoral indices of immunity has also been registered, regardless of the clinical course of the disease.

The possible development mechanisms of immune shifts in FMF are discussed.

*Периодическая болезнь - Т-клеточный иммунитет - гуморальный
иммунитет - фагоцитоз*

Периодическая болезнь (ПБ) является рецессивным генетически обусловленным заболеванием, характеризующимся эпизодами лихорадки, нейтрофил-опосредованными серозными воспалениями или синовитами. Этиопатогенетические механизмы заболевания до настоящего времени не выяснены. Однако недавно идентифицирован ген заболевания, который получил название MEKV. Его обнаружили в зрелых нейтрофилах и предполагают, что он принимает активное участие в регуляции воспалительного процесса. Показана также экспрессия гена в эозинофилах

и моноцитах [2].

Наблюдаемую тенденцию роста заболеваемости ПБ во многих регионах мира, которая заставляет исследователей пересмотреть некоторые аспекты данной проблемы и на основании этого разработать принципиально новые подходы для выяснения причин эпидемиологической ситуации, можно охарактеризовать как начало новой эпидемии.

Поскольку Армения находится в зоне повышенного риска, первостепенной задачей армянских ученых является всестороннее изучение этой проблемы для разработки новых способов лечебно-профилактических мероприятий.

Целью настоящего исследования явилось изучение ряда клеточных и гуморальных показателей иммунитета и неспецифических факторов защиты.

Материал и методика. Под наблюдением находились 48 больных ПБ: 32 - в стадии приступа, 16 - в стадии ремиссии. Исследовали также периферическую кровь 18 практически здоровых доноров.

Разделение больных по стадиям заболевания позволило нам выявить особенности иммунного реагирования в зависимости от характера клинического течения болезни.

Больные поступили на стационарное лечение на базе кафедры терапии N 2 ЕрМГУ им. М.Гераци. Диагноз ставили на основании анамнестических, клинических и клинко-лабораторных методов исследования, практикуемых в данном отделении. Шестнадцать больных (в стадии ремиссии) находились на диспансерном учете и обследовались по вызову врача. Возраст больных в пределах 17-43 лет.

Применяли следующие методы иммунологического исследования: Е-РОК и ЕАС-РОК определяли по общепринятой методике; сывороточные иммуноглобулины - методом радиальной иммунодиффузии по Манчини; циркулирующие иммунные комплексы - по методу Дижона [6]; С-реактивный белок (С-РБ) - методом латекс агглютинационного теста; исследование функциональной метаболической активности нейтрофильных лейкоцитов проводили по реакции восстановления нитросинего тетразолия (НСТ) *in vitro* по методу Сепиашвили [3].

Результаты и обсуждение. Изучение клеточных показателей иммунитета (табл. 1) выявило некоторое понижение процента и абсолютного числа лимфоцитов у больных ПБ по сравнению с практически здоровыми лицами на фоне сходных показателей общего количества лейкоцитов. У больных ПБ отмечалось значительное снижение процента Т-розеткообразующих клеток, который был более низким в период приступов ($35.7 \pm 1,8$).

Такая же тенденция наблюдалась и при изучении абсолютного числа Т-лимфоцитов, Т-геофиллин-резистентных ($T_{\text{геоф-рез}}$) и Т-геофиллин-чувствительных клеток ($T_{\text{геоф-чувст}}$). При этом снижение числа этих клеток носило более выраженный характер в период приступов, когда иммунорегуляторный индекс повышался и составлял 2,6. В период ремиссии соотношение $T_{\text{геоф-рез}}/T_{\text{геоф-чувст}}$ клеток было 2,4 при норме 2,2 (у практически здоровых доноров).

Изучение показателей фагоцитарной активности нейтрофилов выявило резкое снижение фагоцитарной функции при ПБ, особенно в группе больных, обследованных в стадии приступа (0,05%). В стадии ремиссии заболевания этот показатель составлял 0,09% при 0,74% у практически здоровых лиц.

Обобщая результаты изучения клеточных показателей иммунитета, можно заметить, что в зависимости от стадии клинического течения ПБ

иммунологические параметры изменяются по-разному. Так, например, в период обострения болезни наблюдается снижение общего процента и абсолютного числа лимфоцитов, особенно Т-ряда, снижение уровня иммунорегуляторных $T_{\text{гсф-рз}}$ и $T_{\text{гсф-чувст}}$ клеток, повышение иммунорегуляторного индекса, и, что особенно наглядно выявляется, резкое подавление фагоцитарной функции нейтрофилов.

При изучении гуморальных показателей иммунитета (табл. 2) выявлено (независимо от стадии клинического течения ПБ) повышение процента ЕАС-розеткообразующих клеток, IgG, IgM, циркулирующий иммунный комплекс (ЦИК) и С-РБ. Заметные сдвиги в абсолютных числах В-клеток и уровня IgA нами не выявлены.

Следует отметить, что на общем фоне повышения перечисленных показателей гуморального звена иммунитета более выраженные сдвиги выявлены в периоды приступов ПБ.

Таким образом, сопоставляя данные клеточных и гуморальных показателей иммунитета, полученные на разных стадиях течения периодической болезни, можно заключить, что в периоды приступов происходит подавление клеточных и повышение гуморальных показателей иммунитета. В периоды ремиссий выявленная тенденция менее выражена.

Чем это можно объяснить? Какие факторы в период приступов способствуют развитию клеточной иммунологической недостаточности и активации гуморального звена иммунитета? Появляются ли эти факторы внутри иммунной системы или для нее они экзогенны? И, наконец, основной вопрос: иммунологические сдвиги первичны или они являются адекватным ответом протекающего воспалительного процесса?

Для окончательного ответа на эти вопросы требуются дальнейшие исследования с охватом всех аспектов данной проблемы, особенно генетического, иммунологического, вирусологического и микробиологического. Обходя вопросы генетической детерминации ПБ, особенности иммунного реагирования можно объяснить наличием ряда обстоятельств.

Во-первых, не исключено, что у больных ПБ пока что по неизвестным причинам происходит выброс эндотоксинов кишечной и бронхиальной микрофлоры, которые являются не только сильными стимуляторами иммунной реакции, ведущими к поликлональной активации В-лимфоцитов, но и мощными индукторами выработки провоспалительных цитокинов — ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО- α , хемокинов, а также адгезивных молекул в шоковых тканях (серозные оболочки). Высокий уровень ИЛ-6 и ФНО- α сопровождается стимуляцией синтеза остро-фазовых белков — С-РБ, сывороточного амилоида А и В, фибриногена, I-хемотрипсина, гаптоглобина, факторов свертывания крови [1, 4].

Согласно литературным данным, в патогенез ПБ включены некоторые воспалительные медиаторы [5, 7, 8, 9]. Показан также высокий уровень провоспалительных цитокинов в течение приступов, вне приступов они не определяются или бывают чуть выше, чем у здоровых субъектов.

Впервые проведено исследование цитокинов на транскрипциональном

Таблица 1. Клеточные показатели иммунитета на разных стадиях клинического течения ПБ

Группа обследованных		Количество лейкоцитов	Лимфоциты, %	Абс. число лимфоцитов	Е-РОК, %	Абс. число Т-клеток	T _{теоф-рез} клетки	T _{теоф-чувст} клетки	T _{теоф-рез} / T _{теоф-чувст}	Фагоцитоз, %
Периодическая болезнь	В период приступов M ± m n = 32	8,0±0,5	27,1±1,5	2174,0±253,0	35,7±1,8	774,7±38,4	22,9±1,2	8,9±0,4	2,6	0,05
	В период ремиссии M ± m n = 16	7,9±0,6	28,9±1,2	2240,0± 188,5	39,6±2,0	900,3±40,1	24,0±1,4	9,9±0,5	2,4	0,09
	Практически здоровые M ± m n = 18	7,7±0,47	34,1±1,5	2436,0± 167,4	49,0±2,1	1144,6±88,6	30,7±1,8	13,7±0,8	2,2	0,14

Таблица 2. Гуморальные показатели иммунитета на разных стадиях клинического течения ПБ

Группа обследованных		ЕАС-РОК, %	Абс. число В-клеток	Уровень комплемента	IgG	IgA	IgM	ЦИК	СРП
Периодическая болезнь	В период приступов M ± m n = 32	18,0±0,7	389,9±45,0	25,7±1,0	16,7±1,1	1,9±0,1	2,26±0,3	200,0±25,4	3+96
	В период ремиссии M ± m n = 16	17,9±0,6	400,0±70,0	30,1±1,3	15,1±0,7	1,85±0,1	2,1±0,2	182,0±9,0	2+48
	Практически здоровые M ± m n = 18	15,8±0,8	420,6±60,2	33,3±1,4	13,3±0,9	1,8±0,1	1,1±0,01	130,0±0	—

уровне у генетически диагностированных пациентов [10]. В работе проведено сравнительное исследование 4-х провоспалительных цитокинов – ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8. Показано, что ФНО- α играет ключевую роль в воспалительном процессе, стимулируя выработку ИЛ-1, которое имеет пиретическое влияние. ИЛ-6 способствует выделению реактантов острой фазы, ИЛ-8 является хемоаттрактантом [10].

Эти компоненты воспаления, помимо защитного действия, регулируют реакции иммунитета, подавляя клеточные и стимулируя гуморальные ответы.

С другой стороны, некоторые из указанных цитокинов в состоянии повышать экспрессию адгезивных молекул, антигенов HLA-системы, сосудистую проницаемость, апоптоз и прокоагулянтную активность.

Не исключено, что персистенция некоторых продуктов бактериального или вирусного происхождения (кишечной и бронхиальной микрофлоры) по типу минорных антигенов сенсибилизирует организм, что является причиной периодической манифестации аллергических реакций немедленного типа.

Тогда чем объяснить периодичность возникновения приступов и начало срыва ремиссии? Клиническую манифестацию симптомокомплекса можно интерпретировать с точки зрения развития аллергического воспаления серозных оболочек (II и III типов). Формирование гиперчувствительности, очевидно, носит вторичный характер. Главное, по-видимому, время для накопления критической концентрации патогенных начал (возможно, эндотоксинов), которые накапливаются с различной периодичностью. Осуществление мониторинга этих субстанций в настоящее время не представляется возможным, поскольку они до сих пор не идентифицированы. Тем не менее предугадать наступление приступа возможно на основании симптомов-предвестников и иммунологического мониторинга. Последний экономически не целесообразен из-за больших финансовых затрат (аппаратура, реактивы) и поэтому не нашел широкого распространения.

Резкое подавление фагоцитарной функции нейтрофилов наводит нас на мысль, что подавление клеточных показателей иммунитета происходит за счет непрезентированных антигенов, возможно, вирусного происхождения или токсических молекул наподобие прионов.

В этом случае может происходить поликлональная активация В-клеток с повышением Ig и ЦИК. Повышение уровня IgM свидетельствует о том, что первичный иммунный ответ развивается, однако трудно сказать против каких антигенов.

Но развитие каскада процессов, связанных с процессингом и презентацией возможного антигена может быть детерминировано либо генетически (в отношении определенных чужеродных молекул), либо в результате антигенной мимикрии, либо отсутствие антигенности закодировано в самой чужеродной болезнетворной субстанции.

Это возможно, если болезнетворные молекулы имеют чрезвычайно малые размеры или скрывают инфекционные начала путем их агрегации.

Малые размеры инфекционных молекул и маскировка болезнетворных участков, а также низкая концентрация молекул при одновременной

сохранности патогенных свойств позволяют им беспрепятственно обходить иммунологический барьер организма и вызывать те или иные патологические процессы. Иммунный ответ при этом развивается, возможно, на новые антигены, образующиеся в результате деструкции ткани.

Таким образом, все патологические процессы при ПБ, прямо или косвенно вовлекающиеся в работу иммунной системы, изменяют баланс компонентов последней, что приводит (с той или иной частотой) к ее перенапряжению, далее к срыву согласованности функционирования иммунной системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. М., 2003.
2. Сепиашвили Р.И. Введение в иммунологию. Цхалтубо-Кутаиси, 198-200, 1987.
3. Centola M, Wood G, Frucht DM, Galon J, Aringer M, Farrell C, Kingma DW, Horwitz ME, Mansfield E, Holland SM, O'Shea JJ, Rosenberg HF, Malech HL, Kastner DL. Blood, 95, 3223-3231, 2000.
4. Castell JV, Andus T, Kunz D, Heinrich PC. Interleukin, 6. Ann NY Acad. Sci., 557, 87-99, 1989.
5. Digeon M, Lavel M, Riza J et al. J Immunology Meth., 16, p. 165, 1977.
6. Direskeneli H, Azdogan H, Korkmaz C, Akoglu T, Yazici H. J Rheumatol, 26, 1983-1986, 1999.
7. Gang N, Drenth J, Langevitz P et al. J Rheumatol, 26, 890-897, 1999.
8. Kiraz S, Ertenli I, Arici M et al. Clin Exp Rheumatol, 16, 721-724, 1998.
9. Mege JL, Dilsen N, Sanguedolce V et al. J Rheumatol, 20, 1544-1549, 1993.
10. Notarnicola C, Didelot MN, Seguret F, Demaille J and Touitou I. J Genes and Immunology, 3, 43-45, 2002.

Поступила 22.X.2003

Биол. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 577.152.1

ВЛИЯНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ТЕРАПИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НА ОПТИКО- СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И АКТИВНОСТЬ МЕТАЛЛОПРОТЕИНОВ КРОВИ

СЕРГЕЙ С. АЛЕКСАНИАН

Институт биохимии НАН РА, 375014, Ереван

Лекарственные препараты (ЛП), используемые для терапии сердечно-сосудистых заболеваний (строфантин, преднизолон, тринитроглицерин, вурдон и дигоксин), по-разному изменяют оптико-спектральные показатели и биологическую активность металлопротеинов - регуляторов метаболизма активных форм кислорода в крови после четырехдневного инкубирования при 4° растворов этих металлопротеинов (МП) и ЛП в аэробных условиях *in vitro*.

Արիտ-անոթային հիվանդությունների բուժման ժամանակ օգտագործվող դեղամիջոցները (ստրոֆանտին, պրեդնիզոլոն, տրինիտրոգլիցերին, վուրդոն, դիգոքսին) տարբեր կերպով են փոփոխում արյան մեջ թթվածնի ակտիվ միացությունների նյութափոխանակությունը կարգավորող մետաղապրոտեինների օպտիկական-սպեկտրալ բնութագրերը և կենսաբանական ակտիվությունը այդ դեղամիջոցների և մետաղապրոտեինների լուծույթների աերոբ պայմաններում 4 օր 4°-ում ինկուբացման իսկանցով *in vitro*:

The medicinal preparations (strophanthin, prednisolone, trinitroglycerin, vurdon, digoxin) which are used during therapy of the cardio-vascular diseases charge differently the optical-spectral characteristics and biological activity of metalloproteins — the regulators of metabolism of reactive oxygen species after incubation of solutions of these metalloproteins and medical preparations in aerobic conditions during 4 days at 4° *in vitro*.

Металлопротеины - лекарственные препараты - активный кислород

Лекарственные препараты (ЛП) лазикс (фуросемид) фирмы «Aventis», тринитроглицерин фирмы «Шварц Фармааг», преднизолон фирмы «Никомед», строфантин фирмы «Галичфарм», вурдон и дигоксин фирмы «Глаксо Смит КLINE» в настоящее время используются при терапии сердечно-сосудистых заболеваний (инфаркт миокарда, сердечная аритмия, гипертония, атеросклероз, сердечная недостаточность) [1-3]. Однако под воздействием этих ЛП наблюдаются некоторое отклонение от нормы эндогенных уровней металлопротеинов (МП) крови - регуляторов метаболизма активных форм кислорода, а также изменение антиоксидантного и прооксидантного статусов сыворотки крови и эритроцитов больных с возникновением соответственного фона оксидативного стресса. Для выявления механизмов воздействия ЛП *in vivo* необходимо определить характер их действия на оптико-спектральные показатели и биологическую активность МП крови *in vitro*.

Целью работы являлось определение изменений оптико-спектральных характеристик, активности антиоксидантного действия МП (Cu, Zn - СОД, каталаза, церулоплазмин и трансферрин) и прооксидантного действия МП крови (цитохром b 558 III (цит. b 558 III) мембран эритроцитов и супероксидпродуцирующий липопротеин сыворотки - супрол) под воздействием соответствующих доз ЛП *in vitro*.

Материал и методика. Металлопротеины (МП) антиоксидантного действия (СОД и каталаза - из растворимой фракции эритроцитов, церулоплазмин - ЦП и трансферрин - ТФ из сыворотки крови) и МП прооксидантного действия (супрол и цит. b 558) получали биотехнологическим способом, без использования детергента [5-9]. При этом белковые фракции сыворотки, растворимой фракции эритроцитов и мембран эритроцитов подвергали ионообменной хроматографии на целлюлозах ДЕ-52 и КМ-52 («Whatman», Англия), сефадексе ДЕАЕ А-50 («Pharmacia», Швеция) и гель - фильтрации на биогеле Р-100 («Reanal», Венгрия) и сефадексе G-100 («Pharmacia»). Эти МП (кроме супрола) очищены до электрофоретически гомогенных состояний и растворены в 0,01 М калий - фосфатном буфере, рН 7,4 (КФБ). Лазикс (10 мг/мл), тринитроглицерин (10мг/мл), преднизолон (10 мг/мл), строфантин (0,25 мг/мл), вурдон (10 мг/мл) и дигоксин (0,25 мг/мл) по 0,5 мл смешивали с 0,5 мг/мл раствора МП (по 3 мл) и инкубировали в течение 4-х дней при 4°. К контрольным пробам МП были добавлены 0,5 мл воды или физиологического раствора.

Количество МП определяли измерением плотности характерного максимального оптического поглощения для цит. b 558 III при 530 нм, супрола - 430 нм, ТФ - 470 нм и ЦП - 610 нм. Супероксиддисмутазную (СОД) активность фракций и супероксидпродуцирующую активность супрола и цит. b 558 III определяли с использованием нитротетразолиевого синего (НТС), путем вычисления процента подавления (в случае СОД) или методом стимулирования (в случае супрола или цит. b 558 III) образования формазана (при 560 нм). За единицу СОД активности принимали то количество фракции, которое вызывает 50%-ное ингибирование образования формазана в результате восстановления НТС супероксидными радикалами. За единицу супероксидпродуцирующей активности супрола или цит. b 558 III принимали то количество белка, которое способно стимулировать на 50% образование формазана. Каталазную активность определяли перманганатометрическим титрованием раствора перекиси водорода, рассчитывая то количество белка, которое расщепляет 0,1 М перекиси водорода за 1 мин при 20°. Удельная активность СОД или каталазы была определена в расчете на 1 мл эритроцитов. Удельная супероксид - продуцирующая активность супрола или цит. b 558 III была определена в расчете на 1 мл сыворотки или 1 мл эритроцитов соответственно. СОД-миметическая активность ЛП была определена в расчете на 1 мг этих препаратов. Метгемоглобин (мет.Нв, с $A_{560}=0,6$) восстанавливающая активность цит. b 558 III ($A_{530}=0,02$) была определена кинетическим методом, путем измерения прироста величины плотности максимального оптического поглощения образовавшегося феррогемоглобина (ферроНв) при 555 нм в течение 4-х дней при 20° [13, 11], в отсутствие и при наличии определенного количества (1 мг) ЛП. Степень рилизинг эффекта цит. b 558 III из эритроцитарных мембран (степень отщепления цит. b 558 из этих мембран при рН 7,4 при инкубировании последних в отсутствие и при наличии ЛП (1 мг/мл) в течение 4-х дней при 4° в аэробных условиях) определяли оптическим спектральным методом, путем измерения плотности максимального оптического поглощения отщепленного цит. b 558 в гомогенной фазе при 530 нм. При этом использовали очищенные от следов Нв эритроцитарные мембраны (по 2 мл, смешанные с 0,04 М КФБ) из свеженабранной донорской крови. Оптические спектральные измерения осуществляли на спектрофотометре «Сресорд UV-VIS (Германия) с длиной оптического пути 1 см. Ионообменную хроматографию и гель-фильтрацию белковых фракций осуществляли, поместив смолы в стеклянные колонки различных размеров (3x20, 2x20, 2x80, 1x15 см). В ходе получения и очистки МП были также использованы центрифуги К-24 и К-70 (Германия).

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли методом вариационной статистики Стьюдента-Фишера с определением критерия «Р».

Результаты и обсуждение. После 4-дневного инкубирования ЛП,

используемых при терапии сердечно-сосудистых заболеваний (лазикс, тринитроглицерин, преднизолон, строфантин, вурдон и дигоксин) с МП донорской крови антиоксидантного действия (СОД, каталаза, ЦП и ТФ) и с МП прооксидантного действия (цит. b 558 III и супрол) в подавляющем большинстве случаев наблюдается снижение активности СОД, каталазы и плотности максимального поглощения ЦП (при 610 нм) и цит. b 558 III (при 530 нм), а также метHb - восстанавливающей активности цит. b 558 III (табл.).

Таблица. Относительные изменения (%) уровней и активности МП под воздействием ЛП, по сравнению с 100%-ными контрольными показателями ($P < 0,05$, $n=12$)

МП и активность	Лазикс	Тринитро-глицерин	Преднизолон	Строфантин	Вурдон	Дигоксин
O ₂ -продуцир. активн. супрола	-62,5±6,1 P<0,01	+2,1±0,2	-12,3±1,4	-7,5±0,3	-87,5±8,4 P<0,03	не влияет
O ₂ -продуцир. активн. цит. b 558 III	-15,4±2,1	-20,0±2,3	не влияет	-25,0±3,3 P<0,001	-101,0±8,3	-30,1±3,1 P<0,03
Мет. Hb-восстанавл. активн. цит. b 558 III	не влияет	-12,4±1,6	-16,1±2,0	не влияет	-31,5±2,9	не влияет
ЦП	-21,3±2,4	не влияет	-61,1±3,4 P<0,01	не влияет	-30,3±3,1 P<0,001	не влияет
Cu, Zn - СОД активность	-12,4±1,1	+5,4±0,2	-21,1±2,3	не влияет	-26,7±2,4	-8,7±1,0
Каталаза активность	-29,3±2,1	-33,2±2,4 P<0,03	не влияет	-64,7±3,1	-71,7±4,3 P<0,03	не влияет

Эти ЛП по-разному взаимодействуют с МП. Заметно снижается супероксидпродуцирующая активность супрола под воздействием лазикса и вурдона, остальные ЛП практически не инактивируют супрол. Понижение супероксидпродуцирующей активности супрола так или иначе снижает уровень липидной пероксидации этого НАДРН-содержащего липопротеина высокой плотности, продуцирующего супероксиды в присутствии следов ионов переходных металлов (Fe^{3+} , Cu^{2+}), предотвращая этим самоагрегацию супрола [8]. Это в свою очередь предотвращает повышение вязкости сыворотки, что является положительным эффектом для организма. Супероксидпродуцирующая активность цит. b 558 III ощутимо снижается под воздействием ЛП. Это может быть положительным эффектом с точки зрения того, что продуцируемые супероксиды могут вызывать дестабилизацию (липидную пероксидацию) эритроцитарных мембран [12, 14]. Однако снижение супероксидпродуцирующей активности может и отрицательно влиять на метаболические процессы в мембранах эритроцитов, происходящие с участием супероксидных радикалов. Какие из этих явлений более доминирующие, покажут дальнейшие исследования. Выявленная недавно метHb-восстанавливающая активность цит. b 558 III [13, 11] практически мало изменяется под воздействием ЛП (табл.), за исключением вурдона,

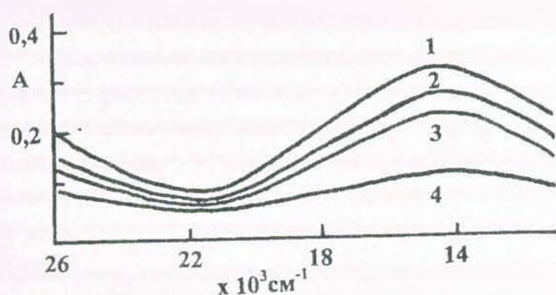


Рис. 1. Оптические спектры ЦП после 4-дневного инкубирования при 4° с ЛП: в отсутствие ЛП (1) и в присутствии лазикса (2), вурдона (3) и преднизолон (4).

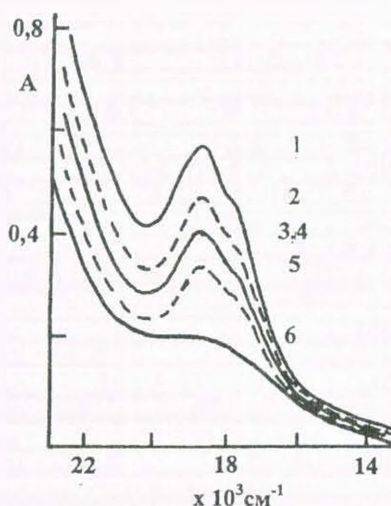


Рис. 2. Оптический спектр цит. б 558 III, после его 4-дневного инкубирования при 4° с ЛП: в отсутствие ЛП (1) и в присутствии строфантина (2), дигоксина (3), лазикса (4), нитроглицерина (5) и преднизолон (6).

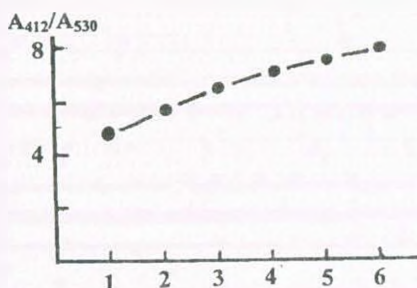


Рис. 3. Изменение оптического спектрального индекса (A_{412}/A_{530}) цит. б 558 III: в отсутствие ЛП (1) и в присутствии 1 мг строфантина (2), лазикса (3), дигоксина (4), нитроглицерина (5) и преднизолон (6).

который снижает эту активность. Изменение метHb-восстанавливающей активности цит. б 558 III так или иначе может влиять на кислородный гомеостаз крови. МетHb не способен перенести молекулярный кислород, уровень его повышается при злокачественных новообразованиях. Лазикс, преднизолон и вурдон необратимо снижают интенсивность поглощения ЦП (при 610 нм) - белка острой фазы, деградируя его (рис.1) [4]. Это может вызывать увеличение уровня супероксидов и ионов меди в крови, создавая определенный фон оксидативного повреждения различных компонентов крови.

Высокотолерантное действие против приведенных ЛП оказывает ТФ (не изменяются его опико-спектральные показатели). ЛП снижают активность ключевых МП антиоксидантного действия, особенно каталазы, что крайне нежелательное явление и может быть причиной накопления перекиси водорода, а также вызывать оксидативный стресс (табл.).

Механизм воздействия упомянутых ЛП во многом связан с их СОД - миметической активностью, что для лазикса составляет $22,7 \pm 2,1$ ед/мг, строфантина - $110 \pm 8,5$ ед/мг и вурдона - $120 \pm 9,0$ ед/мг. Тринитроглицерин, преднизолон и дигоксин не обладают СОД-

миметической, а также каталазной активностью. ЛП неодинаково влияют на опико-спектральные показатели цит. б 558 III (рис. 2). Возможно, они влияют на хромофорную группу цит. б 558 III, снижая интенсивность поглощения

при 530 нм. Этот эффект более выражен под воздействием преднизолона, вызывая деградацию цит. б 558 III, основного гемопротейна мембран эритроцитов, и снижение текучести этих мембран. Однако такой вывод носит предварительный характер, так как было выявлено непосредственное действие преднизолона на цит. б 558 III в гомогенной фазе, а не в эритроцитарных мембранах (в гетерогенной фазе). ЛП по-разному изменяют и величину оптического индекса цит. б 558 III в гомогенной фазе (рис. 3). Они несколько изменяют и окислительно-восстановительные характеристики цит. б 558 III под воздействием дитионита натрия (рис. 4).

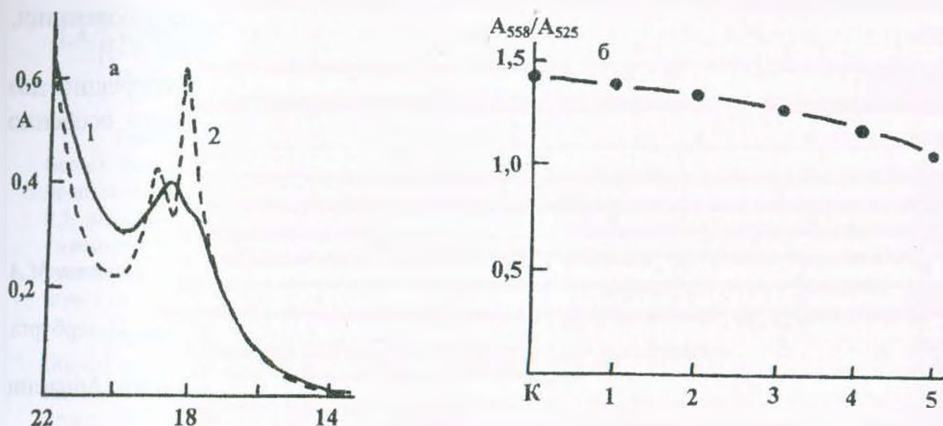


Рис. 4. Оптический спектр цит. б 558 III в окисленном (1) и восстановленном (2) дитионитом натрия (0,5 мг) состояниях: а — для нативного цит. б 558 III, б — отношение плотности поглощения при 558 нм к плотности поглощения при 525 нм на оптическом спектре поглощения цит. б 558 III после восстановления дитионитом натрия в отсутствие (1) и присутствии по 1 мг дигоксина (2), строфантина (2), лазикса (3), нитроглицерина (4) и преднизолона (5).

Этот эффект более выражен при действии преднизолона, снижая отношение A_{558}/A_{525} как фактора некоторого подавления процесса восстановления ионов железа в протетический группе цит. б 558 III. Для определения характера действия ЛП на эритроцитарные мембраны при процессе рилизинга (отщепления) цит б 558 из этих мембран были инкубированы ЛП с эритроцитарными мембранами при 4° в течение 4-х дней. Как показано на рис.5, процесс рилизинга цит. б 558 подавляется больше теми ЛП, у которых СОД-миметическая активность выше, например, вурдон подавляет рилизинг на 50%. Действительно, МП антиоксидантного действия (СОД и ЦП) и другие соединения такого же действия (ДМСО и богатый пролином полипептид из секреторных гранул мозга ПБП) заметно

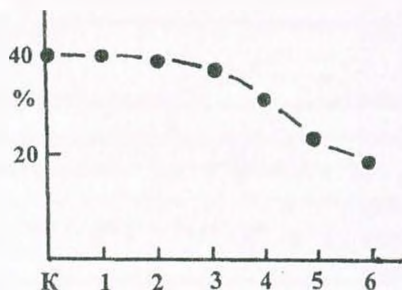


Рис. 5. Процент подавления рилизинга цит. б 558 из эритроцитарных мембран: в отсутствие ЛП (К) и в присутствии 1 мг тринитроглицерина (1), преднизолона (2), дигоксина (3), лазикса (4), строфантина (5) и вурдона (6). Время инкубирования смеси эритроцитарных мембран с ЛП 4 дня при 4°.

подавляют рилизинг цит. в 558 из эритроцитарных мембран [10]. Можно констатировать, что последний обратно пропорционален СОД - миметической активности ЛП. Вероятно, он связан с липидной перекиссацией эритроцитарных мембран, которая подавляется антиоксидантными действиями препаратов [10]. Подавление рилизинга цит. в 558, несомненно, положительное мембраностабилизирующее явление. Таким образом, ЛП различного характера по-разному влияют (положительно или отрицательно) на уровень и активность МП анти- и прооксидантного действия - регуляторов метаболизма активных форм кислорода в крови. Возможно, такое различие характера действия ЛП на МП и эритроцитарные мембраны *in vitro* и *in vivo* отражается и на эффективности терапии сердечно-сосудистых заболеваний, что часто не приводит к достаточно желательным результатам [1-3].

Полученные результаты могут быть использованы для коррекции доз используемых ЛП при терапии сердечно-сосудистых заболеваний, особенно учитывая по-новому оцененные побочные эффекты ЛП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексанян Сергей С., Симонян Г.М., Степанян А.А., Алексанян С.С., Симонян М.А. Вестник МАНЭБ Санкт-Петербурга., 9, 136-139, 2004.
2. Алексанян С.С., Степанян А.А., Симонян М.А. Вестник МАНЭБ Санкт-Петербурга, 8, 164-167, 2003.
3. Алексанян С.С., Симонян Р.М., Степанян А.А., Симонян М.А. Мед. наука Армении, 2, 62-65, 2003.
4. Мжельская Т.И. Бюлл. Эксп. Биол. Мед., 130, 124-132, 2000.
5. Симонян М.А., Симонян Г.М. Способ получения металлопротеинов. Лицензия изобретения N341 Армпатента, Ереван, 1997.
6. Симонян М.А., Симонян Г.М., Симонян Р.М. Способ получения цитохромов в из мембран эритроцитов. Лицензия изобретения N908 Армпатента, Ереван, 2001.
7. Симонян М.А., Бабалян М.А., Симонян Г.М. Биохимия, 60, 1977-1987, 1995.
8. Симонян Г.М., Бабалян М.А., Симонян Р.М., Симонян М.А. Биолог. журн. Армении, 52, 1, 18-21, 1999.
9. Симонян М.А., Карапетян А.В., Бабалян М.А., Симонян Р.М. Биохимия, 61, 932-938, 1996.
10. Симонян Р.М., Симонян Г.М., Бабалян М.А., Симонян М.А., Галоян А.А. Мед. наука Армении, 3, 13-18, 2003.
11. Симонян Р.М., Симонян Г.М., Бабалян М.А., Симонян М.А. Мед. наука Армении, 1, 43-46, 2004.
12. Miura T., Ogiso T. Chemical and Pharmaceutial Bulleten (Japan), 30, 3662-3670, 1982.
13. Simonyan G.M., Simonyan R.M., Babayan M.A., Simonyan M.A., Galoyan A.A. Intern. Conf. The roll of the Biologically Active Substances in the integrative Activity of the Organizm in Normal Conditions and in the Process of Adaptive Syndrome Formation. Yerevan State Med. University, 148-149, 2003.
14. Tien M., Svingen B.A., Aust S.D. Fed. Proc., 40, 179-182, 81.

Поступила 15.IV.2004

Биолог. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 616.36.004

РЕГУЛИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТ ТОКОФЕРОЛА НА УРОВЕНЬ МЕТАЛЛОПРОТЕИНОВ КРОВИ У КРЫС

Л.А. СИМОНЯН, Г.М. СИМОНЯН, А.А. СИМОНЯН, М.А. СИМОНЯН

Институт биохимии им. Г.Х. Бунятыана НАН РА, 375014, Ереван

Пентилентетразоль-индуцированный эпилептический припадок (ПЭП) у белых крыс вызывает общее повышение эндогенных уровней анти- и прооксидантного действия металлопротеинов (за исключением каталазы и цитохрома b_5), вызывая дисбаланс между антиоксидантным и прооксидантным статусом сыворотки крови и эритроцитов. Это создает соответствующий фон оксидативного повреждения крови, приводящий к гибели животных. α -Токоферол в основном играет антистрессорную и антиэпилептическую роль.

Ափսիտակ առնետների մոտ պենտիլենտետրազոլով հարուցված էպիլեպտիկ նոպան բարձրացնում է արյան հակա- և պրոօքսիդանտային գործողության մետաղապրոտեինների էնդոգեն մակարդակները (բացի կատալազից և ցիտոքրոմ b_5), առաջ բերելով արյան շիճուկի և էրիթրոցիտների հակաօքսիդանտային և պրոօքսիդանտային կարգավիճակների հաշվեկշռի խախտում: Սա հանգեցնում է արյան օքսիդատիվ վնասման և կենդանիների մահվան: α -Տոկոֆերոլը հիմնականում ցուցաբերում է հակասթրեսային և հակաէպիլեպտիկ դեր:

At penthylene tetrazole-induced epileptic seizure (PES) of the white rats the increase of the endogenous levels of blood anti- and prooxidant action metalloproteins (except the levels of catalase and cytochrome b_5) and disbalance between antioxidant and prooxidant statuses of blood serum and erythrocytes take place. It initiates the blood oxidative damage and the death of animals. α -tocopherol on the whole plays the antistressor and antiepileptic role.

Эпилептический припадок - металлопротеины - оксидативный стресс - α -токоферол

При пентилентетразоль-индуцированном эпилептическом припадке (ПЭП) наблюдается пятикратное увеличение уровня активных форм кислорода (АФК), в частности NO^* , перекисей и т.д., в коре головного мозга крыс. Механизм действия противосудорожных препаратов (фенобарбитурол, ламотригин, феназепан, мексидол), а также α -токоферола, связывается с уменьшением уровня АФК [12]. При этом несколько изменяется и функция митохондрий в культуре клеток гиппокампа, нарушается физиологическое равновесие между продуцирующими и утилизирующими АФК биосистемами, и, как результат этого, повышается уровень перекиси водорода, что оказывает повреждающее действие на синаптическую трансмиссию. α -Токоферол и аскорбиновая кислота оказывают при этом защитное действие [14]. Аналогично, препарат мелатонин, также обладающий антиоксидантным действием, защищает ДНК клеток от гидроксильных

радикалов, проявляя противосудорожный эффект [16]. При судорожном припадке, вызванном эпилептогеном — коразолом, антистрессорный и противосудорожный эффект оказывает Cu, Zn-супероксиддисмутаза (СОД), вводимая внутрибрюшинно [10]. Однако вопрос о состоянии регуляторных АФК систем крови при судорожных припадках полностью еще не решен.

Цель работы — комплексное исследование количественных изменений известных металлопротеинов антиоксидантного действия (МАД): Cu, Zn-СОД, каталазы, церулоплазмينا (ЦП) и трансферрина (ТФ), и антиоксидантного статуса (АС) в крови крыс при ПЭП под воздействием и при отсутствии α -токоферола. Были исследованы также сдвиги открытых недавно новых типов металлопротеинов прооксидантного действия (МПД): пяти изоформ цитохрома b558 сыворотки крови и мембран эритроцитов, супероксидпродуцирующего липопротеина сыворотки — супрола [9], а также цитохрома b₅, и прооксидантного статуса (ПС) в условиях опыта.

Материал и методика. Белые половозрелые крысы (190-210 г) были разделены на три группы (по 30 крыс в каждой). В первую опытную группу (ОГ-1) вошли животные, получившие внутрибрюшинно по 60 мг/кг массы животного пентилентетразоля (100%-ная летальная доза), который смешивали с 1 мл физиологического раствора и вводили каждой крысе. Во второй опытной группе (ОГ-2) через 10 мин после введения ПТ животные получали α -токоферол (по 10 мг/кг массы), смешанный с 1 мл физиологического раствора.

В ОГ-1 у крыс первые признаки судорожного припадка, вызванного ПТ, проявлялись уже через 12-14 мин после введения. Интенсивные судороги и гибель их наступали уже через 30-35 мин после введения ПТ. В ОГ-2 (при введении α -токоферола) через 25-30 мин наблюдались слабые признаки судорожного припадка, при этом животные не погибали.

После декапитации крыс под легким эфирным наркозом у вышеприведенных групп брали кровь, стабилизируя ее 2%-ным оксалатом натрия. Кровь пяти крыс (по 25 мл) была выделена для получения МАД и МПД.

МАД (Cu, Zn-СОД и каталаза, полученные из растворимой фракции эритроцитов; ЦП и ТФ — из сыворотки крови), МПД (цитохромы: b₅ — из растворимой фракции эритроцитов; b₅₅₈I и b₅₅₈II — из сыворотки крови; b₅₅₈III, b₅₅₈IV и нейтральный цитохром b₅₅₈ — из мембран эритроцитов; супрол — из сыворотки крови) выделяли разработанным нами биотехнологическим методом [9]. При этом детергент для сольubilизации эритроцитарных мембранных белков не применялся, т.к. он снижает стабильность цитохромов b₅₅₈ и затрудняет процесс очистки и выявления физико-химических свойств и активности этих гемопротеинов. При этом цитохром b₅₅₈III (новый структурно-функциональный компонент мембран эритроцитов) получали электрофоретически в гомогенном состоянии. Количество полученных металлопротеинов определяли путем регистрирования величины плотности, характерной для данного белка максимального оптического поглощения, которое составляет для цитохрома b₅ 525 нм; для изоформ цитохрома b₅₅₈ — 530 нм; ЦП — 610 нм; ТФ — 470 нм и супрола — 430 нм. СОД-активность фракции и O₂^{•-} - продуцирующую активность супрола и цитохрома b₅₅₈III определяли методом нитротетразолиевого синего (НТС). При этом учитывали процент уменьшения (в случае СОД) или увеличения (в случае продуцирования O₂^{•-}) величины плотности максимального оптического поглощения формазана (при 560 нм), который образуется в результате восстановления НТС супероксидными радикалами. За единицу СОД-активности или O₂^{•-} - продуцирующей активности супрола и цитохрома b558III принимали то количество фракций, которое способно ингибировать или стимулировать образование формазана на 50%. Каталазную активность фракций определяли перманганатометрическим титрованием растворов перекиси водорода в отсутствие или присутствии фракций.

Оптические спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре "Hitachi" (Япония) с длиной оптического пути 1 см. Статистическую обработку полученных результатов осуществляли общеизвестным методом вариационной статистики Стьюдента-Фишера.

Результаты и обсуждение. При ПЭП наблюдается общее повышение (по сравнению со 100%-ными контрольными показателями) эндогенных уровней МАД и МПД, за исключением цитохрома b5 и каталазы, уровни которых снижены (табл. 1).

Таблица 1. Относительные изменения (%) металлопротеинов крови крыс при судорожных припадках (ОГ-1) и под воздействием α -токоферола (ОГ-2), ($P < 0,05$; $n=6$)

Металлопротеины и активность	ОГ-1	ОГ-2
Цитохром b_5	$-21,4 \pm 1,3$ ($p < 0,01$)	$+8,4 \pm 0,2$
S Цитохром $b_{558} I + II$	$+288,0 \pm 35,8$ ($p < 0,03$)	$-16,5 \pm 1,2$ ($p < 0,02$)
Цитохром $b_{558} IV$	$+26,6 \pm 2,7$ ($p < 0,01$)	$+19,3 \pm 2,4$
Цитохром $b_{558} III$	$+27,2 \pm 2,5$	$-9,0 \pm 0,6$
Нейтральный цитохром b_{558}	$-71,5 \pm 3,6$ ($p < 0,02$)	$+1,6 \pm 0,1$
Супрол	$+195,0 \pm 8,5$ ($p < 0,01$)	$+2,4 \pm 0,1$
O_2^- – продуцирующая активность цитохрома $b_{558} III$	$+2,6 \pm 0,3$	$-4,3 \pm 0,5$
O_2^- – продуцирующая активность супрола	$+7,0 \pm 1,1$	$-14,9 \pm 2,0$
ЦП	$+150,0 \pm 17,4$ ($p < 0,03$)	$+5,0 \pm 0,3$
ТФ	$+28,5 \pm 2,2$	$+2,1 \pm 0,2$
СОД	$+41,1 \pm 3,0$ ($p < 0,03$)	$+16,1 \pm 0,7$
Каталаза	$-66,7 \pm 4,4$ ($p < 0,001$)	$+52,6 \pm 4,1$ ($p < 0,01$)

Таким образом, при ПЭП интенсивность аэробных метаболических процессов повышается. Снижение уровня цитохрома b_5 может быть связано с повышением подвижности животных [1]. Предположительно, понижение уровня каталазы связано с повышением ее расходования в процессе нейтрализации растущих уровней H_2O_2 при ПЭП, не исключается и инактивирование каталазы супероксидными радикалами [15]. Представляет определенный интерес резкое повышение (в 3 раза) уровня сывороточного цитохрома b_{558} . Можно предположить, что при ПЭП в сыворотке крови резко повышается количество H_2O_2 , которое нейтрализуется цитохромом $b_{558} II$, однако не путем ее расщепления, а «экранирования» [8], что является адаптационным механизмом организма, т.к. в сыворотке крови уровень каталазы незначительный. С другой стороны, следует отметить, что АФК, включая и H_2O_2 , образуются при фагоцитозе, и их наличие в сыворотке крови в физиологических количествах необходимо [13]. Резкое повышение уровня сывороточных цитохромов b_{558} , возможно, связано с эффектом отщепления (рилизинга) нейтрального цитохрома b_{558} из мембран эритроцитов

в сыворотку [11]. Видимо, с этим связано понижение уровня этого цитохрома в эритроцитарных мембранах (табл. 2).

Эффект рилизинга цитохрома b_{558} в сыворотке наблюдается и при острых лимфобластических и миелобластических лейкозах [3]. Эти изменения можно использовать в качестве диагностического теста при ПЭП. Повышение уровня эритроцитарных мембранных цитохромов b_{558} III и b_{558} IV как O_2^- -продуцирующих систем свидетельствует о повышении уровня O_2^- в эритроцитах, также как и перекиси водорода - продукта ферментативного дисмутирования O_2^- . В настоящее время особого внимания заслуживает эритроцитарный мембранный цитохром b_{558} III. Удельное содержание цитохрома b_{558} III мембран эритроцитов млекопитающих в 80-100 раз превышает таковое цитохрома b_{558} III, локализованного в мембранах клеток иммунной системы [4]. Более того, количество цитохрома b_{558} III мембран водных обитателей, в частности рыбы сиг озера Севан (*Coregonus Lavaretus sevanicus*), в 7-8 раз больше, чем у млекопитающих [5]. Цитохром b_{558} III мембран эритроцитов является ФАД-содержащим, NADPH-зависимым O_2^- -продуцирующим гликогемопротеином. В лигандном окружении Fe^{3+} локализован нитроксильный радикал (NO^*) [6], за счет которого этот цитохром образует с гемоглобином нестабильное комплексное соединение при злокачественных новообразованиях (рак грудной железы у женщин и саркома-45 у крыс [7]). Изменения уровня цитохрома b_{558} мембран эритроцитов так или иначе меняют их текучесть, что способствует оксидативному повреждению эритроцитарных мембран [4].

При ПЭП (ОГ-1) O_2^- -продуцирующая активность супрола и цитохрома b_{558} III особых изменений не претерпевает. Резкое повышение уровня белка острой фазы ЦП [2] и есть ответ на увеличение уровня O_2^- -продуцирующих систем сыворотки (супрола, цитохрома b_{558} I и цитохрома b_{558} II). Не исключается и наличие воспалительных процессов, вызванных активными формами кислорода (АФК), уровень которых повышен. Диапазон изменений других МП антиоксидантного действия (ТФ, СОД) присущ ПЭП в ОГ-1. В ОГ-2 под воздействием α -токоферола в большинстве случаев наблюдается тенденция регулирования уровня МП. Однако уровень каталазы, хоть и повышен, но еще не достигает исходных данных.

Приведенные изменения в ОГ-1 являются экстремальными и приводят к гибели животных. Это особенно заметно при суммировании полученных результатов путем расчета антиоксидантного (расчетный суммарный уровень МАД) и прооксидантного статусов (расчетный суммарный уровень МПД) (табл. 2).

Таблица 2. Относительные изменения (%) анти- и прооксидативного статусов крови при ПТ-индуцированных судорожных припадках (ОГ-1) и под воздействием α -токоферола (ОГ-2), ($P < 0,05$; $n=6$)

Компоненты крови	ОГ-1		ОГ-2	
	АС	ПС	АС	ПС
Сыворотка	+178,5 $\pm$ 24,3	+490,0 $\pm$ 28,5	+7,1 $\pm$ 1,2	-28,0 $\pm$ 3,3
Эритроциты	-25,6 $\pm$ 3,1	+42,7 $\pm$ 4,6	+68,7 $\pm$ 3,5	+122,0 $\pm$ 10,1

Действительно, дисбаланс между этими статусами в сыворотке крови и эритроцитах является основной причиной оксидативного повреждения и, в целом, оксидативного стресса крови в ОГ-1 со смертельным исходом. В ОГ-2 небольшой дисбаланс между этими статусами все же сохраняется в течение 30-40 мин, однако это уже не представляет опасности для жизни животных. Приведенные показатели являются количественными факторами оксидативного стресса при ПЭП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акопян В.М., Симонян М.А., Манукян А.А., Симонян Р.М., Акопян А.А. Бюлл. Эксп. Биол. Мед., 132, 1062-1064, 2001.
2. Мжельская Т.И. Бюлл. Эксп. Мед., 130, 124-132, 2000.
3. Симонян Г.М. Мед. наука Армении, XLII, 101-103, 2002.
4. Симонян Г.М. Автореф. канд. дисс., Ереван, 2003.
5. Симонян Г.М., Симонян Р.М., Бабаян М.А., Степанян И.Э., Карапетян А.В., Симонян М.А. Мед. наука Армении, XLIII, 30-38, 2003.
6. Симонян Г.М., Симонян Р.М., Бабаян М.А., Нерсисян А.К., Симонян М.А. Мед. наука Армении, XLIII, 31-34, 2003.
7. Симонян Г.М., Симонян Р.М., Симонян М.А. В кн.: Актуальные вопросы военной медицины. Гос. мед. университет, Ереван, 48-51, 1999.
8. Симонян М.А., Симонян Г.М. Способ получения металлопротеинов крови. Изобретение Армпатента №341, Ереван, Республика Армения, 1997.
9. Симонян М.А., Табачникова С.И., Громов Л.А. Нейрохимия, 3, 124-129, 1984.
10. Симонян Р.М., Симонян Г.М., Бабаян М.А., Симонян М.А. Мед. наука Армении, XLIII, 13-18, 2003.
11. Bashkatova V., Nakevich V., Vitskova G., Vanin A. Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry, 27, 487-493, 2003.
12. Batot G., Paclet M.H., Doussiere T. Biochim. Biophys. Acta, 1406, 188-202, 1998.
13. Kovacs R., Schuchmann S., Gabriel S. et.al. J. Neurophysiol., 88, 2909-2918, 2002.
14. Shimizu N., Kobayashi K., Hayashi K. J. Biol. Chem., 289, 4414-4419, 1984.
15. Yamamoto H.A., Mohanan P.V. Toxicology, 179, 29-36, 2002.

Поступила 07.VI.2004

Биолог. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 616.24-002.5-078.33

ЕСТЕСТВЕННЫЕ КИЛЛЕРНЫЕ КЛЕТКИ ПРИ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ В СИСТЕМЕ *IN VITRO*

М.А. КАРАЛЯН, М.З. БАХШИНЯН*, З.Р. ТЕР-ПОГОСЯН

*Противотуберкулезный диспансер МЗ РА, 378510, г. Абовян
Кафедра гистологии ЕрГМУ им. М. Гераци, 375025

Исследовались некоторые аспекты одного из звеньев естественной резистентности — естественных киллерных клеток (ЕКК) при туберкулезном процессе и под действием препаратов противотуберкулезной терапии.

Изучались количественные показатели ЕКК и их цитотоксическое действие (ЦТД). Показано иммуносупрессивное действие рифампицина при 16-часовой инкубации. Выявлено, что при 4-часовой инкубации рифампицин не оказывал супрессии ЦТД ЕКК у больных туберкулезом.

Изониазид обладал более слабым действием на изучаемые показатели — он лишь вызывал тенденцию к их снижению.

Ուսումնասիրվել են բնական ռեզիստենտականության օղակներից մեկի որոշ տեսակետները բնական քիլերային բջիջները տուբերկուլյոզային պրոցեսում և հակատուբերկուլյոզային քիմիոթերապիայի պատրաստուկների ազդեցության պայմաններում:

Հետազոտվել են բնական քիլերային բջիջների քանակական ցուցանիշները և նրանց ցիտոտոքսիկ ազդեցությունը: Ցույց է տրված ռիֆամպիցինի իմունասուպրեսիվ ազդեցություն 16-ժամյա ինկուբացիայի պայմաններում: Հայտնաբերվել է, որ 4-ժամյա ինկուբացիայի պայմաններում ռիֆամպիցինը չի ցուցաբերել սուպրեսիա բնական քիլերային բջիջների ցիտոտոքսիկ ազդեցության վրա տուբերկուլյոզով հիվանդների մոտ:

Իզոնիազիդը հետազոտվող ցուցանիշների վրա ցուցաբերել է առավել թույլ ազդեցություն առաջացնելով միայն նրանց նվազելու միտում:

Natural resistance (particularly natural killer cells - NK) was investigated at tuberculosis process and under the action of different antituberculous preparations.

The quantitative parameters NK and their cytotoxic action. The were also investigated. The studies showed immunosuppressive action of rifampicin at the 16 h incubation. At the same time rifampicin did not render suppression of the cytotoxic action of NK at the patients by a tuberculosis at the 4 h incubation. There is no significant changes in action of the another preparation — isoniazid on the investigated characteristics, it only caused the tendency to their decrease.

Естественные клетки киллеры - цитотоксическое действие -макрофаги

Длительность течения и разнообразие клинических проявлений туберкулеза обуславливают необходимость поддержания иммунного гомеостаза больного с помощью иммунорегуляции, понимаемой нами как взаимодействие собственно иммунных реакций и факторов естественной резистентности. На сегодняшний день все больше внимания уделяется роли

иммунной системы при разных формах туберкулезного процесса. Настоящая работа является частью исследования особенностей естественного иммунного статуса у больных туберкулезом. Как известно, наиболее важными звеньями естественной резистентности организма являются естественные киллерные клетки (ЕКК) и макрофаги (МФ). Состояние иммунной системы важно и в связи с появлением сообщений об увеличении частоты лекарственной устойчивости различных форм микобактерий, когда роль иммунных реакций резко возрастает.

В настоящее время большое значение придается роли макрофагальной системы в развитии и прогрессировании туберкулезного процесса [3, 5, 9, 10, 15]. К сожалению, гораздо меньше внимания уделяется проблемам взаимодействия различных клеточных субпопуляций, в том числе и макрофагов при туберкулезном процессе [4, 9, 11, 13]. Практически не изучалось одно из основных звеньев естественного иммунитета – естественные киллерные клетки, принимающие участие во всех реакциях иммунной системы и являющиеся первым звеном резистентности организма [8].

В этом аспекте нами изучено влияние препаратов противотуберкулезной химиотерапии на количественные показатели и активность ЕКК *in vitro*.

В возросшем в последние годы интересе к противотуберкулезному иммунитету особое место занимает химиотерапия [2, 7]. В более ранних исследованиях изучался в основном иммунный контроль над терапией туберкулеза [10, 12], позже стали предприниматься попытки иммунотерапии [17]. В исследованиях по иммунологии туберкулеза преимущественно изучается естественный иммунитет, и в частности, система мононуклеарных фагоцитов, лишь единичные работы затрагивают проблемы взаимодействия лимфоцитов и макрофагов [11].

Как известно, ЕКК вместе с системой мононуклеарных фагоцитов осуществляют самый ранний этап противоопухолевой защиты. Их активность по отношению к инфекционным агентам менее изучена, однако способность осуществлять ими без предварительной иммунизации лизис практически всех чужеродных клеток позволяет считать это звено иммунитета чрезвычайно важным, особенно при первичном контакте с патогенными микроорганизмами.

Работа проведена нами в условиях *in vitro*. Целесообразность подобного исследования обеспечена данными литературы о корреляции между показателями *in vivo* и *in vitro*.

Материал и методика. Для определения количественных показателей клеток с ЕКК предлагается использовать методику, разработанную на основе биев – моноклональных антител (CD56+), насаженных на железные шарики (Dynabeads M-450, фирмы Dynal A. S. N-0212 Oslo Norway). Методика является современным способом определения количественных показателей различных клеточных субпопуляций [6]. С этой целью была исследована периферическая кровь у больных с диагнозом инфильтративного туберкулеза до начала противотуберкулезной химиотерапии (n=37). В качестве контроля использовали кровь клинически здоровых доноров (n=29).

Также нами было изучено действие рифампицина и изониазида на цитотоксическое действие (ЦТД) ЕКК [4, 7]. Использовали кровь больных до начала противотуберкулезной химиотерапии. С этой целью из крови больных с диагнозом инфильтративного туберкулеза

(n = 43) выделяли мононуклеары по методу Воуит [16]. ЦТД ЕКК определяли по методу Гордиенко [1]. В качестве контроля использовали кровь клинически здоровых доноров (n = 29). ЦТД ЕКК изучали при инкубации ЕКК с исследуемыми препаратами в течение 4 и 16 ч в атмосфере CO₂.

Оба изучаемых препарата использовали в терапевтических дозах – 0.01 мг/мл.

Результаты и обсуждение. Данные о действии двух препаратов на ЦТД ЕКК при 4-часовой инкубации каждого из обоих препаратов приведены в табл. 1.

Таблица 1. Влияние рифампицина и изониазида на активность ЕКК при 4-часовой инкубации

Группы	n	Активность ЕКК, %		
		контроль	изониазид	рифампицин
Доноры	29	37.4±3.1	33.4±2.9	28.9±2.2*
Больные	43	36.9±3.7	34.8±3.0	30.3±3.5

Примечание: * достоверно (p<0.05) по сравнению с контролем

Согласно полученным результатам, наблюдалась тенденция к снижению ЦТД ЕКК при воздействии изониазида и достоверное снижение активности ЕКК при воздействии рифампицина, по сравнению с контролем. У больных инфильтративным туберкулезом наблюдалась лишь тенденция к снижению ЦТД ЕКК.

Таким образом, изониазид в терапевтических дозах не оказывает существенного иммуносупрессирующего действия на ЕКК, как у больных с диагнозом инфильтративного туберкулеза, так и у доноров. Рифампицин в дозе 0.01 мг/мл вызывает достоверное снижение ЦТД ЕКК у доноров.

После этого были проведены исследования с 16-часовой инкубацией препаратов (табл. 2).

Таблица 2. Влияние рифампицина и изониазида на активность ЕКК при 16-часовой инкубации

Группы	n	Активность ЕКК, %		
		контроль	изониазид	рифампицин
Доноры	29	42.1±4.8	35.7±3.9	30.4±2.9*
Больные	43	44.5±6.2	36.3±4.1	31.7±3.0*

Примечание: * достоверно (p<0.05) по сравнению с контролем

Как видно из таблицы, при 16-часовой инкубации ЕКК с исследуемыми препаратами отмечено достоверное снижение ЦТД не только у доноров, но, в отличие от 4-часовой инкубации, и у больных инфильтративным туберкулезом.

Затем нами были исследованы численные показатели клеток с рецептором CD56+, который, как известно, является одним из основных рецепторов среди клеток с естественной киллерной активностью [16].

Как видно из табл. 3, оба исследуемых препарата не оказывают выраженного иммуносупрессивного действия на количество CD56+ клеток. Однако у доноров, в целом имеющих несколько более высокие цифры количества CD56+ клеток, наблюдается тенденция к снижению изучаемого показателя как при инкубации с изониазидом, так и с рифампицином.

Таблица 3. Влияние рифампицина и изониазида на количество CD56+ клеток

Группы	n	Количество CD56+клеток, тыс/мл		
		контроль	изониазид	рифампицин
Доноры	29	58.1±7.97	50.9±8.41	49.3±7.26
Больные	37	50.6±13.3	48.5±12.1	49.7±11.2

Таким образом, нами изучено действие двух важных препаратов противотуберкулезной химиотерапии на показатели одного из звеньев естественного иммунитета. Показано общее иммуносупрессивное действие препаратов, проявляющееся в достоверном снижении ЦТД ЕКК у доноров при инкубации эффекторных клеток с рифампицином в течение 4 часов и достоверном снижении ЦТД ЕКК и у больных, и у доноров при 16-часовой инкубации в условиях *in vitro* (рис. 1). Выявлено также, что изониазид не оказывает столь выраженного действия на активность ЕКК и вызывает лишь тенденцию к снижению ЦТД даже при 16-часовой инкубации (рис. 2).

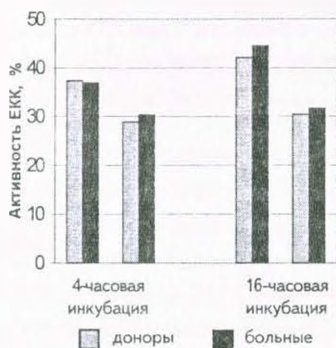


Рис. 1. Влияние рифампицина на ЦТД ЕКК при 4 и 16-часовой инкубации

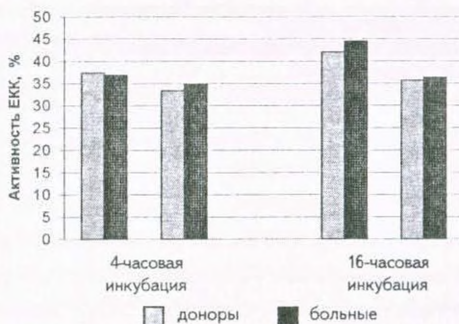


Рис. 2. Влияние изониазида на ЦТД ЕКК при 4 и 16-часовой инкубации

При изучении количественных показателей CD56+ клеток установлено отсутствие достоверных изменений при воздействии обоих препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гордиенко С.М. Лабораторное дело, 9, 45-48, 1983.
2. Грачева М.П. Проблемы туберкулеза, 3, 60-64, 1980.
3. Грачева М.П., Наровлянская С.Е., Горбачевская Л.В., Селицкая Р.П. Проблемы туберкулеза, 2, 52-56, 1988.
4. Ерохин В.В., Гедымин Л.Е. Проблемы туберкулеза, 5-6, 37-41, 1992.

5. Илькович М.М., Довнар Т.Е., Кинго З.Н., Пальмарчук Г.Ф. Проблемы туберкулеза, 9, 60-64, 1984.
6. Лимфоциты (Сб., методы), Новосибирск, 1990.
7. Ломакин М.С. Иммунобиологический надзор, 1990.
8. Малыгин А.А. Цитология, 5, 5-11, 1985.
9. Селедцова Г.В., Козлов В.А. Проблемы туберкулеза, 5, 54-56, 1991.
10. Сибирная Р.И. Проблемы туберкулеза, 9, 69-71, 1980.
11. Сокуренок Л.С., Морозов В.Л., Адамбеков Д.А., Ешеналиев М.К. Здравоохранение Киргизии, 2, 14-17, 1989.
12. Чернушенко Е.Ф., Шатров В.А., Беляновская Т.И., Кузнецова Л.В., Шпак О.И. Проблемы туберкулеза, 1, 59-63, 1986.
13. Шатров В.А., Кузнецова Л.В., Беляновская Т.И. Журн. микробиологии эпидемиологии и иммунологии. 5, 76-78, 1985.
14. Aharona Glatman-Freedman, Arturo Casadevall Clinical Microbiology Reviews, 11, 3, 514-532, July 1998,.
15. Barnes P.F., Modlin R.L. Curr.Top.Microbiol.Immunol, 197-219, 1996.
16. Boyum A. Separation of leukocytes from blood and bone marrow. Scand. J. Clin. Lab. Invest, 61, 4, 629-634, 1968.
17. Condos R., Rom W., Schluger N. Lancet, 5, 24, 349 (9064), 1513-1515, 1997.

Поступила 12.XII.2003

Биолог. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 619:616.995:636.92.(084)

ՖԱՍԻՈԼՈԶՈՎ ԿԱՐԱԿՍԱՆ ԴԵՊԵՐԸ ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՃԱԳԱՐԱԲՈՒԾԱԿԱՆ ՏՆՏԵՍՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐՈՒՄ

Յ.Զ. ՆԱՂԱՇՅԱՆ, Մ.Ա. ՍԱՐԳՍՅԱՆ

Հայկական գյուղատնտեսական ակադեմիա, 375009, Երևան

Հայաստանի մի շարք ճագարաբուծական տնտեսություններում կատարված հետազոտությունների արդյունքում 1,5 ամսականից ավագ հասակի կենդանիների մոտ հայտնաբերվել է ֆասցիոլոզ հիվանդությունը: Հիվանդությունը հարուցում են կենդանիների օրգանիզմ թափանցած ֆասցիոլաների երիտասարդ ձևերը, որոնք ճագարների օրգանիզմում սեռահասուն չեն դառնում:

Исследованиями, проведенными в ряде кролиководческих хозяйств Армении, у животных старше 1,5 мес обнаружен фасциолез. Заболевание вызывается молодыми формами фасциол, проникшими в организм кроликов; у данного хозяина фасциолы не достигают половозрелой стадии.

During researches, carried out at several rabbit-breeding farms of the Republic, the fascioliasis was diagnosed in over 1.5 months aged animals. The disease in rabbits were caused by young forms of *Fasciola hepatica*, which infested the rabbits' organisms. The causative agent in this kind of hosts does not reach the mature stage.

Ֆասցիոլոզ - ճագար - լյարդ - թրթուր

Հայաստանում ճագարաբուծության զարգացմանը զուգընթաց մեծ տարածում են ստացել նաև ինվազիոն հիվանդությունները՝ էյմերիոզը, պասալուրոզը, պիզիֆորմային ցիստիցերկոզը, քոսային ախտերը և այլն:

Վերջին 2 տարիներին հանրապետության առանձին ճագարաբուծական տնտեսություններում 1,5 ամսական և ավելի բարձր հասակի ճագարների մոտ հաճախակի արձանագրվում է մինչև այժմ անհայտ, ոչ բնորոշ կլինիկական նշաններով արտահայտվող հիվանդություն, որից կենդանիների անկումները երբեմն հասնում են 60-70%: Մասնագետները շատ հաճախ այս անկումների պատճառ են համարում էյմերիոզը կամ վիրուսային հիվանդությունները:

Հիվանդությունը կենդանիների մոտ արտահայտվում է որովայնի ծավալի մեծացմամբ, լորձաթաղանթի դեղնությամբ, ախորժակի անկումով, աճի և զարգացման դանդաղեցման և այլ ոչ բնորոշ կլինիկական նշաններով: Անկած կենդանիներին հերձելիս հայտնաբերվում է լյարդի ծավալի մեծացում և խտաստիճանի փափկացում: Նշված կլինիկական նշանները առավել բնորոշ են էյմերիոզ հիվանդությանը, սակայն հակաէյմերիոզային դեղամիջոցների ներմուծումը ոչ միայն չէր նպաստում հիվանդության կլինիկական նշանների անհետացմանը, այլ պատճառ էր հանդիսանում դեղամիջոցի ներմուծումից հետո կենդանիների անկումների առաջացմանը:

Աշխատանքի նպատակն էր պարզել կենդանիների անկումների պատճառը

և հայտնաբերված հիվանդությունների նկատմամբ մշակել բուժկանխարգելիչ միջոցառումներ:

Նյութը և մեթոդը: Հետազոտությունները կատարել ենք 2000-2001թթ. Արարատյան դաշտավայրի, Երևանի, Կոտայքի մարզի և Սևանի ավազանի ճագարաբուծական տնտեսությունների 200 հիվանդ և 150 անկաճ կենդանիների վրա: Կենդանի վիճակում հիվանդությունը ախտորոշելիս հաշվի ենք առել համաճարակաբանական տվյալները տնտեսության աշխարհագրական դիրքը, կապը այլ տնտեսությունների հետ, պահվածքի տիպը և պայմանները, կերերի տեսականին և այն վայրերը, որտեղից դրանք ներմուծվել են, կենդանիների հասակը, սեռը, կլիմայական պայմանները և այլն: Հիվանդությունը ախտորոշել ենք նաև կլինիկական նշանների և կոլոզանքի հեղինթոօվոսկոպիկ հետազոտությունների ճանապարհով [3]: Անկաճ կենդանիները ենթարկել ենք լրիվ և մասնակի հելմինթոլոգիական հերժման ըստ Սկոյաբիսի: Հելմինթների թրթուրների, ձվերի և ադոլեսկարիաների առկայության նկատմամբ հետազոտության ենք ենթարկել նաև տվյալ տնտեսության թարմ և չոր խոտը [4]:

Արդյունքներ և քննարկում: Հետազոտությունների արդյունքում պարզվեց, որ նշված բոլոր տնտեսություններում, հատկապես ծնռան ամիսներին, առավելագույնն են արտահայտվում մինչև այժմ անհայտ հիվանդության կլինիկական նշանները, որոնցից առավել ակնհայտ են որովայնի ծավալի մեծացումը, ախորժակի կտրուկ անկումը, տեսանելի լորձաթաղանթների թեթևակի դեղնությունը և հանկարծահաս մահը: Այսպիսի կլինիկական նշաններ հիմնականում հայտնաբերվում են 1,5 ամսական մատղաշների մոտ: Ավելի մեծ տարիքի ճագարների մոտ նշված ախտանիշներից պահպանվում են՝ տեսանելի լորձաթաղանթների ավելի ընդգծում դեղնությունը և մարսողության պարբերական խախտման նշանները (փորլուծ կամ կապ, որովայնի փքամք): Հատկանշանակ է, որ 1,5 ամսական ճագարների անկումները բոլոր տնտեսություններում կազմում էին 60-70%: Պահվածքի պայմանները բոլոր տնտեսություններում բավարար էին, ճագարները տարափոխիկ հիվանդությունների նկատմամբ պատվաստված էին կամ էլ կանխարգելիչ դոզաներով ստացել էին համապատասխան դեղամիջոցները: Կոլոզանքի հեղինթոօվոսկոպիկ (ֆյուլլբրոռնի և հաջորդական լվացումների մեթոդներով) հետազոտություններով 1,5 ամսական ճագարների կոլոզանքում թե հելմինթների, և թե նախակենդանիների ձվեր կամ սաղմնապարկեր չեն հայտնաբերվել: Հելմինթների ձվեր (պասալուրոզ) և սաղմնապարկեր (էյմերիոզ) հայտնաբերվել են ավելի մեծ հասակի ճագարների կոլոզանքում, այնպիսի քանակներով, որոնք կենդանիների մահվան պատճառ չեն կարող հանդիսանալ:

1,5 ամսական անկաճ ճագարիկներին հերժելիս մեր ուշադրությունը գրավեց լյարդի ծավալի 2-5 անգամ մեծացումը, գույնի փոփոխությունը (դեղնամոխրագույն) լյարդի պատիճի ամբողջականության խախտումները, մակերեսի և պարենքիմայի մեխանիկական վնասվածքները (մակերեսը թողնում էր ծեծած մսի տպավորություն) և նրանցում սպիտակ գույնի որդանման, ավելի ստույգ նշտարանման թրթուրների առկայությունը: Թրթուրները հեշտությամբ էին անջատվում լյարդի հյուսվածքից, ավելի խորը շերտերում թրթուրներ չհայտնաբերվեցին: Նմանատիպ թրթուրներ հայտնաբերվեցին նաև որովայնի խոռոչում և ստոծանու վրա: Կրծքավանդակում և այնտեղ տեղակայված օրգաններում թրթուրներ չհայտնաբերվեցին: Բարակ աղիքների լորձաթաղանթը կատառա-հեմոռագիկ բորբոքման վիճակում էր:

Առանձնացված թրթուրների մանրադիտակային հետազոտության ժամանակ լավ երևում էին բերանային ծծանը և մարմնի եզրային կողմերում

տեղակայված դեղնուցարանները: Հայտնաբերված թրթուրների կառուցվածքաբանական առանձնահատկությունները ուսումնասիրելու նպատակով դրանց մշակեցինք Բլաժինայի մեթոդով [1]: Հարուցիչը իր արտաքին տեսքով և ներքին կառուցվածքի որոշ մանրամասներով հիշեցնում էր ֆասցիոլոգի հարուցիչին: Մեր ուշադրությունը կանգ առավ մի հետաքրքիր փաստի վրա, այսպես՝ եթե իրենց պարտադիր տերերի (տավար, մ.ե.ա) օրգանիզմում երիտասարդ ֆասցիոլաների երկարությունը սովորաբար տատանվում է 1-2մմ սահմաններում, ապա ճագարների մոտ նրանց երկարությունը տատանվում էր 3-5մմ սահմաններում: Նշված փաստը հետագա պարզաբանումների կարիք է զգում: Հետազոտությունների արդյունքում եկանք այն եզրակացության, որ 1,5 ամսական ճագարիկների մոտ հայտնաբերված հիվանդությունը ֆասցիոլոգ է: Ախտորոշման ճշգրտության մեջ առավել համոզվելու նպատակով, փորձեցինք հետազոտության ենթարկել այն խոտը, որոնցով կերակրում էին ճագարներին: Չոր խոտում աշնանը հայտնաբերեցինք 0,3մմ տրամագիծ ունեցող դեղնա-դարչնագույն, իսկ ծնռանը՝ ավելի մուգ գույնի աղուլեսկարիաներ: Երբ բացահայտեցինք, որ խոտը բերվել էր Արարատյան դաշտավայրից և նախալեռնային գոտու գետերի առափնյա շրջանից, ապա վերջնական ախտորոշումը հաստատվեց ֆասցիոլոգ:

Այդ նույն տնտեսություններում վերը նշված կլինիկական նշաններով ավելի ավագ հասակային խմբերի ճագարների կոկոսանքի հելմինթոսկոպիկ հետազոտությամբ ֆասցիոլոգի հարուցիչի ծվեր չհայտնաբերվեցին: Մորթից հետո այդ կենդանիների լյարդում և որովայնի խոռոչում հարուցիչի թրթուրներ չհայտնաբերվեցին, սակայն լյարդի վրա առկա էին դեղնա-մոխրագույն գույնի շարակցահյուսվածքային աճի հետքերը և լյարդը այս անգամ ուներ արտահայտված դեղնա-կավագույն գունավորում:

Առավել ավագ հասակի ճագարների մոտ ֆասցիոլոգի հարուցիչի թրթուրները, հավանաբար, տիրոջ լյարդում չգտնելով իրենց համար բարենպաստ պայմաններ ոչնչանում են, չհասնելով իրենց մակաբուծման վերջնական վայրը՝ լեղածորանները և լեղապարկը:

Այսպիսով, Հայաստանի հանրապետության ճագարաբուծական տնտեսություններում բուծվող 1,5 ամսական ճագարների մոտ հայտնաբերվեցին ֆասցիոլոգի հարուցիչի երիտասարդ ձևեր, որոնք այս հասակային խմբի կենդանիների մոտ լյարդի մեխանիկական վնասման, նաև թունավոր ազդեցության հետևանքով պատճառ են հանդիսանում անկումների առաջացմանը, իսկ ավելի ավագ հասակի կենդանիների մոտ, առավել բարձր բնական դիմադրողականության պայմաններում, չգտնելով իրենց զարգացման համար լավագույն պայմանները, ոչնչանում են, սակայն տիրոջ օրգանիզմում մնում են նրանց կողմից լյարդում առաջացած մեխանիկական ազդեցության հետևանքները: Միաժամանակ կարելի է եզրակացնել, որ ճագարները հանդիսանում են ֆասցիոլոգի հարուցիչի ֆակուլտատիվ տերերը, որոնց օրգանիզմում հարուցիչները կուտակվում, բայց սեռահասուն չեն դառնում [2]:

Ֆասցիոլոգը Հայաստանի ճագարաբուծական տնտեսություններում պատկանում է տարածված, բայց լիովին չբացահայտված ճիճվային հիվանդությունների թվին: Նրանով վարակվում են 1,5 ամսականից ավելի մեծ հասակի կենդանիները: Այս հիվանդությունից կենդանիների անկումները կազմում

են 60-70%: Հիվանդության առաջացմանը նպաստում են ցածրադիր, խոնավ կամ ճահճուտ վայրերից հավաքված խոտով կերակրումը: Հիվանդության կանխարգելման նպատակով անհրաժեշտ է այդպիսի վայրերից հավաքված խոտը առնվազն 6 ամիս պահպանել չոր և լավ քամհարվող պահեստներում, մինչև ադոլեսկարիաների ոչնչացումը: Վերը նշված կլինիկական նշանները ճագարների մոտ հայտնաբերելիս դրանց անհրաժեշտ է անմիջապես ենթարկել պրեիմագինալ ճիճվաթափության: Հիվանդության կանխարգելման և արդյունավետ բուժման ուղղությամբ հետազոտությունները շարունակվում են:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Практикум по диагностике инвазионных болезней сельскохозяйственных животных. М., “Колос”, 127-130, 1984.
2. Практикум по диагностике инвазионных болезней сельскохозяйственных животных. М., “Колос”, 140-141, 1984.
3. Шульц Р.С., Гвоздев Е.В. Основы общей гельминтологии. I, М., “Наука”, 108-111, 1970.
4. Якубовский М.В., Карасев Н.Ф. Паразитарные болезни животных. Минск, “УРАЖДАЙ”, 35-36, 1991.

Ստացվել է 28.II.2003

Биол. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 597.08.591

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АРМЯНСКОЙ ПЛОТВЫ *Rutilus rutilus schelkovnikovi* DERJAVIN, 1926 (CYPRINIDAE, PISCES) ВОДОЕМОВ АРАРАТСКОЙ РАВНИНЫ

С.Х. ПИПОЯН

Научный центр этнокультурных исследований "Этнос", 375010, Ереван

Изучены некоторые биологические особенности армянской плотвы *Rutilus rutilus schelkovnikovi* водоемов Араратской равнины: закономерности весового и линейного роста, определен половой состав стад, выявлены особенности размножения и плодовитости.

Ուսումնասիրվել են Արարատյան հարթավայրի ջրամբարների հայկական կարմրակնի *Rutilus rutilus schelkovnikovi* կենսաբանական որոշ առանձնահատկություններ. քաշային և գծային աճի օրինաչափությունները, որոշվել է վտանգների սեռային կազմը, բացահայտվել բազմացման ու պտղավետության առանձնահատկությունները:

Some of the biological features of the Armenian roach *Rutilus rutilus schelkovnikovi* of the Ararat Valley reservoirs - weight and linear growth conformities were examined. The sexual composition of the flock was defined, a number of peculiarities of the reproduction were revealed.

Армянская плотва - весовой и линейный рост - плодовитость

Армянская плотва - один из малоизученных видов ихтиофауны Армении. Ее изучали Державин [3], выделивший эту рыбу в особый подвид плотвы *Rutilus rutilus schelkovnikovi* на основании некоторых морфометрических отличий от других форм и обособленности ареала, и Дадибян [2]. Однако этими авторами не было уделено достаточного внимания выявлению биологических особенностей армянской плотвы, о которых до настоящего времени практически ничего не известно.

Целью настоящей работы является изучение роста, плодовитости и особенностей размножения армянской плотвы водоемов Араратской равнины.

Материал и методика. Материал собран в р. Мецамор у с.Гай (07.03.1995г., n=19), р. Мецамор у с.Ранчпар (09.11.1997г., n=1), нижнем течении р. Раздан у с. Андриканаван и сопредельных каналах (15.12.1995г., n=20, 21.12.1995г., n=61, 07.01.1996г., n=22, 10.05.1997г., n=36), оз. Акналич (26.10.1996г., n=41), каналах у с.Овташат Масисского района (18.01.1998г., n=49, 06.02.1998г., n=15, 14.02.1998г., n=15, 22.02.1998г., n=91, 28.02.1998г., n=18, 10.03.1998г., n=49, 16.03.1998г., n=14, 19.04.1998г., n=8, 24.07.1998г., n=48, 08.08.1998г., n=90, 08.08.1998г., n=21, 15.08.1998г., n=23, 31.08.1998г., n=26), в окр. г.Масис (05.07.1999г., n=12).

Сбор и обработка материала проведены по общепринятым методикам [1, 4, 5]. Для изучения плодовитости было обработано 98 свежепойманных самок на IV и IV-V, редко на V стадиях зрелости. Диаметр овоцитов измеряли с помощью окуляр-микрометра.

Возраст определен по чешуе [7].

Статистическую обработку проводили с применением стандартных методов (M+m, t).

Результаты и обсуждение.

Рост. Армянская плотва в водоемах Араратской равнины имеет сравнительно невысокий, более или менее равномерный темп весового и линейного роста (табл. 1). По Дадикяну [2], это связано со своеобразным, более или менее стабильным температурным режимом р. Мецамор.

По темпу весового и линейного роста самки армянской плотвы незначительно превосходят самцов (табл. 2 и 3).

Таблица 1. Рост плотвы (каналы окр. с. Овташат, оба пола).

Возрастная группа	Весовой рост, г				Линейный рост, мм			
	M	m	lim	n	M	m	lim	n
0+(сеголетки, конец июля)	1.19	0.08	0.41-3.50	48	37.1	0.75	28.1-54.2	48
0+(сеголетки, 1 декада августа)	1.58	0.12	0.80-2.30	15	42.3	0.41	34.3-50.5	90
1 (годовики)	4.75	0.58	0.80-16.15	48	58.4	2.24	37.7-106.3	51
2 (двухгодовики)	42.50	1.25	18.50-68.0	83	118.9	1.00	89.0-140.0	139
3 (трехгодовики)	77.45	2.11	39.1-121.2	57	147.5	0.84	131.5-163.2	69
4(четырёхгодовики)	120.64	3.05	93.0-179.0	44	170.4	1.29	159.0-190.0	44
5 (пятигодовики)	212.86	14.95	177.0-270.0	7	212.6	5.50	200.0-238.0	7

Таблица 2. Весовой рост плотвы, г

Возрастная группа	Самцы				Самки			
	M	m	lim	n	M	m	lim	n
2 (двухгодовики)	38.3	1.80	22.4-59.0	34	45.1	1.58	24.1-68.0	49
3 (трехгодовики)	72.8	2.72	50.5-98.0	20	79.9	2.86	39.00-121.0	37
4(четырёхгодовики)	116.3	8.56	93.00-150.2	8	121.6	3.26	93.50-179.0	36
5 (пятигодовики)	-	-	-	-	212.9	14.95	177.0-270.0	7

Таблица 3. Линейный рост плотвы, мм

Возрастная группа	Самцы				Самки			
	M	m	lim	n	M	m	lim	n
2 (двухгодовики)	118.6	1.39	93.7-137.0	72	119.8	1.51	89.0-140.0	60
3 (трехгодовики)	146.3	1.30	131.5-163.0	29	148.2	1.18	135.0-160.0	36
4(четырёхгодовики)	168.3	2.82	162.0-180.0	8	170.8	1.44	159.0-190.0	36
5 (пятигодовики)	-	-	-	-	212.6	5.50	200.0-238.0	7

Размножение. Соотношение полов армянской плотвы в водоемах Араратской равнины близко к 1:1 (n=356).

Половозрелость у армянской плотвы наступает в 2-летнем возрасте при длине тела самок 89.0–140.0 мм, в среднем 119.8 ± 1.51 (n=60), и массе тела – 24.05–68.00 г, в среднем 45.14 ± 1.58 (n=49). Самцы несколько меньше по размерам и массе тела.

Нерестовый период у армянской плотвы в условиях р. Мецамор

начинается с середины января и продолжается до конца марта, при коэффициенте зрелости (К) у самок от 4.80 до 28.10, у самцов — 2.75 — 10.92. Средние значения К отдельных размерных и весовых групп самок отличаются не существенно (табл. 4), что свидетельствует о единовременном размножении разновозрастных половозрелых особей. Обнаруживается четкая взаимосвязь между увеличением К и увеличением диаметра овоцитов в зависимости от времени нерестового периода, при этом у одноразмерных особей количество овоцитов уменьшается (табл. 5). Последнее явление, вероятно, связано с резорбцией части зрелых икринок.

Таблица 4. Коэффициент зрелости (К) самок армянской плотвы в нерестовый период

Размерная группа, мм	К				Весовая группа, г	К			
	М	m	lim	n		М	m	lim	n
91-110	14.11	2.32	9.40-18.95	3	30-50	11.73	0.72	4.80-17.70	23
111-130	12.51	0.69	7.65-20.90	20	51-70	16.45	1.45	10.63-26.02	15
131-150	16.64	1.22	5.36-26.02	18	71-90	19.00	2.54	10.76-28.10	7
151-170	17.12	1.17	7.82-28.10	33	91-110	16.32	1.54	7.82-26.62	22
171-190	16.55	1.24	9.03-23.20	14	111-130	18.77	1.18	13.87-23.20	14
191-210	16.60	3.68	11.76-22.10	3	131-150	14.09	1.27	9.03-19.20	9
Свыше 211	19.55	2.76	17.60-21.50	2	151-170	-	-	-	-
					171-190	18.80	4.06	15.94-21.68	2
					Свыше 191	20.40	1.73	17.60-22.10	3

Таблица 5. Динамика изменения коэффициента зрелости (К), диаметра овоцитов (d) и абсолютной плодовитости (АП) армянской плотвы в нерестовый период

Дата	К	d	АП	l, мм	Q, г	n
18.01.98г.	11.60	1.00	18458	160	109.8	13
06.02.98г.	13.83	1.12	40563	171	120.7	9
14.02.98г.	15.10	1.12	24879	177	136.5	10
22.02.98г.	15.76	1.20	9900	118	67.0	42
28.02.98г.	20.15	1.30	22974	164	136.3	11
16.03.98г.	23.50	1.37	14702	149	81.7	13

В теплые зимы нерест может происходить в более ранние сроки — январе-феврале. Раньше нерестится и плотва, заходящая в родники, где имеется довольно стабильный температурный режим — около 14°. После нереста коэффициент зрелости самцов резко снижается и составляет 0.21 - 1.00.

Армянская плотва является полициклической рыбой с единовременным икрометанием. Икра желтая, светло-оранжевая или оранжевая. Диаметр невыметанных икринок на IV и IV-V стадиях зрелости 0.94-1.45 мм, в среднем — 1.19 ± 0.06 .

Индивидуальная абсолютная плодовитость (ИАП) армянской плотвы колеблется от 3488 до 58480 икринок (максимальные значения плодовитости превосходят минимальные более чем 16 раз), $M=15914 \pm 952$ ($n=94$),

индивидуальная относительная плодовитость (ИОП) - от 108 до 411 икринок на 1 г массы без внутренностей, в среднем $M = 221.4 \pm 5.5$ ($n=90$).

Таблица 6. Абсолютная (АП) и относительная плодовитость (ОП) армянской плотвы по размерным группам

Размерная группа, мм	АП				ОП			
	М	m	lim	n	М	m	lim	n
91-110	4945	296	4220-5410	4	214	20.6	181-235	3
111-130	7209	411	3488-11800	23	199	10.3	108-271	18
131-150	12890	923	8090-20980	17	251	18.2	169-411	16
151-170	18282	712	12300-24975	31	221	8.3	111-324	32
171-190	24376	1753	14370-36920	14	228	13.3	151-319	14
191-210	25729	833	24410-26676	3	165	11.1	148-176	3
Свыше 211	52905	5575	47330-58480	2	257	35.5	221-292	2

Таблица 7. Абсолютная (АП) и относительная плодовитость (ОП) армянской плотвы по весовым группам

Весовая группа, мм	АП				ОП			
	М	m	lim	n	М	m	lim	n
30-50	6697	384	3488-8940	24	201	9.4	108-271	20
51-70	12231	1262	7830-20980	13	258	21.7	169-411	13
71-90	14999	1386	10640-21030	7	233	20.4	178-324	7
91-110	17042	870	7000-24750	22	217	8.5	111-284	23
111-130	18998	735	12300-34990	14	212	10.4	130-263	17
131-150	26199	1698	19890-35450	8	222	16.8	176-319	10
151-170	-	-	-	-	-	-	-	-
171-190	30798	4122	26676-34920	2	227	55.0	172-282	2
191-210	24410	-	-	1				
Свыше 211	52905	7884	47330-58480	2	220	51.1	148-292	3

С увеличением размеров и массы тела закономерно увеличивается АП армянской плотвы. Однако внутри каждой размерной и весовой группы наблюдается варьирование АП отдельных особей: максимальные значения превышают минимальные от 1.03 до 3.88 раза. Как и АП, ОП также имеет значительную индивидуальную изменчивость в каждой весовой группе. Так, максимальное значение ИОП превышает минимальное в 1.6 - 2.6 раза (табл. 6 и 7), что свидетельствует о разнокачественности самок по интенсивности генеративного обмена в каждой весовой группе. Известно, что ИОП связана с продолжительностью жизни особи; интенсификация процессов размножения с высокими показателями ИОП плотвы приводит к физиологическому старению и естественной смертности самок в более раннем возрасте [6]. В нашем фактическом материале это явление выражено нечетко: ОП в отдельных весовых группах остается более или менее стабильной, а по амплитуде изменчивости ближе к плотве Рыбинского водохранилища [6].

Автор выражает благодарность Н.Ж. Айрапетян за помощь при выполнении этой работы.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Анохина Л.Е.* Закономерности изменения плодовитости рыб. М., 292, 1969.
2. *Дадикян М.Г.* Рыбы Армении. Изд. АН. Арм. ССР. Ереван, 245, 1986.
3. *Державин А.Н.* Изв. Бакинской ихт. Лаб., 2, 1. 3-26, 1926.
4. *Иванков В.Н.* Плодовитость рыб. Методы определения, изменчивость, закономерности формирования. Владивосток: изд-во Дальневосточного университета. 88, 1985.
5. *Правдин И.Ф.* Руководство по изучению рыб. М.: Пищ. промыш. 376, 1966.
6. *Спановская В.Д.* Типовые методики продуктивности видов рыб в пределах их ареалов. Вильнюс, III, 63-75, 1976.
7. *Чугунова Н.И.* Рыбное хоз-во. 12, 11-13, 1955.

Поступила 20.XI.2001

Биолог. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 574.4:504.054

МИКРОГАМЕТОФИТНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ У ВИНОГРАДА КУЛЬТУРНОГО

С.Г. ЕРВАНДЯН, А.А. НЕБИШ, Е.Г. СИМОНЯН, Р.М. АРУТЮНЯН

*Ереванский государственный университет, лаборатория цитогенетики, кафедра
генетики и цитологии, 375049*

Изучалось состояние мужского гаметофита различных сортов винограда. Выявлено, что качество пыльцы по пунктам произрастания растений существенно не различалось: зарегистрированные вариации обусловлены специфичностью генотипа и годичными климатическими условиями.

Ուսումնասիրվել է խաղողի տարբեր սորտերի արական գամետոֆիտի զարգացումը: Ցույց է տրվել, որ, կախված բույսերի աճման պայմաններից, ծաղկափռու որակական հատկանիշները էականորեն չեն տարբերվել. գրանցված տատանումները պայմանավորված են գենոտիպային առանձնահատկություններով և տվյալ տարվա կլիմայական պայմաններով:

Various sorts of grapes have been investigated. It is specified, that quality of pollen on separate points of cultivation of plants had no sharp differences: the registered variations are caused by specificity of a genotype and year climatic conditions.

Микрогаметофит - пыльца - стерильность - фертильность

Загрязнение природной среды изменяет эволюционно сложившиеся комплексы приспособительных реакций живых организмов к условиям существования. Особую тревогу вызывают генетические последствия техногенных воздействий, которые могут привести к вырождению природных популяций. Задача исследователей — изучение реакции разных биотипов биосферы на воздействие этих факторов. Тест на определение стерильности мужского гаметофита является чувствительным методом выявления генетических воздействий различного характера, и по эффективности его часто сравнивают с изучением гаплоидного набора микроорганизмов [5, 13-16]. Предполагается, что гомеостаз в популяциях в определенной степени зависит от микрогаметофитной конкуренции, которая заметно колеблется под воздействием окружающей среды [4, 8]. Согласно литературным данным, пыльцевой анализ можно использовать для индикации загрязнения среды токсическими и мутагенными веществами по их гаметоцидному действию [6, 7, 17]. Проведенными нами повторными опытами сделана попытка при помощи пыльцевого анализа исследовать загрязненность окружающей среды в пределах Армянской атомной электростанции (ААЭС), отобрать с точки зрения биоиндикации более чувствительные генотипы. В данном сообщении

представлены некоторые результаты сравнительного изучения мужского гаплоидного поколения у одной из ценных для Армении культур — винограда.

Материал и методика. Материалом для исследования послужил зрелый мужской гаметофит (пыльца) растений винограда, выращенного в Научно-исследовательском институте виноградарства, виноделия и плодоводства НАН РА (Мердзаван — I, контрольный пункт) и в пределах ААЭС (Мецамор — II, опытный пункт). Цитозмбриологический анализ проведен у сортов Шаумяни, Чаренци, Меграбуйр, Неркарат, Бурмунк, Кишмиш черный, Кишмиш белый, Арапати, Араксени, Адиси по параметрам: стерильность (фертильность) и морфометрические показатели — диаметр, объем, гетерогенность пыльцевых зерен. В каждом варианте на ацетокарминовых препаратах проанализировано до 10000 пылинков с использованием общепринятой в литературе методики [10]. Объем пылинков (100) определяли по формуле $D=1/6 \cdot \pi d^3$, где d — средний диаметр пыльцевых зерен [1]. Цифровые данные разработаны статистическими методами [11].

Результаты и обсуждение. Цитозмбриологические данные, полученные на основании анализа мужского гаплоидного поколения большой группы сортов винограда, представлены на рисунках. Сравнительная оценка показала, что действие окружающих факторов на качество и конкурентоспособность пыльцы может модифицироваться в зависимости от условий внешней среды и генотипических особенностей. Следовательно, влияние внешней среды неоднозначно, ибо оно опосредуется биологическими свойствами генотипа (сортов, видов). По изученным показателям в пределах одного вида, одного сорта и одного пункта исследования зарегистрированы далеко не идентичные данные. Эти вариации особенно наглядны по основному параметру — стерильности мужского гаметофита. У изученных сортов в разных повторностях наблюдалась существенная вариабельность. При этом в обоих пунктах исследования в большинстве случаев зарегистрирован относительно умеренный уровень неполноценности пыльцы. Однако и в этом отношении результаты неоднозначны (рис. 1, 2). Если в I пункте (Мердзаван) у сорта Арапати в первой повторности (первый год) стерильность пыльцы составляла $5,70 \pm 0,20\%$, во второй — $4,34 \pm 0,20\%$, в третьей — $30,45 \pm 0,46$, то во II пункте (ААЭС) эти цифры были соответственно $10,36 \pm 0,18\%$, $27,43 \pm 0,18\%$ и $3,20 \pm 0,18\%$. Сходные соотношения можно наблюдать и у других сортов. Например, у сорта Араксени в опытном пункте уровень стерильности во второй повторности составил $37,60 \pm 0,48\%$, в третьей — $3,08 \pm 0,17\%$, а в контрольном пункте — $5,70 \pm 0,21\%$ в первой, $20,70 \pm 0,39\%$ и $12,30 \pm 0,33\%$ — во второй и третьей повторностях. (В первой повтор-

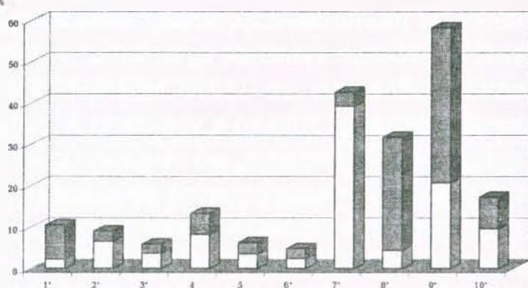


Рис. 1. Соотношение стерильности пыльцы по пунктам исследования (вторая повторность)

По оси абсцисс — варианты опыта (сорта):

1. Шаумяни, 2. Чаренци, 3. Меграбуйр, 4. Неркарат, 5. Бурмунк, 6. Кишмиш черный, 7. Кишмиш белый, 8. Арапати, 9. Араксени, 10. Адиси

По оси ординат — стерильность пыльцы, %

Пункты: □ — Мердзаван, ■ — Мецамор

* Различия с контролем достоверны

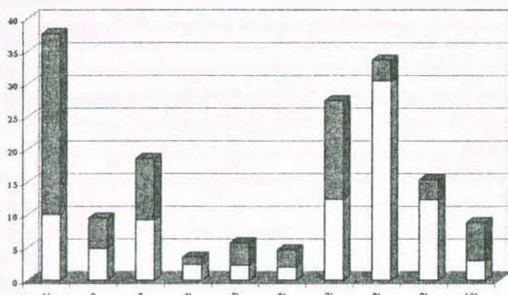


Рис. 2 Соотношение стерильности пыльцы по пунктам исследования (третья повторность)

По оси абсцисс — варианты опыта (сорта):

1. Шаумяни, 2. Чаренци, 3. Меграбуйр, 4. Неркарат, 5. Бурмунк, 6. Кишмиш черный, 7. Кишмиш белый, 8. Арарати, 9. Араксени, 10. Адиси

По оси ординат — стерильность пыльцы, %

Пункты: □ — Мердзаван, ■ — Мецамор

* Различия с контролем достоверны

ности второго пункта из-за нехватки материала изучены четыре генотипа: Меграбуйр, Арарати, Араксени, Адиси, и поэтому эти данные не отражены в рис.). Из приведенных данных видно, что среди исследуемых сортов имеются такие, у которых вне зависимости от условий повторностей формируется высококачественная пыльца, с 90-98%-ной фертильностью (Чаренци, Неркарат, Адиси и др.). Последнее говорит о разной чувствительности и своеобразной реакции отдельных

генотипов. Степень абортивности разных сортов повышена или понижена как в контрольных, так и в опытных вариантах.

При формировании полноценного мужского гаметофита важное место занимает морфометрическая характеристика, от которой в существенной степени зависит микрогаметофитная конкуренция и оплодотворяющая способность пыльцы. Варьирование любых параметров, в том числе и морфометрических, в основном зависит от генотипа и может быть больше или меньше среднепопуляционного, который следует рассматривать как эталон при оценке качества рассмотренной системы (в данном случае — мужского гаметофита). Переходы величин (диаметр и объем) у разных сортов незначительны. У большинства сортов средний диаметр пыльцевых зерен колебался в пределах 24-26 мкм (объем 8000-9000 мкм³). Однако в зависимости от места произрастания растений и от года проведения опыта имелись некоторые различия и по этому показателю. Например, у сорта Кишмиш белый по обоим пунктам отмечены относительно крупные пылинки, со средним объемом до 11397 мкм³, а у сорта Бурмунк такая картина зарегистрирована только в условиях Мердзавана. Следовательно, хотя и в незначительной степени, но относительно стабильные показатели (здесь — величина) также подвергаются изменению. У отдельных сортов (Шаумяни) во всех вариантах объем пылинок составлял до 12671 мкм³ (чем приближался к характеристике полиплоидных клеток), но в целом у основной группы сортов данные более или менее идентичны: величина пылинок — относительно константный признак и контролируется генотипом. Этим и обусловлена гомогенность общей массы пыльцевой популяции как в обоих условиях проведения опыта, так и у разных генотипов.

Исходя из вышесказанного, можно считать, что у большинства изученных сортов винограда вне зависимости от пункта проведения опыта формируется полноценная пыльца. А обильная и фертильная пыльца

обеспечивает сильную конкуренцию, способствует выживанию здоровых растений. Такая пыльца обеспечивает большую возможность выбора, а из-за гаплоидного состояния генома число генетических рекомбинаций меньше, что дает возможность приблизиться к рецессивным аллелям [7, 8, 9]. Помимо этого, фертильные генотипы любых видов растений, в том числе и винограда, можно использовать для индикации загрязнения окружающей среды токсическими и мутагенными веществами по их гаметоцидному действию [4, 6-8]. Исследование мужского гаметофита, этой чувствительной системы, чутко реагирующей на малейшие колебания климатических условий, может быть использовано как при объяснении конкретных практических вопросов, связанных с качеством и количеством урожая, так и при создании систем биоиндикации. Неоднократными исследованиями, проведенными на множестве сортов, выращенных в окрестностях ААЭС, не отмечен повышенный уровень пыльцевой дефектности, и по жизнеспособности их можно сравнить с контролем. Аналогичные сведения приведены в других экспериментах по другим параметрам с исследованием растений, произрастающих в условиях хронического облучения [2, 3, 11, 12]. В работе Шевченко и др. [12] показано, что в условиях хронического облучения частоты мутаций аберрации хромосом в митозе и мейозе снижаются, а по другому источнику [3, 9], рассмотренные экологические параметры в зоне ААЭС (накопление радионуклидов в растениях и субстратах) находятся в пределах величин, характерных для контроля (за пределами ААЭС).

Полученные данные дают основание считать, что качественные показатели (фертильность, морфометрические параметры) мужского гаметофита винограда формируются в зависимости от генотипа и от воздействия конкретных средовых факторов. Сорта с оптимальными показателями микрогаметофита могут послужить материалом для биоиндикации и сохранения популяции (Неркарат, Бурмунк, Кишмиш черный). Наличие сортов с умеренной фертильностью может привести к образованию полиморфных популяций с новыми приспособлениями к средовым факторам (Меграбуыр, Кишмиш белый, Адиси).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Выгодский М.Я.* Справочник элементарной математики. М., 263-265, 1996.
2. *Гераськин С.А., Зимина Л.М., Дикарев В.Г., Дикарева Н.С., Зимин В.Л., Васильев Д.В., Блинова Л.Я., Исайкина Н.В., Нестеров Е.Б.* Экология, 4, 300-303, 2000.
3. *Дмитриева С.А.* Цитология и генетика, 30, 4, 3-8, 1996.
4. *Куприянов П.Г.* Сб. "Апомиксис и цитозембриология растений", Изд-во Саратовского ун-та, 5, 32-35, 1983.
5. *Куринный А.И.* Цитология и генетика. 17, 4, 32-35, 1983.
6. *Куринный А.И., Лежачев Р.К., Елисеев К.Г.* Метод. рекомендации, Киев, 25, 1989.
7. *Лях В.А.* Автореф. докт. дисс., Санкт-Петербург, 1982.
8. *Лях В.Д.* Цитология и генетика. 29, 6, 76-82, 1995.

9. Нифонтова М.Г., Куликов Н.В., Тарина Г.И., Дьяченко А.И. Экология, 3, 40-45, 1988.
10. Паушева В.П. Практикум по цитологии растений, М., Агроиздат., 256, 1988.
11. Плохинский И.М. Математические методы в биометрии. М., Изд-во Московского университета. 250-254, 1978.
12. Шевченко В.А., Абрамов В.И., Кальченко В.А., Федотов И.С., Рубанович А.В. Радиационная биология и радиоэкология, 36, 531-536, 1996.
13. Amano Etsuo. Environ. Health Perspect, 37, 165-168, 1981.
14. Constantine Milton S. Genotoxic Effect of Airborne systems with potential for the detection of atmospheric mutagens, 159-177, 1982.
15. Nilan R.A., Rosichan J.J., Arenar P., Hodgdon A.Z., Kleinbors D. Environ. Health Perspect, 37, 19-25, 1981.
16. Ottaviano E., Sarigoffa M., Mutcahy L.L Structure, function and use in biology and medicine. Witey-Less inc., 575-588, 1990.
17. Sharma C.B. Evol. Mutagenic and Carcinogenic Potental. Environm. Agents, Collect, Articies and Lab. Meth. Work Shop. BARC. Febr.15-19, Bombay, 27-317, 1982.

Поступила 30.1.2004

ԼԵՌՆԱՅԻՆ ՍՈՎՈՐԱԿԱՆ ՍԵՎԱԴՐՈՂԵՐԻ ՖԵՐՄԵՆՏԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ի.Յ. ՍԵՄԵՐՋՅԱՆ

*Երևանի պետական համալսարան, Էկոլոգիայի և
բնության պահպանության ամբիոն, 375025, Երևան*

Ոռոգվող երկրագործության պայմաններում ուսումնասիրվել է մարդու տնտեսական գործունեության ազդեցությունը սովորական սևահողերի էվոլյուցիոն գործընթացի վրա:

Բացահայտվել է, որ խոպան հողերի յուրացման և կուլտուրականացման ժամանակ ֆերմենտների ակտիվությունը ենթարկվում է օրինաչափ փոփոխությունների և արտացոլում է հողագոյացման գործընթացը, հետևաբար ֆերմենտների ակտիվության մակարդակը կարելի է դիտել որպես հողերի կուլտուրականացման աստիճանի ցուցանիշ:

Изучалось влияние хозяйственной деятельности человека на направленность эволюции обыкновенного чернозема в условиях орошаемого земледелия.

Выявлено, что при освоении и окультуривании целинных почв ферментативная активность их подвергается закономерным изменениям и отражает внутренние процессы почвообразования. Следовательно, уровень активности ферментов можно рассмотреть как показатель степени окультуренности почв.

The man's economic activity influence on the direction of the evolution process of ordinary chernozems in irrigative agricultural conditions was investigated.

It was found out that in the course of development and cultivation of virgin lands the activity of enzymes undergoes regular changes and reflects the process of soil formation, consequently the level of activity of enzymes can be considered as an index for the level of soils cultivation.

Чернозем - ферментативная активность почв

Գրականության տվյալների վերլուծումը բերում է այն եզրակացության, որ ֆերմենտների ակտիվության մակարդակը կարելի է օգտագործել որպես հողի ախտորոշման ցուցանիշ [1, 3, 5, 6]:

Որպես կենսաբանական կատալիզատորներ ֆերմենտները կարևոր դեր են խաղում հողի ձևավորման և դրանց բերրիության ստեղծման գործում: Հողի ֆերմենտների ակտիվությունը կախված է օրգանական նյութերի պարունակությունից, ֆիզիկական, ֆիզիկաքիմիական գործոններից: Ընդ որում, ֆերմենտների ակտիվությունը ենթարկվում է օրինաչափ փոփոխությունների՝ կախված ռելիեֆի պայմաններից, մշակաբույսերից, կիրառվող ագրոտեխնիկական միջոցառումներից, տեխնածին նյութերով հողի ախտոտվածության աստիճանից և այլն: Այս ամենը տալիս է հնարավորություն ֆերմենտների ակտիվությունը դիտարկել որպես հողի կուլտուրականացման աստիճանի ցուցանիշ: Ֆերմենտների ակտիվության մակարդակի փոփոխությունները որպես հողերի կուլտուրականացման աստիճանի ցուցանիշ

օգտագործելու նպատակով ուսումնասիրվել է մարդու տնտեսական գործունեության ազդեցությունը Ախուրյանի շրջանի սովորական սևահողերի ֆիզիկական, ֆիզիկաքիմիական հատկությունների և կենսաբանական ակտիվության վրա:

Նյութ և մեթոդ: Ուսումնասիրությունները արվել են Ախուրյանի շրջանի խոպան և կուլտուրականացման տարբեր մակարդակներ ունեցող սևահողերի վրա: Դոզի ֆերմենտների ակտիվության մակարդակի փոփոխության վիճակագրական հաշվարկների համար ծրարի մեթոդով վարելաչերտից վերցրել ենք հինգ անհատական նմուշներից կազմված մեկ խառը նմուշ: Սրտաբջջային ֆերմենտների ակտիվությունը թարմ օդաչոր նմուշներում որոշվել է ունիֆիկացված մեթոդներով [4], հումուսը՝ ըստ Տյուրիմի, փոխանակային կալցիումը և մագնեզիումը՝ Իվանովի, կալիումը և նատրիումը՝ Մասլովի, կարբոնատությունը՝ զազաչափական, ջրային քաշվածքի՝ pH-ը՝ պոտենցիոմետրիկ մեթոդներով, իսկ մեխանիկական կազմը՝ ըստ Կաշինսկու [2]:

Արդյունքներ և քննարկում: Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ լեռնային սովորական խոպան սևահողերը բնութագրվում են հումուսի բարձր պարունակությամբ, ծանր կավավազային մեխանիկական կազմով, միջավայրի թույլ հիմնային ռեակցիայով, կարբոնատների զգալի պարունակությամբ և բավականին բարձր կլանող ունակությամբ (աղ. 1):

Փոխանակային կատիոնների գումարի մեջ կալցիումը կազմում է 83,3%, իսկ նատրիումը՝ 2,6%: Լեռնային սովորական սևահողերը բնական պայմաններում ունեն բարձր բերրիություն, շատ հարուստ են բակտերիաներով, ակտինոմիցետներով ու սնկերով: Համեմատած շագանակագույն և գորշ կիսաանապատային հողերի հետ ունեն կենսաբանական բարձր ակտիվություն (աղ. 2):

Հիդրոլիտիկ ֆերմենտների բարձր ակտիվությունը պայմանավորված է օրգանական նյութերի զգալի պարունակությամբ և ծանր մեխանիկական կազմով: Օքսիդավերականգնող ֆերմենտների բարձր ակտիվությունը և ածխաթթու գազի ուժգին արտադրությունը պայմանավորված է միջավայրի հիմնայնությամբ և կարբոնատների բարձր պարունակությամբ:

Մշակովի չռոզովող սովորական սևահողերը համեմատած խոպան հողերի հետ ունեն հիդրոլիտիկ ֆերմենտների ցածր ակտիվություն: Մշակման ժամանակ ուժգնանում է օրգանական նյութերի հանքայնացման աստիճանը, որը հանգեցնում է կտրվածքի վերին մասում հումուսի պարունակության հարաբերական նվազեցման 29,8% և հիդրոլիտիկ ֆերմենտների ակտիվության իջեցման ֆոսֆատազայինը՝ 29,7%, ինվերտազայինը՝ 38,8% և ուրեազայինը՝ 42,7%: Ըստ հիդրոլիտիկ ֆերմենտների ակտիվության մակարդակի՝ մշակովի չռոզովող սովորական սևահողերը մոտենում են մշակովի ոռոգվող շագանակագույն հողերին: Հերկման ժամանակ բարձրանում է կատալազայի ակտիվությունը և ուժգնանում է հողից ածխաթթու գազի արտադրությունը: Այս պրոցեսին նպաստում է հողի և մթնոլորտի միջև գազափոխանակության ուժեղացումը, ինչպես նաև հողի ջրաօդային հատկության լավացումը:

Խոպան հողերի մշակումը հանգեցնում է նաև կարբոնատների լվացմանը հողի վերին շերտերից դեպի ստորին շերտերը, միջավայրի pH-ի, փոխանակային կալցիումի պարունակության, կլանման տարողության իջեցմանը, ինչպես նաև փոխանակային մագնեզիումի և նատրիումի պարունակության բարձրացմանը:

Աղյուսակ 1. Լեռնային սովորական սևահողերի քիմիական կազմը և ֆիզիկաքիմիական հատկությունները

Հողի տիպը և կտրվածքի համարը	Հորիզոնը և խորությունը	Պարունակությունը, %				pH	Փոխանակային կատիոններ, մգ- էկվ 100 գր հողում					Փոխանա- կային Na գումարից, %
		հումուս	կարբո- նատու թյունը	Ֆրակցիա, մմ			Ca	Mg	K	Na	Գումարը	
				<0,001	<0,01							
Սովորական սևահող, խոպան 18	A _ճ 0-13	7,4	4,6	24,7	54,6	8,1	53,1	3,9	1,1	1,6	59,7	0,95
	A 13-27	6,7	4,6	25,3	61,2	8,1	43,6	5,2	0,9	1,3	51,0	0,66
	B ₁ 72-41	5,2	6,3	16,3	42,5	7,9	36,8	6,2	0,9	1,4	45,3	0,63
	B ₂ 41-72	4,1	19,8	18,1	33,8	8,2	31,9	7,5	0,6	1,2	41,2	0,49
	B ₃ C 72-81	1,8	20,6	12,9	25,2	8,2	25,9	4,9	0,7	0,8	32,3	0,25
չոռոզվող 20	A _վ 0-24	5,2	2,5	25,8	69,4	7,9	31,3	11,4	1,0	1,9	45,6	0,86
	A 24-46	4,8	4,9	46,3	60,7	7,9	31,5	12,6	1,0	2,0	47,1	0,94
	B ₁ 64-65	3,2	12,7	39,5	54,2	8,2	30,1	11,5	1,0	1,8	44,4	0,79
	B ₂ 65-83	2,1	15,9	20,6	41,5	8,2	24,6	6,9	0,8	1,2	33,5	0,40
	B ₃ C 83-105	1,2	26,5	25,2	36,7	8,4	25,3	6,1	0,9	1,3	33,6	0,43
ոռոզվող 22	A _վ 0-28	5,7	0,4	47,9	73,5	7,5	33,6	19,5	1,4	2,3	56,8	1,30
	A 28-49	5,1	3,2	43,0	71,0	7,6	33,5	18,8	1,0	2,5	55,8	1,39
	B ₁ 49-76	3,7	7,8	40,6	59,8	8,1	29,1	18,5	1,0	2,6	51,2	1,33
	B ₂ 76-87	2,9	11,9	30,6	53,5	8,1	26,6	14,1	0,7	2,2	43,6	0,95
	B ₃ 87-108	1,6	25,8	25,7	45,7	8,4	23,8	14,8	0,8	2,2	41,6	0,91

Այս դեպքում տեղի է ունենում սովորական սևահողերի մեխանիկական կազմի փոփոխություն (ծանր կավավազայինը դառնում է թեթև կավավազային), ինչը անդրադառնում է նաև ֆերմենտների ակտիվության վրա: Մշակովի ոռոգվող հողերում ֆերմենտների ակտիվությունը ըստ հողի կտրվածքի խորության օրինաչափորեն նվազում է:

Աղյուսակ 2. Կուլտուրականացման ազդեցությունը լեռնային սովորական սևահողերի կենսաբանական ակտիվության վրա

Հողի տիպը և կտրվածքի համարը	Հորիզոնը և խորությունը, սմ	Ինվերտազա, մգ գլյուկոզ	Ֆոսֆատազա, մգ P	Ուրեազա, մգ NH ₃	Կատալազա, սմ ³ O ₂
Սովորական սևահող, խոպան 18	A ₀ 0-12	41,8	11,8	6,1	13,6
	B ₁ 12-27	21,3	7,9	4,2	9,1
	B ₂ 27-46	12,6	7,6	2,5	6,1
	B _c 46-71	9,1	4,9	1,1	3,9
	C 88-110	4,3	2,4	0,5	2,1
Հոռոգվող 20	A ₀ 0-24	25,6	8,3	3,5	15,2
	B ₁ 24-46	15,4	6,1	2,2	13,6
	B ₂ 46-70	7,1	3,0	1,5	8,1
	B _c 70-86	3,8	1,9	1,3	4,9
	C 86-108	1,1	0,9	0,5	3,2
ոռոգվող 22	A ₀ 0-26	36,8	15,5	4,8	16,7
	B ₁ 26-50	26,2	13,6	3,6	15,1
	B ₂ 50-76	13,9	10,1	2,7	10,1
	B _c 76-89	7,8	5,3	1,9	7,0
	C 89-110	6,5	4,1	1,0	5,1

Սովորական սևահողերը երկարատև մշակման և ոռոգման պայմաններում ձեռք են բերում ֆերմենտների գործունեության և իմոբիլիզացիայի համար օպտիմալ պայմաններ: Մշակովի ոռոգվող հողերում հայտնաբերվում է ֆերմենտների բարձր ակտիվություն, ընդ որում նրանք շատ ակտիվ են կտրվածքի ամբողջ խորությամբ: Դրան նպաստում են հողի կտրվածքում օրգանական միացությունների պարունակության բարձր մակարդակը, միջավայրի թույլ հիմնային ռեակցիան, կլանման մեծ տարողությունը, միջին կավավազային մեխանիկական կազմը, կարբոնատների համեմատաբար ցածր պարունակությունը: Մշակովի ոռոգվող հողերում փոխանակային կատիոնների մեջ դիտվում է մագնեզիումի և նատրիումի պարունակության կտրուկ բարձրացում: Սակայն փոխանակային կատիոնների մեջ նատրիումի քանակությունը 5%-ից չի գերազանցում: Այս դեպքում հողերը ունենում են բարձր կենսաբանական ակտիվություն:

Ոռոգվող հողերի ստորին հորիզոններում, խոպան և մշակվող հոռոգվող հողերի համեմատությամբ, ոռոգիչ ջրերի և մշակաբույսերի արմատային համակարգի ազդեցության տակ տեղի է ունենում օրգանական նյութերի զգալի կուտակում: Այս հորիզոնները, և հատկապես "C" հորիզոնը, դառնում են

կենսաբանորեն ավելի ակտիվ, որն էլ բացահայտվում է ֆերմենտների ակտիվության մակարդակով և շնչառության ուժգնությամբ: Վերջինս իր հերթին ցույց է տալիս հողագոյացման պրոցեսում մայրական ապարների ակտիվ ներգրավումը: Հայտնաբերված փաստը խոսում է այն մասին, որ մշակովի ոռոգվող հողերի ձևաբանական նկարագրության ժամանակ անհրաժեշտ է վերանայել "C" հորիզոնի անջատման հարցը:

Մշակովի ոռոգվող հողերի վերին հորիզոնները իրենց ֆերմենտային ակտիվությամբ մոտենում են խոպան հողերին, իսկ ստորին հորիզոնները մի քանի անգամ գերազանցում են նրանց, որի հետևանքով այս հողերը ունեն ավելի հզոր կենսաբանորեն ակտիվ շերտ:

Ստացված տվյալների մաթեմատիկական հաշվարկները ցույց են տվել, որ խոպան, մշակվող չոռոգվող և ոռոգվող սովորական սևահողերն ունեն ավելի բարձր և միատարր ֆերմենտային ակտիվություն (աղ.3):

Աղյուսակ 3. Լեռնային սովորական սևահողերի ֆերմենտային ակտիվության վիճակագրական ցուցանիշները

Ցուցանիշ	Խոպան			Մշակվող հողեր					
				Չոռոգվող			Ոռոգվող		
	M±m	V, %	P, %	M ±m	V, %	P, %	M±m	V, %	P, %
Ինվերտազա	38.7±0.86	7.0	2.21	21.71±0.69	10.0	3.17	31.79±0.64	6.4	2.01
Ֆոսֆատազա	13.96±0.90	20.4	6.44	8.66±0.50	18.4	5.77	15.10±0.75	15.7	4.96
Ուրեազա	5.04±0.09	5.9	1.78	2.57±0.12	14.7	4.66	3.97±0.17	13.9	4.28
Կատալազա	11.82±0.58	15.7	4.90	14.55±0.36	8.0	2.47	16.40±0.54	10.4	3.29

Ֆերմենտային ռեակցիաները միշտ ընթանում են ջրի միջավայրում, իսկ հիդրոլիտիկ ֆերմենտների մասնակցությամբ ընթացող ռեակցիաներում ջուրը անմիջականորեն մասնակցում է այդ ռեակցիաներում: Հետևաբար ոռոգվող հողերի բարձր ֆերմենտային ակտիվությունը իր հերթին ստեղծում է օպտիմալ խոնավ պայմաններ միկրոօրգանիզմների կենսագործունեության, բարձրակարգ բույսերի արմատային համակարգի և կենսաքիմիական պրոցեսների համար:

Ամփոփելով խոպան, մշակվող չոռոգվող և մշակվող ոռոգվող հողերի կենսաբանական ակտիվության ուսումնասիրման տվյալները, կարելի է եզրակացնել.

Ոռոգվող հողագործության շրջաններում մարդու տնտեսական գործունեությունը ազդու աղաղակաբար հանդիսանում է հզոր հողագոյացնող գործոն և փոխում է հողի էվոլյուցիայի ուղղությունը:

Ոռոգման ճանապարհով հողերի մշակումը և գյուղատնտեսական նպատակների համար յուրացումը առաջ է բերում հողի ֆիզիկական և ֆիզիկաքիմիական հատկությունների փոփոխություն, որոշակիորեն ազդում է կեսաքիմիական պրոցեսների ընթացքի և ուղղության վրա:

Հողերի մշակման և ոռոգման դեպքում ֆերմենտների ակտիվության մակարդակի փոփոխությունները արտացոլում են հողագոյացման պրոցեսների ընթացքը, հետևաբար այն կարելի է օգտագործել որպես հողի կուլտուրականացման աստիճանի ցուցանիշ:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Абрамян С.А., Галстян А.Ш. Докл. ВАСХНИЛ. 4, 6-18, 1987.
2. Галстян А.Ш. Ферментативная активность почв Армении. Ереван, Айастан. 274с, 1974.
3. Галстян А.Ш. Почвоведение, 2, 107-114, 1978.
4. Григорян К.В., Галстян А.Ш. Почвоведение. 8, 63-67, 1986.
5. Сб: Агрохимические методы исследования почв. М., Наука., 656 с., 1975.
5. Taafadar J.S. Pol. J. soil. 20, 2, 5-10, 1987.

Поступила 14.11.2004

Биол. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 615.9

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ОБОСНОВАНИЕ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ 1,2- ДИХЛОРБУТАДИЕНА-1,3 В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ

А.С. КАЗАРЯН^{***}, В.С. ВОСКАНЯН^{*}, Ф.Р. ПЕТРОСЯН^{**},
М.С. МНАЦАКАНЯН^{***}, В.С. МАДОЯН^{***}

^{*}Ереванский государственный экономический институт, 375025

^{**}ЗАО "Наирит-2"

^{***}Национальный институт здравоохранения МЗ РА

Установлено, что 1,2-дихлорбутadiен (1,2-ДХБД) сравнительно малотоксичное соединение. Он обладает политропным действием с преимущественным поражением центральной нервной системы, печени и почек, слабо кумулируется в организме. Рекомендована ПДК 1,2-ДХБД в воздухе рабочей зоны на уровне 1,0 мг/м³.

Հաստատվել է, որ 1,2-դիքլորբութադիենը (1,2-ԴԲԲԴ) համեմատաբար թույլ թունավոր միացություն է: Նա ունի պոլիտրոպ ազդեցություն, առավելագույնս ախտահարելով կենտրոնական նյարդային համակարգը, լյարդը և երիկամները, օժտված է թույլ կուտուրյալով հատկությամբ: Ստացարկվում է 1,2-ԴԲԲԴ-ի սահմանային թույլատրելի խտությունը աշխատանքային գոտու օդում 1,0 մգ/մ³-ի մակարդակին:

It has been established that 1,2-dichlorobutadiene (1,2-DCBD) is considered to be quite a weak poisonous combination. It has a polytropic effect, mostly by striking the central nervous system, the liver and the kidneys, having a weak cumulative effect. 1,2-DCBD's permissible concentration in the air of the working area is suggested to be on the level of 1,0 mg/m³.

Хлорзамещенные бутadiены - острая и подострая токсичность - предельно допустимая концентрация

1,2-дихлорбутadiен-1,3 (1,2-ДХБД) является побочным продуктом синтеза 2,3-дихлорбутadiена-1,3 (2,3-ДХБД), основного мономера для производства дихлорбутadiен-хлоропреновых сополимерных каучуков, обладающих высокими технико-эксплуатационными свойствами. Токсичность 1,2-ДХБД не изучена, не разработаны его гигиенические нормативы в объектах внешней среды.

1,2-ДХБД прозрачная, бесцветная жидкость со специфическим запахом, молекулярная масса 122,9, температура кипения — 65°, удельный вес — 1,199, насыщающая концентрация — 4,08 мг/м³, упругость паров — 134,8 мм рт.ст., растворимость в воде — 0,36 г/л, растворимость в органических растворителях хорошая.

В литературе имеются данные о токсических свойствах структурного аналога 1,2-ДХБД — 2,3 ДХБД, который, являясь высокотоксичным

соединением политропного характера действия [2], оказывает отрицательное влияние на репродуктивную функцию самцов и эмбриогенез. Предельно допустимые концентрации (ПДК) 2,3-ДХБД в воздухе рабочей зоны установлены на уровне $0,1 \text{ мг/м}^3$, ПДК_{сс} в атмосферном воздухе – $0,02 \text{ мг/м}^3$ [5].

Целью настоящей работы являлась разработка ПДК 1,2-ДХБД в воздухе рабочей зоны, при этом учитывалось наличие его паров в воздухе помещений производства 2,3-ДХБД, возможность контакта с ним большого числа работающих, а также предварительные данные о его токсичности.

Материал и методика. Токсичность 1,2-ДХБД изучали в однократных (ингаляция, введение в желудок и нанесение на неповрежденную кожу) и повторных опытах, проведенных на 194 белых нелинейных крысах, 82 белых мышах и 4 кроликах, согласно методическим указаниям [4]. Расчет среднесмертельных уровней 1,2-ДХБД проводили по методу Прозоровского [6]. Пороги однократного действия 1,2-ДХБД определяли на крысах по суммационно-пороговому показателю (СПП), потреблению кислорода, работоспособности и гонадотоксическому эффекту. Определение порогов раздражающего действия и ощущения запаха проводили на людях-добровольцах. Кумулятивные свойства 1,2-ДХБД в организме исследовали при 30-кратном введении его масляных растворов на уровнях 1/5, 1/10, 1/20 и 1/50 ЛД₅₀ [3]. Цифровые данные обрабатывали статистически и оценивали по критерию Стьюдента-Фишера [1]. По завершении острых и повторных опытов внутренние органы животных подвергали патоморфологическому исследованию.

Результаты и обсуждение. Клиника острого отравления 1,2-ДХБД независимо от способа интоксикации развивалась однотипно. В первые часы после затравки отмечались кровавые выделения изо рта, слезотечение, частое и поверхностное дыхание. В дальнейшем – редкое глубокое дыхание, шатающаяся походка, безразличие к корму, сгорбленность, взъерошенность шерсти. Смерть животных наступала в первые 3–4 дня. Масса оставшихся в живых животных отставала от массы контрольных.

Показатели острой токсичности 1,2-ДХБД приведены в таблице. Среднесмертельную концентрацию для крыс, а также среднесмертельное время действия 1,2-ДХБД определить не удалось, так как при ингаляции их насыщающей концентрацией или при нанесении его на кожу животных гибели не наблюдалось. Расчетная ЛД₅₀ 1,2-ДХБД при действии на кожу составляла 676 мг/кг.

При нанесении 1,2-ДХБД на неповрежденную кожу кроликов наблюдалась слабовыраженная местная реакция, проявляющаяся некоторым утолщением кожной складки в первую неделю после аппликации.

Для исследования действия 1,2-ДХБД на слизистые оболочки каплю вещества вносили в конъюнктивальный мешок глаза кролика. Через некоторое время отмечались слезотечение и гиперемия конъюнктивы. На 2–3-е сутки наблюдалось скудное гнойное выделение, прекращающееся к 5-м суткам. К 10-м суткам видимых изменений глаз кроликов не отмечалось.

При гистологическом исследовании органов животных, подвергнутых однократному воздействию 1,2-ДХБД на среднесмертельных уровнях, установлены достаточно выраженные структурные нарушения. В головном мозге отмечены перикапиллярный и перицеллюлярный отек, хроматолиз и сморщивание нейроцитов, кариоцитоллиз отдельных клеток Пуркинье в мозжечке.

В легких при ингаляционном воздействии — картина катаральной бронхопневмонии. В печени — кровоизлияние, атрофия печеночных балков, белковая и жировая дистрофия, некробиоз и некроз гепатоцитов в центроlobулярных участках. В почках — зернистая и вакуольная дистрофия нефроцитов проксимальных отделов извитых канальцев, сморщивание сосудистых петель клубочков вследствие серозного отека, а также вакуольная дистрофия их эндотелиоцитов. В тимусе — сокращение границ коркового слоя и уменьшение числа тимоцитов, что указывает на угнетение лимфоидной ткани.

Таблица. Токсикометрические показатели 1,2-ДХБД в острых опытах

Параметры токсичности		Показатели
ЛД ₅₀ , мг/кг	мыши	531±74
	крысы	407±104
ЛК ₅₀ , мг/м ³	мыши	4150±680
	крысы	нет гибели
ЛТ ₅₀		нет гибели
Порог острого действия (интегральный), мг/м ³		135
Порог острого гонадотоксического действия, мг/м ³		147
Порог по запаху (у человека), мг/м ³		90
Порог раздражающего действия, мг/м ³		160

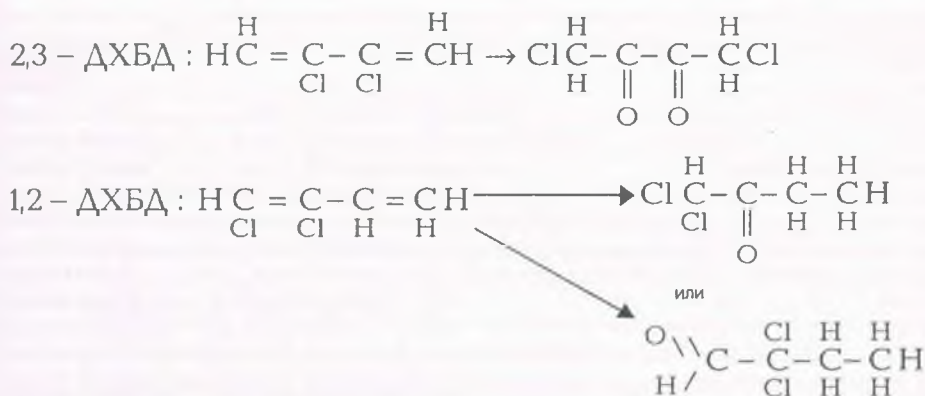
В опытах по изучению кумулятивных свойств 1,2-ДХБД гибель животных ни при одной из испытуемых доз не отмечалась, что не позволило рассчитать коэффициент кумуляции. Однако несмотря на это, у опытных животных наблюдались статистически достоверные изменения прироста массы, массового коэффициента печени, СПП, потребления кислорода, а также имели место выраженные гистоструктурные нарушения в головном мозге, печени, почках, слизистой оболочке желудка, которые в целом указывают на относительно выраженные кумулятивные свойства 1,2-ДХБД в организме.

Результаты исследования острой и подострой токсичности 1,2-ДХБД были заложены в основу научного обоснования его ПДК в воздухе рабочей зоны без проведения хронических экспериментов по аналогии с 2,3-ДХБД. ПДК 2,3-ДХБД разработана по полной токсикологической схеме с учетом отдаленных эффектов.

По основным физико-химическим показателям оба дихлорбутадиена достаточно схожи, однако по показателям острой и подострой токсичности 2,3-ДХБД явно превосходит 1,2-ДХБД. ЛД₅₀ 2,3-ДХБД для крыс 330 мг/кг, мышей — 150 мг/кг; ЛК₅₀ для крыс 2150 мг/м³, мышей — 1680 мг/м³. ЛТ₅₀ для крыс 300 мин, мышей — 98 мин.

Слабую токсичность 1,2-ДХБД по сравнению с 2,3-ДХБД можно объяснить их метаболизмом в организме. Известно, что хлорзамещенные бугадиены, как и многие хлорвиниловые производные, метаболизируются с образованием эпоксидов, которые затем путем внутримолекулярного перераспределения превращаются в альдегиды или кетоны [7, 8]. При этом атомы хлора, находящиеся у углеродов с двойной связью, мигрируют через

эту связь к другому атому углерода, у которого атомов хлора меньше, или они вовсе отсутствуют. При метаболизме 2,3-ДХБД оба атома хлора мигрируют к терминальным углеродам, образуя на обоих концах молекулы реакционноспособную хлорметильную группу. При метаболизме 1,2-ДХБД образуются или кетон с пассивной дихлорметильной группой или же альдегид с двумя пассивными атомами хлора в центре молекулы, которые уступают по активности двум хлорметильным группам 2,3-ДХБД.



На основании изложенного считаем целесообразным рекомендовать ПДК 1,2-ДХБД на уровне 1,0 мг/м³. Это неплохо согласуется с ПДК не только 2,3-ДХБД, но и с ПДК в воздухе рабочей зоны известных в литературе хлорзамещенных бутадиенов: 1-хлорбутадиена – 5,0 мг/м³; 2-хлорбутадиена – 2,0; 2,3-ДХБД – 0,1; 1,1,2-трихлорбутадиена – 3,0; 1,2,3-трихлорбутадиена – 0,1; 1,1,2,3-тетрахлорбутадиена – 0,5 мг/м³.

Таким образом, ПДК 1,2-ДХБД в воздухе рабочей зоны рекомендуется на уровне 1,0 мг/м³ с пометкой “кожа”, класс опасности – III.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бельский М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Л., 1963.
2. Гижларян М.С. Автореф. докт. дисс., Киев, 1985.
3. Каган Ю.С., Станкевич В.В. В кн.: Актуальные вопросы гигиены труда, промышленной токсикологии и профессиональной патологии в нефтяной и нефтехимической промышленности. Уфа, 48-50, 1968.
4. Методические указания к постановке исследований для обоснования санитарных стандартов вредных веществ в воздухе рабочей зоны. М., 1980.
5. ПДК в атмосферном воздухе населенных мест 2,3-дихлорбутадиена-1,3; 2,3,4-трихлорбутена-1 и моновинилацетилена. Утверждены МЗ РА 30.09.1997 г. Приказ № 580.
6. Прозоровский В.Б. Фармакология и токсикология. I, 115-120, 1962.
7. Bartisch H., Malaveille Ch., Barbin A. et al. Arch. Toxicol., 41, 4, 249-277, 1979.
8. Van Duuren B.Z., Benerjee S. Cancer Res., 36, 2419-2426, 1976.

Поступила 5.XII.2003

Биолог. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 612.017.1:612.112.9

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА И ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ НОВЫХ ПЕПТИДОВ ГИПОТАЛАМУСА

С.Г. ЧАИЛЯН

Институт биохимии им. Г.Х. Бунятыана ИАН РА, 375014, Ереван

A line of new peptides was isolated from hypothalamus of cattle and investigated. They were classified by biological activities and their structures by means of PTC-derivatives of amino acids method developed by us. The use of this method permits to determine amino acids and weight concentration of different amino acids in peptides. Sequences of amino acids were determined using method of Edman with future processing on HPLC. The work executed give a chance to discover biological active peptides and to determine direction of their biological functions.

ВЭЖХ - гипоталамус - фенилтиокарбомил (ФТК)-производные - аминокислотный состав

Гипоталамус представляет собой центр нейросекреторной деятельности организма. В последние годы из гипоталамуса крупного рогатого скота Галояном и соавторами был выделен ряд биологически активных соединений пептидной природы. Как видно, гипоталамус служит источником неизвестных пептидных гормонов и биорегуляторов. Выделение, идентификация и установление аминокислотной последовательности биологически активных соединений является актуальной проблемой в современной науке.

Развитие метода ВЭЖХ в последние годы позволяет успешно решать эту проблему. Главной задачей настоящей работы стало получение пептидной карты гипоталамуса крупного рогатого скота с последующей идентификацией пептидных соединений, благодаря оригинальному сочетанию методов ВЭЖХ и Эдмана [3] с некоторыми модификациями.

Материал и методика. Использовали гипоталамус крупного рогатого скота для получения вторичного порошка бычьего гипоталамуса (ВПБГ) [4], из которого выделяли биоактивные пептиды с помощью ВЭЖХ. Эксперимент проводили на жидкостном хроматографе LDC Analytical, со сканирующим детектором (190-360 нм), Spektromonitor 5000. Детекцию проводили при длине волны 210 нм. Скорость потока 1 мл/мин. Время исследования 60 мин. Элюцию проводили в градиентном режиме. Использовалась колонка DuPont (Zorbax 250x4.6 C₁₈). Элюент представлял смесь растворов А и В, где А-ацетонитрил 0.05М р-р ацетата аммония (рН 6.6), В – 0.01%-ный р-р ТФУ. Полученные пептиды в гомогенном виде были подвержены кислотному гидролизу 6N HCl.

Для получения ФТК-производных аминокислот гидролизат обрабатывали (NH₄)₂SO₄ (Sigma, США), после чего полученный раствор подвергали лиофилизации. Компонентами

буфера, применяемого в процессе получения ФТК-производных, являлись пиридин 99% (Sigma, США), триэтиламин 99% (Sigma, США). Фенилизотиоцианат 98% (Fluka, США) являлся необходимым реагентом на завершающем этапе получения ФТК-производных аминокислот, тестирование которых проводили на жидкостном хроматографе LDC Aplanalytical, с использованием насосов Biotronic BT8100, Spectromonitor 5000. Наиболее целесообразным явилось применение колонки Biosfer C18 (250мм x 4,6 мм). Ацетонитрил, 99,9% (Sigma, США), метанол (Sigma, США) употреблялись в качестве элюента. Детекцию проводили при длине волны 254 нм. Хроматограммы обрабатывали с применением программного обеспечения SM5000.

Аминокислотную последовательность определяли по методу Эдмана с шаговой деградацией и дальнейшей обработкой продуктов деградации на ВЭЖХ по разработанной нами методике.

Результаты и обсуждение. Нам удалось получить пептидную карту гипоталамуса крупного рогатого скота, состоящую из 25 пептидных соединений [1].

Выделив эти пептиды в гомогенном виде, мы подвергли их кислотному гидролизу и при помощи методики, разработанной в нашей лаборатории, определили их аминокислотный состав [2]. Далее мы попытались провести классифицирование пептидов согласно их аминокислотным весовым концентрациям, которые преобладают в данном соединении. Ярко выраженное преобладание тех или иных аминокислот мы обнаружили для девяти пептидов (рис.) Интересно, что в некоторых случаях по процентному содержанию

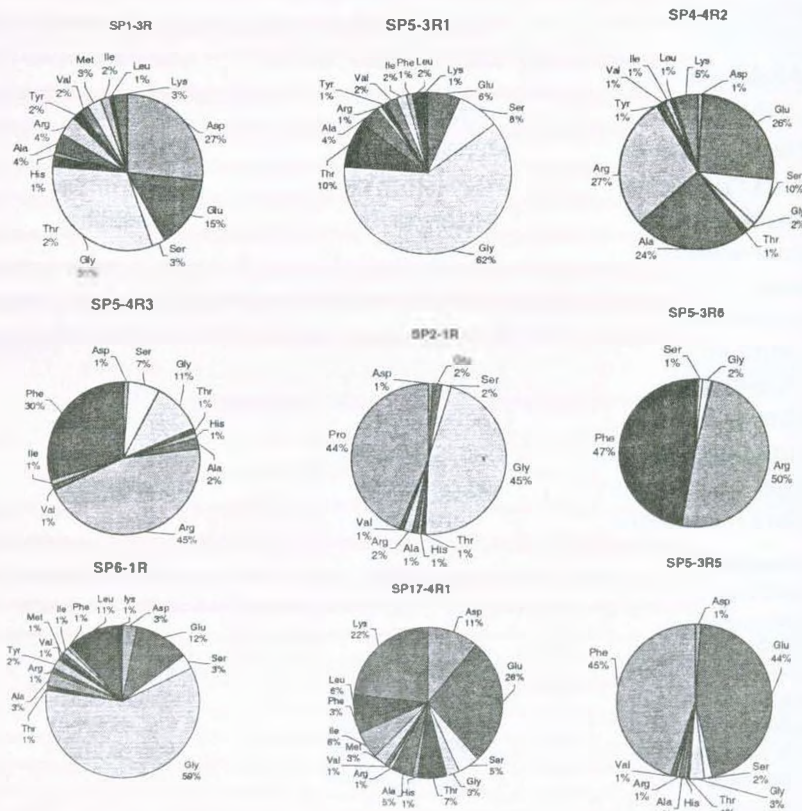


Рис. Аминокислотный состав выделенных пептидов в весовых концентрациях.

аминокислот нам удалось определить структуры пептидов. Так, в SP6-3R6 суммарный процент Arg и Phe составляет 90; в SP2-1R содержание Pro и Gli составляет соответственно 44% и 45%, т.е. SP2-1R и SP6-3R6, по-видимому, являются дипептидами. Также следует отметить, что при изучении одного из полученных пептидов и дальнейшего сиквенирования было выявлено, что этот пептид (SP13-7R2) является иммуномодулятором – тимозином B4. Биологические свойства и взаимосвязь между структурой и гормональной активностью пептидов, а также их аналогов достаточно подробно изучены и освещены в мировой литературе. Один и тот же пептид может иметь плеотропное влияние, в то же время несколько различных пептидов могут выполнять одну и ту же функцию. Последнее указывает на некое структурное сходство различных групп нейропептидов. Сходные биологические эффекты различных по своей химической структуре и происхождению нейропептидов обусловлены, очевидно, действием на идентичные или сходные рецепторные системы, что, по-видимому, определяется наличием в их молекулах сходных структурных элементов, имеющих одинаковые свойства, детерминирующую функцию. К этим свойствам относятся способность молекул к электростатическим взаимодействиям, их гидрофобность, гидрофильность, полярность, пространственная структура и т.д.

Например считают, что Phe как для НГГ, так и для нейропептидов является ключевым звеном при их взаимодействии с рецептором. При изучении выделенных нами пептидов видно, что 16 из 25 пептидов имеют остаток этой ароматической кислоты. Пептиды, не содержащие в составе своих молекул Gly и Glu, ингибируют КА-эргические, в частности ДОФА-эргические механизмы и приводят к выраженному дефициту воспроизведения навыка, как это наблюдается при исследовании ангиотензина или холицистокинина. Как видно из представленного нами рисунка, большинство пептидов содержат Gly и Glu. Аминокислоты с положительным зарядом Arg, Lys, His обеспечивают электростатическое взаимодействие и являются важнейшим элементом в определении структурно-функциональной корреляции в белках.

Имеются данные об иммуноадаьювантных свойствах тирозина. Сравнительно большой процент тирозина содержится в SP4-1R. В зависимости от локализации Pro и Gly наблюдается их антистрессорное влияние. В этой связи представляет интерес пептид SP2-1R. При сравнении первичных структур стимуляторов памяти и иммунного ответа все они содержат остатки аминокислот Arg и Lys. Большой процент содержания Arg и Lys может указывать на их иммуностимулирующее действие. Выполненная нами работа дает возможность выявления новых биологически активных пептидов и направленности их биологической функции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Галоян А.А., Чацлян С.Г. Нейрохимия, 10, 3-4, 208-211, 1991.
2. Галоян А.А., Чацлян С.Г., Даниелян К.Э., Карамян В.Т. Мед. наука Армении, 42, 3, 3-6, 2002.
3. Edman P. Europ. J. Biochem., 1, 80-91, 1967.
4. Galoyan A.A. DAN Arm. SSR, 34, 4, 155-159, 1962.

Поступила 5.IV.2004

Биолог. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 577.15:591.8

ПЕРОКСИСОМАЛЬНЫЕ ТРАНСАМИНАЗЫ *ASPERGILLUS NIGER* R-3

С.П. ОГАНЕСЯН, М.А. ДАВТЯН, А.Р. ПАПОЯН, Г.А. ГАБРИЕЛЯН

Ереванский государственный университет, 375049

For the first time in subcellular units of *Aspergillus niger* R-3, isolated by isopycnic centrifugation in gradient of 0.5M sucrose and 15% percoll, were found out L-alanine-glyoxylate, L-methionine-glyoxylate, L-serine-glyoxylate, L-valine-glyoxylate, L-leucine-glyoxylate, L-serine-piruvate and L-methionine-piruvate transaminases. The peroxisomal fractions separated from *A.niger* R-3 differed by a set of transaminases, mentioned above, and by their activities.

Трансаминазы - перколл

Известно, что важнейшие ферменты аминокислотного метаболизма локализованы как в митохондриях, так и в растворимой фракции цитозоля эукариотических клеток. Однако в большинстве случаев ферменты цитозоля связаны с мембранными структурами и другими надмолекулярными образованиями клетки [8-10]. В частности, в пероксисомах цитозоля различных объектов животного и растительного происхождения обнаружены ферменты, принимающие участие в разнообразных метаболических процессах, связанных с окислением различных субстратов, с пуриновым обменом, предотвращением токсического действия перекиси водорода, а также участвующие в глюконеогенезе, липолизисе и фотодыхании [2]. Пероксисомы — микротельца, обнаруженные в печени и почках млекопитающих, гепатоцитах, в зеленых листьях и жирозапасующих тканях растений, в дрожжах. Они содержат оксидазу мочевой кислоты, аминотрансферазы, лактат дегидрогеназы, α -глицерофосфатдегидрогеназу, оксидазу D-аминокислот и каталазу [1, 4, 8, 9].

Задачей настоящей работы явилось исследование процесса трансаминирования в субклеточных единицах *Aspergillus niger* R-3, а именно в пероксисомах.

Материал и методика. Объектом исследования служил плесневой гриб-продуцент лимонной кислоты *A. niger* R-3 отечественного производства [3]. Культуру выращивали на отходе сахарного производства — мелассе. Выращивание гриба и получение субклеточных единиц проводили по ранее описанной методике [5]. Из исходного экстракта нами были получены четыре фракции (I, II, III, IV). I фракция содержит в основном большие митохондрии, II — мелкие митохондрии и микротельца, III — пероксисомы и лизосомы, IV — легкие пероксисомы и рибосомы в цитозоле [5].

Активность фермента определяли инкубированием ферментных препаратов в

ультратермостате при 37° в пирофосфатном буфере, pH 8.3–8.5, содержащем 0.2М L-аминокислоты, 0.05М глиоксилата или пирувата и 0.4мМ периодоксала. Общий объем инкубационной смеси – 0.5мл. Реакцию останавливали 25%-ным ТХУ. Активность трансаминаз определяли по методу Бергмуера и Бернта [7], основанному на определении количества оксалоацетата или пирувата (мкМ) в исследуемом образце с использованием фенилгидразина. Активность пероксисомального фермента – оксидазы D-аминокислот определяли по методу Боудуина [6] и выражали в мкМ образовавшихся кетокислот в 1мл экстракта. Белок определяли по методу Лоури [11].

Результаты и обсуждения. На первом этапе мы исследовали активность трансаминаз и оксидаз D-аминокислот в субклеточных фракциях мицелиального гриба *A. niger* R-3, выделенных посредством ультрацентрифугирования. Данные табл. 1 свидетельствуют о наличии L-Ала-глиоксилат, L-Мет-глиоксилат, L-Сер-глиоксилат трансаминаз в надосадках гомогената *A. niger* R-3, где локализованы пероксисомы. Активность L-Ала-глиоксилат, L- Мет-глиоксилат, L-Сер-глиоксилат трансаминаз при 3300g составляли 20%, 25% и 10% соответственно от исходной активности. Активность вышеуказанных трансаминаз в цитозоле, полученном посредством дифференциального центрифугирования (100000g), составляла 30%, 10% и 10% соответственно. По степени трансаминазной активности в надосадочной фракции (25000g, 100000g) аминокислоты можно расположить в следующем убывающем порядке: Мет>Ала>Сер.

Таблица 1. Активность трансаминаз в надосадках гомогената *A. niger* R-3, полученных дифференциальным центрифугированием

	Исходная активность фермента, мкмоль пирувата на г/мицелия	Центрифугирование при					
		3300g		25000g		100000g	
		A*	%	A	%	A	%
Оксидаза D-Мет	6.0	3.60	60	3.48	58	4.80	80
L-Ала-глиоксилат трансаминаза	1.4	0.28	20	0.36	26	0.42	30
L-Мет-глиоксилат трансаминаза	1.2	0.30	25	0.36	30	0.48	40
L-Сер-глиоксилат трансаминаза	1.6	0.16	10	0.20	13	0.16	10

Условное обозначение, здесь и в таблице 2: *А – активность трансаминаз.

В следующей серии экспериментов нами была исследована активность трансаминаз в субклеточных фракциях, выделенных из экстракта методом изопикнического центрифугирования в градиенте 0.5М сахарозы и 15%-ного перколла (700g).

Данные табл. 2 свидетельствуют о наличии активности L-Ала-глиоксилат, L-Мет-глиоксилат, L-Сер-глиоксилат, L-Лей-глиоксилат, L-Мет-пируват, L-Сер-пируват, L-Сер-пируват-трансаминаз как в митохондриях (I, II), так и в пероксисомальной фракции (III) и цитозоле (IV).

В митохондриальной фракции активность L-метионин-глиоксилат и L-метионин-пируват аминотрансфераз (9%, 24%) уступает активности L-серин-глиоксилат и L-серин-пируват трансаминаз (16%, 40%). В III

пероксисомальной фракции активность L-метионин-глиоксилат трансминазы выше (41%) по сравнению с активностью L-серин-глиоксилат (18%), в то время как активность L-метионин-пируват трансминазы и трансминаз сравнительно ниже (16%), чем активность L-серин-пируват аминотрансферазы (37%).

Таблица 2. Трансминазная активность в субклеточных фракциях *A. niger* R-3

	Исходная активность фермента, мкмоль пирувата на г/мицелия	Ф р а к ц и и							
		I		II		III		IV	
		A	%	A	%	A	%	A	%
Белок, мг/мл	2.0	0.2		0.3		0.9		0.7	
Оксидаза D-аминокислот	6.0	0.2	3	0.9	15	1.9	31	26	43
L-Ала-глиоксилат трансминаза	1.39	0.1	7	0.3	21	0.4	28	0.5	35
L-Мет-глиоксилат трансминаза	1.18	0.1	9	0.2	18	0.5	41	0.6	50
L-Сер-глиоксилат трансминаза	1.6	0.27	16	1.3	16	0.3	18	0.3	18
L-Вал-глиоксилат трансминаза	14	0.6	38	0.25	16	0.46	33	0	0
L-Лей-глиоксилат трансминаза	3.0	0.8	26	0.8	26	0.6	20	0.6	20
L-Мет-пируват трансминаза	2.5	0.6	24	10	42	0.4	16	0.4	16
L-Сер-пируват трансминаза	4.0	1.6	40	1.6	40	1.5	37	1.8	45

Активность L-Лей-глиоксилат аминотрансферазы обнаружена как в I (26%), так и в III пероксисомальной (20%) и IV фракциях (20%). В IV фракции преобладает активность L-Мет-глиоксилат (50%) и L-Сер-пируват (45%) трансминаз.

Таким образом, во всех субклеточных фракциях *A. niger* R-3 обнаружена различная активность трансминаз, что свидетельствует о наличии различных популяций пероксисом *A. niger* R-3, различающихся как по набору трансминаз, так и по их активности.

Изучение распределения ферментативной активности в субцеллюлярных фракциях *A. niger* R-3 показывает, что трансминирование L-Ала, L-Сер, L-Мет и L-Лей с глиоксилатом осуществляется ферментом, который представлен в различных тканях животных как L-Сер-пируват трансминаза или L-Ала-глиоксилат трансминаза и локализован в пероксисомах [8].

В отличие от животных объектов, эти трансминазы у *A. niger* R-3 локализованы также в цитозоле. В отличие от активности L-Лей-глиоксилат трансминазы, L-Вал-глиоксилат трансминаза в основном содержится в

пероксисомах (II фракция), связанных с мелкими митохондриями и отсутствует в микропероксисомах, содержащихся в IV фракции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антоненков В.Д., Герасимов А.М. Цитология, 20, 6, 676-681, 1978.
2. Белицер Н.Б. Успехи совр. биол., 84, 2(5), 189-206, 1977.
3. Журавский Г.И., Новоселова М.И. Производство пищевых кислот, М., Пищепромиздт. 1-234, 1953.
4. Луста К.А., Троценко Ю.А. Биохимия, 61, 2, 236-253, 1996.
5. Оганесян С.П., Давтян М.А., Хандога Я. Биохимия, 55, 12, 2221-2225, 1990.
6. Baudhuin P., Beaufay H. et al. Biochem J. 92, 179-184, 1964.
7. Bergmeyer H.U., Berni E. Methoden der enzymatischen analyse, Verlag Chemie, 1, 785-791, 1974.
8. Chandoga J, Krizko J. Biologia (Bratislava), 37, 4, 383-392, 1982.
9. Chandoga J, Krizko J. Biologia (Bratislava), 38, 12, 1251-1257, 1983.
10. Donaldson R.P., Yobbert N.E. et al. Arch. Biochem. and Biophys., 152, 190-215, 1972.
11. Lowry H.O. et al. J. Biol. Chem., 251, 4408-4415, 1951.

Поступила 12.II.2004

Биолог. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 636:612.112

ВЛИЯНИЕ СЕЛЕНИТА НАТРИЯ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛЕЙКОЦИТОВ

Л. В. ВАРТАНЯН

Армянская сельскохозяйственная академия, 375009, Ереван

It has been found out the increase of absorbing properties of neutrophils under the sodium selenite (0.2 mg/kg of live weight), which demonstrate its positive influence on natural resistance.

селенит натрия - фагоцитоз

В настоящее время возникла необходимость в выявлении препаратов и разработке методов их применения с целью повышения естественной резистентности организма животных [1, 2, 5]. Из большого многообразия биологически активных веществ мы обратили внимание на селенит натрия, который в малых дозах обладает стимулирующим действием на организм [3]. Однако в литературе мы не встретили сведений о влиянии селенита натрия на функциональную активность нейтрофилов, которые, согласно утвердившимся представлениям, рассматриваются как важный элемент первой линии антимикробной защиты, занимают одну из самых активных позиций в системе гуморально-клеточной кооперации крови и соединительной ткани [4]. Это послужило основанием для проведения наших исследований.

Задачей настоящего исследования явилось изучение поглотительной способности нейтрофилов крови у кроликов.

Материал и методика. Для опыта было использовано 10 кроликов-гибридов (порода баран-великан) 30-дневного возраста со средней живой массой 550г. В рацион подопытных животных вводили селенит натрия в дозе 0.2мг/кг живой массы в течение 30 дней.

Фагоцитарную активность лейкоцитов, как показатель неспецифического иммунитета, изучали путем определения процента фагоцитоза, фагоцитарного числа и фагоцитарного индекса в отношении культуры *Staphylococcus aureus*. Препараты фиксировали смесью Никифорова и окрашивали общепринятыми в гистоморфологии методами. Подсчет количества нейтрофилов проводили в 50 полях зрения. Полученные данные обрабатывали методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Как видно из результатов эксперимента, представленных в таблице, у подопытных животных по сравнению с контрольными фагоцитарная активность выше на 2.0% ($p > 0.05$), фагоцитарное число — на 0.75 ($p < 0.05$), фагоцитарный индекс — на 0.76 ($p < 0.02$).

Таблица. Показатели фагоцитарной активности лейкоцитов крови кроликов под влиянием селенита натрия

Показатели	Группы, (M $\pm$ m)	
	Контроль	Опыт
Фагоцитарная активность, %	91.6 $\pm$ 1.5	93.6 $\pm$ 0.4
Фагоцитарное число	3.18 $\pm$ 0.15	3.93 $\pm$ 0.23
Фагоцитарный индекс	3.46 $\pm$ 0.1	4.22 $\pm$ 0.23

Таким образом, на основании проведенных экспериментов можно заключить, что под влиянием селенита натрия в дозе 0.2мг/кг живой массы происходит усиление поглотительной способности нейтрофилов, что свидетельствует о положительном влиянии селенита натрия на естественную резистентность организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Губкин С.М. Иммуитет с-х животных. Омск, 13, 1977.
2. Корнева Е.А. Иммунофизиология. С-Пб, 684, 1993.
4. Маянский А.Н., Галиуллин А.Н. Реактивность нейтрофила, Казань, с. 160, 1984.
5. Плященко С.И., Сидоров В.Т. Естественная резистентность организма животных. М., Колос, 5-20, 1979.
3. Мат-лы 3-й научн. конф. "Селен в биологии". Баку, 204, 1981.

Поступила 28.I.2004

Биолог. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 575.174.015.3:582.542.1:633.11

ПОЛИМОРФИЗМ ГЛИАДИНОВ У НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ПШЕНИЦ АРМЕНИИ

С.С. ЗАМИНЯН, Р.Э. АВАЛЯН

*Ереванский государственный университет, кафедра генетики и цитологии,
проблемная лаборатория цитогенетики, 375025*

The polymorphism of gliadins of wheat species and two aegilops from basic scheme of origin of wheats were studied. The species studied differ on the quantity in spectrum and their arrangement enough specific for such species. The received data confirm the theory of wheat by the scheme of Konarev.

Пшеницы Армении - глиадины - филогения

Вопросы эволюции пшениц всегда были предметом многочисленных исследований.

Известно, что культурные виды пшениц возникли в результате гибридизации предковых форм, сначала диплоидных, а затем — возникших из них тетраплоидных видов, давших впоследствии гексаплоидные пшеницы.

Однако понимание общей схемы путей эволюции пшениц затруднено из-за имеющейся подчас противоречивой информации при выяснении путей эволюции отдельных видов. Это связано прежде всего с тем, что при рассмотрении конкретных вопросов происхождения пшениц используются различные подходы, и проблема не рассматривается в комплексе.

Для выяснения вопросов происхождения отдельных видов важное значение имеет использование белков в качестве маркеров в филогенетическом и генетическом анализах растений. Основные методы разделения белковых фракций позволяют выявлять генетические варианты полиморфных белков, спектры которых являются характеристикой не только рода, вида, но и генома [2, 3, 4].

Устойчивыми, строго наследуемыми системами, четко отражающими геномный состав различных видов пшениц, являются электрофоретические спектры запасных белков — глиадинов. В ряде работ показана возможность использования их при рассмотрении вопросов происхождения пшениц и выяснении филогенетических связей между отдельными видами [6, 7].

Существующие схемы филогении пшениц (Конарева и Джонсона) [5], составленные на основании изучения полиморфизма глиадинов отдельных представителей пшениц и эгилопсов, носителей соответствующих геномов, расходятся в вопросах об основных носителях геномов А и В.

Так, по мнению Джонсона, диплоидные виды *Triticum boeoticum* и

Triticum urartu (носители геномов А и В соответственно) были исходными для образования пшениц ряда *Timopheevi* и ряда *Emmer*.

Согласно схеме Конарева, *T. urartu* не участвовала в формировании ряда *Timopheevi*, а *T. boeoticum* – ряда *Emmer*. Геном *T. urartu* отличается от геномов однозернянок – *T. boeoticum* и *T. monoccum*, хотя имеет сходные с ними антигены. По схеме *T. urartu* имеет символ A^u , а геном обоих однозернянок – A^b . По мнению Конарева, геном A^u входит в состав генома мягкой и твердой пшениц, в то время как геном A^b находится в геноме пшениц ряда *Timopheevi*.

Существует мнение, что наиболее достоверные результаты могут быть получены при сравнении аллельных вариантов генов, контролирующих синтез глиадинов, а не самих спектров глиадинов [1].

Настоящая работа посвящена сравнительному изучению полиморфизма глиадинов у некоторых представителей эндемичных видов пшениц Армении, входящих в основные схемы их происхождения.

Материал и методика. Использованы зерновки восьми видов пшениц (пшениц и эгилопов), произрастающих на территории Армении.

Из диплоидных представителей пшениц ($2n=14$) – дикорастущие виды дикая однозернянка *Triticum boeoticum* Boiss. и *T. urartu* Thum ex Gandil.; из культурных пленчатых пшениц – *T. monoccum* L.

Из тетраплоидных видов ($2n=28$) – дикая закавказская двузернянка *T. araraticum* Jakubz. и культурная двузернянка полба *T. dicoccum* Schuebl.

Из гексаплоидных видов пшениц ($2n=42$) – мягкая пшеница *T. aestivum* L.

Из представителей рода *Aegilops* – тетраплоидные виды ($2n=28$) – *Aegilops cylindrica* Host. и *Ae. tauschii* Cosson.

Электрофоретическое разделение глиадина проводили по общепринятой методике в вертикальных пластинах 8%-ного ПААГ с некоторыми модификациями. Анализировали по 20 зерновок каждого вида. Глиадин экстрагировали из одной зерновки каждого образца 70%-ным этанолом при температуре 40° в течение 30 мин (на каждую зерновку – по 0,2 мл этанола).

После электрофореза гели фиксировали 10%-ным ТХУ, окрашивали кумасси. Делали микрофотографии и рисунки с микрофотографий.

Результаты и обсуждение. Анализ электрофоретических образцов изучаемых видов пшениц выявил индивидуальный характер структуры спектра для каждого вида (рис.). Видовые различия спектра проявлялись в специфической композиции компонентов: их числе, ширине, показаниях электрофоретической подвижности (ОЭП).

Спектр глиадиновых белков представлен рядом полиморфных зон, обозначенных как – α , β , γ , ω (ω – малоподвижная зона спектра, β и γ – среднеподвижная и α – быстроподвижная).

При изучении образцов в спектре диплоидного дикорастущего вида *T. boeoticum* было выявлено наличие 10 электрофоретических (эф) компонентов, в то время как у другого диплоидного дикорастущего вида *T. urartu* обнаружено 17. Электрофоретический спектр культурной однозернянки *T. monoccum* представлен 15 компонентами.

Сопоставление эф спектра *T. boeoticum* и *T. monoccum* показало наличие пяти сходных компонентов разной интенсивности, в основном расположенных в зонах спектра ω , β , γ .

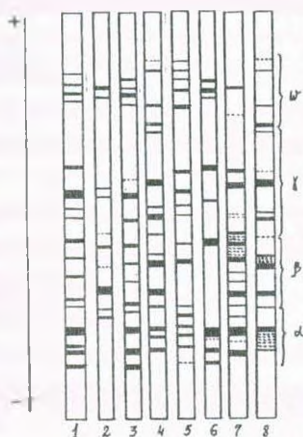


Рис. Электрофоретические спектры глиадина эндемичных видов пшениц и эгиллопов.

1. *Triticum urartu* Thum. Ex Gandil (2N=14), 2. *T. boeoticum* Boiss. (2N=14), 3. *T. monococcum* L. (2N=14), 4. *T. araraticum* Jakubz (2N=28), 5. *T. dicoccum* Schuebl (2N=28), 6. *T. aestivum* L. (2N=42), 7. *Aegilops cylindrica* Host. (2N=28), 8. *A. tauschii* Cosson. (2N=14).

Сравнение компонентного состава видов *T. boeoticum* и *T. urartu* выявило шесть сходных компонентов спектра, находящихся, также как и у предыдущих видов, в зонах ω , γ и β . При сопоставлении спектров у видов *T. monococcum* и *T. urartu* наблюдалась интересная особенность: в изучаемых образцах проявлялась почти идентичная картина спектра в зонах - α , β и ω . Незначительные различия были выявлены в γ -зоне спектра: у вида *T. urartu* наблюдалось два лишних компонента и некоторые различия в интенсивности компонентов. Можно сказать, что диплоидные виды обладают одинаковым уровнем полиморфизма по эф спектру глиадина.

Изучение электрофоретических образцов тетраплоидных видов пшениц показало наличие 16 компонентов у вида *T. araraticum* и 17 - у *T. dicoccum*. При сопоставлении тетраплоидных видов обнаружено 10 сходных компонентов, затрагивающих все зоны спектра.

Сравнительное изучение спектров диплоидных и тетраплоидных пшениц выявило значительное соответствие компонентного состава глиадинов в спектрах видов *T. urartu* и *T. dicoccum*. Количество сходных компонентов у этих видов составило 14 и затрагивало почти все зоны спектра.

Электрофоретический спектр гексаплоидной мягкой пшеницы *T. aestivum* представлен 10 компонентами и имеет равномерно расположенные фракции, а также, что характерно, наблюдается отсутствие компонентов в β -зоне спектра.

При сопоставлении спектров диплоидных и гексаплоидных видов в спектре диплоидов обнаружены почти все компоненты, входящие в состав эф блоков мягкой пшеницы. Особенно сильное сходство наблюдалось в спектре *T. monococcum* - наличие семи сходных компонентов по всем зонам.

Сравнение эф спектров тетраплоидных пшениц и гексаплоидного вида показало наличие семи сходных компонентов в спектре видов *T. dicoccum* и *T. aestivum*. Можно сказать, что в спектре *T. dicoccum* присутствуют почти все компоненты глиадиновой фракции мягкой пшеницы. Другой тетраплоидный вид - *T. araraticum* имел четыре сходных компонента со спектром мягкой пшеницы, находящихся в основном в срединной γ -зоне спектра.

Анализ компонентного состава глиадинов представителей рода *Aegilops* - *Ae. cylindrica* и *Ae. tauschii* выявил неоднородный характер эф спектра и наличие у них 19 и 18 компонентов соответственно.

При сравнительном сопоставлении эф спектров изучаемых образцов эгиллопов обнаружено наличие восьми сходных компонентов, расположенных

в основном в α -, β - и γ -зонах спектра. Характерным является то, что спектр глиадинов эгилопсов имеет более насыщенные компоненты по сравнению со спектрами исследуемых видов пшениц.

На основании проведенных нами исследований можно сделать некоторые предположения относительно участия изученных видов пшениц в основных схемах происхождения гексаплоидных пшениц по данным компонентного состава глиадинов.

Сравнительное изучение компонентного состава рассмотренных видов выявило почти идентичную картину эф спектра у диплоидных видов *T. monosocum* и *T. urartu*, что может свидетельствовать об общности происхождения и родстве их геномов на уровне глиадиновых белков.

По сходству белковых фракций, бесспорно, нельзя исключить участие диплоидных видов в формировании гексаплоидной мягкой пшеницы и двух эволюционных рядов - *Timopheevi* и *Emmer*. Эти данные согласуются с известной теорией происхождения пшениц по схеме Конарева. Сходство эф спектров видов *T. urartu* и *T. dicocum* также подтверждает данные об участии диплоида *T. urartu* в происхождении пшениц эволюционного ряда *Emmer*.

Следует также отметить, что почти полное сходство компонентного состава глиадинов видов *T. dicocum* и *T. aestivum* свидетельствует об участии тетраплоида *T. dicocum* в происхождении гексаплоидной пшеницы.

Таким образом, учитывая тот факт, что более достоверные результаты могут быть получены при сравнении не самих эф спектров, а аллельных вариантов генов, контролирующих синтез глиадинов, мы попытались выявить степень родства эндемичных пшениц различной плоидности по данным полиморфизма глиадинов.

Полученные нами результаты представляют интерес в плане изучения вклада эндемичных пшениц Армении в основные схемы их происхождения на основе особенностей комплекса глиадиновых белков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабоев С.К., Филатенко А.А., Якобашвили З.А., Метакровский Е.В. Генетика, 26, 12, 2166-2176, 1990.
2. Конарев В.Г. Белки растений как генетические маркеры. М., Колос, 320с., 1983.
3. Созинов А.А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции. М., Наука, 270с., 1985.
4. Созинов А.А., Попереля Ф.А. В кн. Растительные белки и их биосинтез. М., Наука, 65-77, 1975.
5. Johnson B.L. J. Genet. and Cytol., 1, 17-21, 1975.
6. Kasarda D.D., Dernardin J.E., Nimmo O.O. In: Adv. Cereal Science and Technology, 227, 1976.
7. Mac Key J. Proc. II Internal. Wheat Genet. Sympos., Lund, 2, p238, 1966.

Поступила 25.VII.2001

Биолог. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 636. 92:611

ВЛИЯНИЕ СЕЛЕНИТА НАТРИЯ НА РОСТ, МАССУ ТУШЕК, ШКУРОК И ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ КРОЛИКОВ

Л.В. ВАРТАНЯН, Е.Е. ТЕРТЕРЯН

Армянская сельскохозяйственная академия, 375009, Ереван

Sodium selenite in concentration fed for rabbits in dose 0,2 mg/kg of live mass has stimulating influence on their growth and mass of carcass, skins and internal organs.

Кролики - селен - стимуляция роста

Кролиководство — одна из отраслей животноводства, занимающаяся разведением наиболее скороспелых животных и производящая мясо и другую продукцию при небольших затратах кормов, труда и средств.

Как диетический продукт мясо кроликов имеет большое значение в питании населения. По сравнению с говядиной, бараниной и свининой в нем содержится больше легкоусвояемых полноценных белков и меньше холестерина. [2].

Меховые изделия из кроличьих полуфабрикатов изящны и обладают низкой теплопроводностью, при этом сырье легко поддается технологическим процессам выделки, крашения и имитации дорогостоящих мехов.

В литературе имеются данные, что введение в рацион цыплят и кур селенита натрия стимулирует рост цыплят и яйценоскость кур. [1]. Селенит натрия оказывает стимулирующее действие и на рост, развитие баранчиков, а также их шерстную продуктивность. [3].

Мы задались целью изучить влияние селенита натрия на массу мяса и шкурок кроликов.

Материал и методика. В опытах использовали 10 кроликов-аналогов (гибриды пород баран-великан) 1-месячного возраста, со средней живой массой 560г. Они были разделены на две группы: 1 — контрольная, 2 — подопытная, в рацион которой вводился селенит натрия из расчета 0.2мг/кг живой массы.

По окончании опытного периода, длившегося 30 дней, кролики обеих групп были взвешены, после чего забиты, обескровлены, и далее изучались массы их тушек, шкурок и внутренних органов: печени, селезенки, сердца, почек, легких, желудочно-кишечного тракта. Полученные результаты статистически обработаны.

Результаты и обсуждение. Выявлено, что живая масса кроликов подопытной группы превосходит таковую контрольной группы в среднем на 90г ($p=0.05$), что составляет 10%, масса тушек превалирует в среднем на 50г ($p < 0.05$), шкурок — на 19.09г ($p < 0.002$), печени — на 19.3г ($p < 0.01$), селезенки — на 0.58г ($p < 0.001$), сердца — на 1.04г ($p < 0.01$), почек — на 1.9г

($p < 0.002$), легких - на 2.7г ($p < 0.001$), желудочно-кишечного тракта - на 76.97г ($p < 0.002$) (табл.).

Таблица. Сравнительные показатели массы тушек, шкурок и внутренних органов кроликов под влиянием селенита натрия

Показатели, г.	Группы	
	контроль ($M \pm m$)	опыт ($M \pm m$)
Живая масса	864 ± 32.3	954 ± 30.2
Тушка	360 ± 12.5	410 ± 14.5
Шкурка	71.61 ± 2.8	90.7 ± 3.0
Печень	34.8 ± 1.34	54.1 ± 1.8
Селезенка	0.46 ± 0.02	1.04 ± 0.1
Сердце	2.48 ± 0.09	3.52 ± 0.27
Почки	7.4 ± 0.3	9.3 ± 0.3
Легкие	7.52 ± 0.27	10.22 ± 0.34
Желудочно-кишечный тракт	287.03 ± 10.4	364.0 ± 11.9

Таким образом, введение в рацион кроликов селенита натрия в дозе 0.2мг/кг живой массы вызывает стимуляцию роста, а также увеличение массы их тушек, шкурок и внутренних органов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Борисова Л.М., Кожемяко Н.В. Мат-лы I респ. конф. по проблеме "Микроэлементы в медицине и животноводстве", Баку, с.107, 1969.
2. Сысоев В.С., Александров В.Н. Кн.: Кролиководство, М., с.270, 1985.
3. Титов Г.И., Ломовцева Н.А. Мат-лы первой республиканской конф. по проблеме "Микроэлементы в медицине и животноводстве", Баку, с.163, 1969.

Поступила 28.1.2004

Биолог. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 632.95.025:028

ВЛИЯНИЕ ИНСЕКТИЦИДА АКТАРЫ НА НЕКОТОРЫЕ СТОРОНЫ АЗОТНОГО ОБМЕНА АБРИКОСА И ЯБЛОНИ

К.В. АВЕТИСЯН, В.С. МИРЗОЯН

Научный центр земледелия и защиты растений, Эчмиадзин

Актара - разные формы азота - абрикос - яблоня - детоксикация

В задачу наших исследований входило изучение влияния азота, входящего в состав действующего вещества инсектицида актары, на некоторые звенья азотного обмена яблоневого и абрикосового деревьев.

Определение количественных изменений азотных форм велось параллельно с детоксикацией актары в динамике.

Материал и методика. Опыты проводили в с. Мерцаван Армавирского района. Объектом исследования служили листья абрикоса, яблони и плоды яблони. По три абрикосовых и яблоневых деревьев опрыскивали 0,025%-ным раствором инсектицида актары.

Пробы анализа брали на 1, 4, 8, 12 и 15 дни после обработки деревьев. Определение общего, белкового и небелкового азота проводили колориметрически с реактивом Несслера.

Остаточные количества актары определяли методом тонкослойной хроматографии, разработанной Аветисян [1].

Результаты и обсуждение. Действующее вещество актары $C_8H_{10}ClN_5O_3$ содержит 5 атомов азота и, поскольку азот слабо связан в молекуле, он может быстро отделиться и включиться в азотный обмен растения.

Согласно литературным данным [3], азот транспортируется по растению в основном в форме органических соединений. Органические формы азота у деревьев образуются в местах восстановления нитратов, в основном в листьях и корнях. Этим объясняется выбор объекта исследований - листьев яблони и абрикоса.

Оказалось, что исследуемые деревья разнятся по скорости проникновения актары.

В опрысканных листьях абрикоса с 1 (день обработки) по 15 дни отмечается большее накопление всех форм азота по сравнению с контролем (рис.1), что, видимо, объясняется проявлением защитной функции. После полной детоксикации препарата содержание всех форм азота выравнивается с контролем.

В опытных листьях яблони (рис.2) в 1 день отмечается уменьшение общего азота по сравнению с контролем. Начиная с 4-го дня содержание

общего азота увеличивается за счет синтеза белкового азота из небелковой формы. Изменения содержания белковой и небелковой форм азота носят характер обратной зависимости. С 1-го по 12-й день количество небелкового азота уменьшается, а белкового увеличивается. На 15-й день в обработанных листьях содержание небелкового азота восстанавливается и даже превышает контроль, в чем проявляется стимулирующий эффект инсектицида. Таким образом, параллельно с полной детоксикацией препарата (табл.) происходит восстановление содержания указанных форм азота.

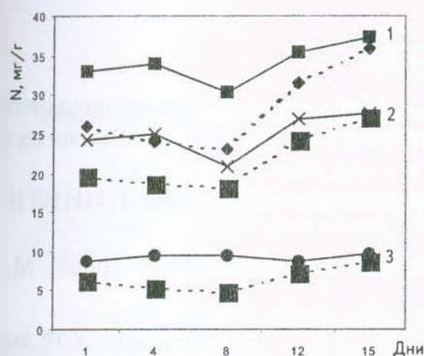


Рис. 1. Влияние актары на азотный обмен абрикоса. 1 - общий азот, 2 - белковый азот, 3 - небелковый азот. контроль, — опыт

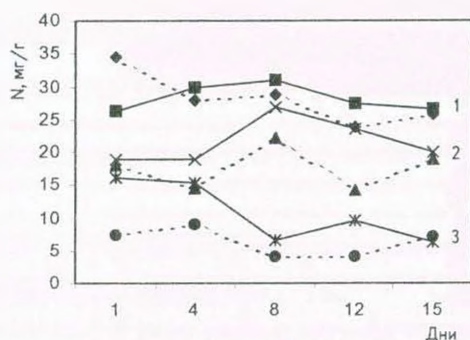


Рис. 2. Влияние актары на азотный обмен яблони. Обозначения те же (см. рис. 1)

С первых дней опыта отмечается увеличение синтеза белка, по-видимому, связанное с проявлением защитной функции организма.

В плодах яблони во время сбора урожая также определяли содержание разных форм азота. Выявлено, что, как и в листьях, в плодах по сравнению с контролем происходит увеличение общего, белкового и небелкового азота, что является следствием проявления защитной функции.

Изучали также динамику детоксикации актары в листьях яблони и абрикоса, а также в плодах яблони в период сбора урожая (табл.).

Таблица. Детоксикация актары в листьях абрикоса, яблони и в плодах яблони в период сбора урожая

Дни взятия проб	Остаточные количества актары, мг/кг		
	Листья		Плоды
	Абрикос	Яблоня	Яблоня
1	07	07	
4	0.6	0.6	
8	0.5	0.5	
15	следы	следы	
18	н/о	н/о	следы
21			н/о

Примечание: н/о - не обнаружено.

Согласно данным табл., в день обработки инсектицидом в листьях отмечалось значительное количество препарата, постепенно уменьшающееся в динамике, и ко времени сбора урожая остатки актары не обнаруживались, в плодах были выявлены вначале в виде следов, а к 21 дню не обнаруживались.

Таким образом, азот, входящий в состав действующего вещества инсектицида актары, с разной интенсивностью проникает в органы абрикоса и яблони, оказывая стимулирующее действие на некоторые стороны азотного обмена.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аветисян К.В., Мирзоян В.С., Аджемян Л.А. Материалы XII Международного симпозиума "Нетрадиционное растениеводство, Эниология. Экология и здоровье" 452-453, 2003.
2. Маркарян А.А., Оганесян А.А. Информационный листок Арм. НИИНТИ, N 28, 1979.
3. Мельников Н.Н., Волков А.И. Пестициды и окружающая среда, М., "Химия", 1977.

Поступила 09.VI.2004

Биолог. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 616.07

ՀԻՎԱՆԴՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՈԱՑԻՈՆԱԼ ԱԽՏՈՐՈՇՄԱՆ ՄԻ ՄՈԴԵԼԻ ԿԱՌՈՒՑՄԱՆ ՄԱՍԻՆ

Գ.Յ. ՇԱՀԱԶԻՉՅԱՆ

Հայաստանի պետական ճարտարագիտական համալսարան, 375009, ք. Երևան

The symptoms of given sphere of diseases are given in matrix rows and the name of diseases are given in matrix columns. Array cells can be those probabilities which characterize the symptoms of the given disease. The principle of maximal coincidence is the basis of diagnostics.

Հիվանդության ճիշտ ախտորոշումից է կախված հիվանդի բուժման արդյունավետությունը, որը հաճախ դառնում է նաև մարդու կյանքը փրկելու նախապայմանը: Սույն հոդվածում փորձ է արվում մոդելավորել ախտորոշման խնդիրը և առաջարկել օպտիմալ ախտորոշման մոտեցում: Հետազոտվող խնդրի համար կազմվում է մաթեմատիկական մոդել, որն իր մեջ ներառում է բոլոր հնարավոր ախտանիշների, ինչպես նաև բժշկական տվյալ ուղղությունից ծագող բոլոր հիվանդությունների ցանկը: Արդյունքում ստացվում է որոշակի աղյուսակային համակարգ, որը թվային արժեքների տեսքով վերածվում է մատրիցի և առաջարկվում է վերջինիս վերլուծության և հիմնավորված ախտորոշման մոտեցումը:

Հետազոտվող խնդրի այժմեականությունը և միևնույն ժամանակ բարդությունը կայանում են նրանում, որ հիվանդության ախտանիշների հետազոտման ժամանակ պետք է ուշադրություն դարձնել այն հանգամանքի վրա, որ շատ հաճախ միևնույն ախտանիշը կարող է հանդես գալ լիովին իրարից տարբեր հիվանդությունների դեպքում:

Հիվանդության կլինիկայի ուսումնասիրությունները ցույց են տալիս, որ գոյություն ունեն միևնույն հիվանդության ընթացքի մեծ քանակությամբ տարբերակներ, որն ընդհանրապես բացատրվում է ամեն մի անձի մոտ ժառանգականորեն ձևավորված ներքին առանձնահատկությունների առկայությամբ: Հիվանդությունները, ի հայտ գալով արտաքին գրգիռներից և ազդելով օրգանիզմի վրա, ստեղծում են նրանում որոշակի փոփոխություններ, դառնալով ներքին գործոններ՝ ամրանում և փոփոխվում են ժառանգաբար: Ստեղծվում է պատճառահետևանքային կապերի անվերջանալի շղթա, ձևավորելով մարդու մեջ ընդհանուր կենսաբանական, որոշակի սոցիալական, առանձին անհատական կապեր, որոնք ամրապնդվում են մարդու մեջ սերնդեսերունդ, բայց և փոփոխվում են ժամանակի մեջ և շրջապատող միջավայրի ազդեցությունից:

Հետազոտվող խնդիրը մեծապես նպաստում է այս հարցի լուծմանը, քանի որ հաճախ նույն ախտանիշների դեպքում տարբեր բժիշկներ կարող են տարբեր ախտորոշումներ տալ, որը բերում է անորոշության և սխալների:

Փորձենք բժշկական որևէ նեղ բնագավառի համար, կազմել համապատասխան մատրից, ներկայացնելով տվյալ բնագավառի հիվանդություններն ու նրանց ուղեկցող ամենահավանական ախտանիշները:

Մատրիցի սյունակները համապատասխանում են ընտրված բժշկական ուղղության համար դիտարկվող հիվանդությունների բազմությանը, իսկ տողերը լրացվում են հիվանդություններին առնչվող ախտանիշներով:

Ներկայացված (1) մատրիցի a_{ij} տարրերը ընդհանուր դեպքում կարող են լինել թվային մեծություններ, որոնք բնութագրում են i -րդ ախտանիշի և j -րդ հիվանդության կապի աստիճանը և որքան մեծ է այդ կապը, այնքան մեծ է a_{ij} թվային արժեքը: Որպես մասնավոր դեպք a_{ij} տարրերը կարող են լինել y_j -րդ հիվանդության դեպքում x_i ախտանիշի հանդես գալու հավանականությունը:

ՅԻՎԱՆՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

	Y_1	Y_2	Y_3		Y_n
X_1	a_{11}	a_{12}	a_{13}		a_{1n}
X_2	a_{21}	a_{22}	a_{23}		a_{2n}
X_3	a_{31}	a_{32}	a_{33}		a_{3n}
.....					
X_m	a_{m1}	a_{m2}	a_{m3}		a_{mn}

Ստացված մատրիցը պարունակում է ինֆորմացիա բոլոր ախտանիշների և հնարավոր հիվանդությունների քանակական կապի մասին, ընդ որում այդ ինֆորմացիան այնքան ավելի մեծ է, որքան ավելի ճիշտ են գնահատված a_{ij} տարրերի թվային արժեքները:

Ակնհայտ է, որ տվյալ մատրիցը լրացնելու ընթացքում կոնկրետ հիվանդի ախտորոշման համար ոչ բոլոր տողերի և սյունների միջև գոյություն կունենա որոշակի կապ: Սա նշանակում է, որ բնավոր յուրաքանչյուր հիվանդի ախտորոշման ընթացքում շատ ախտանիշներ կարող են բացառվել, որի արդյունքում դիտարկումից դուրս կմնան մատրիցի որոշակի տողեր, ինչպես նաև հիվանդությունների որոշակի սյուններ: Արդյունքում կազմված գլխավոր մեծ մատրիցը վերածվում է ավելի փոքր մատրիցի, որի արդյունքում զգալիորեն փոքրանում է ճիշտ ախտորոշման հետազոտման սպեկտրը:

Մշակված է ալգորիթմ, որի միջոցով վերլուծության են ենթարկվում մատրիցի տարրերը և արդյունքում կայացվում է վերջնական ախտորոշումը: Վերլուծության հիմքում ընկած է վերջնական ախտորոշման առավել հավանական լինելը: Մշակված ալգորիթմը զուգամետ է և ներկայումս գտնվում է փորձարկման փուլում:

Ծիշտ նույն մոտեցմամբ հնարավոր է նաև ձևակերպել լավագույն բուժման նշանակման խնդիրը, որի ընթացքում տվյալ հիվանդի համար հնարավոր է դառնում առավել արդյունավետ բուժման տարբերակի ընտրությունը, ինչպես տնտեսական, այնպես էլ բժշկական և ռիսկային գործոնների հաշվառումով:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Гиляревский С.А. Пропедевтика внутренних болезней. М., Медицина, 346с, 1965.
2. Мясников А.Л. Пропедевтика внутренних болезней. М., Медгиз, 628с, 1956.

Поступила 23.1.2004

Биолог. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 635.98

ՖԵՆՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ԴԻՏԱՐԿՈՒՄՆԵՐ

Օ.Ժ. ԵՓՐԵՄՅԱՆ

Երևանի պետական մանկավարժական համալսարան, 375010

At the Kanachut Secondary School in Ararat region have performed phenological observations on 24 various types of plants. According to observations we have created a phenospector, which gives an idea on the process of phenological phases due to weather change. Phenological observations give the students the opportunity to get acquainted not only with the change of the vegetation but also recognize every type vegetation and at the same time connect the results of the phenological observations with current agricultural activities.

Ֆենոլոգիական դիտարկումներ - վեգետացիոն սեզոն - ֆենոլոգիական տարապատկեր-սինքրոն ֆենոլոգիա

Ֆենոլոգիական դիտարկումները կատարվել են 24 տեսակի բույսերի վրա, որի հիման վրա կազմվել է ֆենոլոգիական տարապատկեր:

Այդ հնարավորություն է տալիս ոչ միայն ծանոթանալ բույսերի հետ կատարվող փոփոխություններին, այլ ճանաչել դրանք և միաժամանակ ֆենոլոգիական դիտարկումների արդյունքները համեմատել կատարվող գյուղատնտեսական աշխատանքների հետ:

Մեր նպատակն էր հետևել բույսերի զարգացմանը Արարատի մարզի պայմաններում և համեմատել մյուս տարիների ցուցանիշների հետ:

Նյութ և մեթոդ: Ֆենոլոգիական դիտարկումների համար ընդգրկել են 24 տեսակի բույսեր Արտաշատ քաղաքում և շրջակա գյուղերում: Դիտարկումները կատարել ենք զարման 3 օրը մեկ անգամ, իսկ հետագայում 5 օրը և շաբաթը մեկ անգամ: Դիտարկումները կատարվել են ըստ Հարությունյանի մշակած մեթոդիկայի:

Արդյունքներ և բննարկում: Ֆենոլոգիական դիտարկումները կատարվել են և ներկայումս էլ շարունակվում են Արարատի մարզի Կանաչուտի Գ. Եփրեմյանի անվան միջնակարգ դպրոցում, «Պատանի բնասերների» խմբակի անդամների օգնությամբ:

Երկրորդ տարվա դիտարկումների արդյունքում մենք եկել ենք այն համոզման, որ ֆենոլոգիական դիտարկումների մեթոդը բուսական տեսակները ճանաչելու և միմյանցից տարբերելու ամենաարդյունավետ ձևն է:

Որպես դիտարկումների օբյեկտ վերցրել ենք հետևյալ բույսերը.

1. Թխկի ամերիկյան - (*Acer negundo*)
2. Թեղի փետրատերևավոր - (*Ulmus pinnatoramosa*)
3. Գնդաձև թեղի - (*Ulmus litwinowii*)

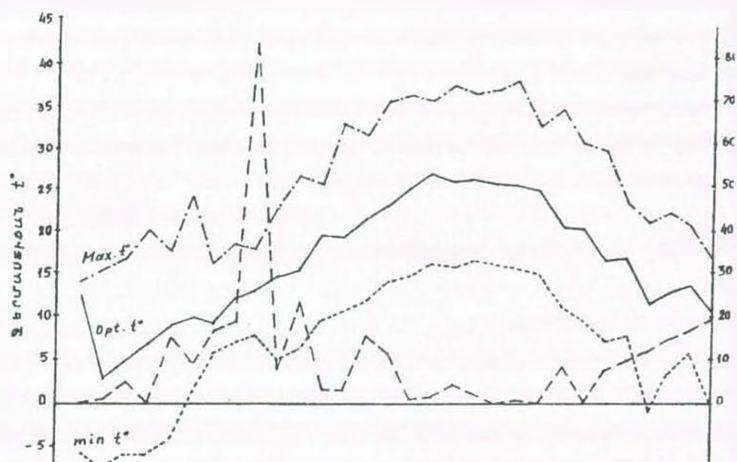
* Арутюнян Л.В. К методике фенологических наблюдений (сб. науч. труд. биолог. фак. АГПИ, N3, Ереван, 1979.

4. Ուռենի սպիտակ - (*Salix alba v. pendula*)
5. Նշենի սովորական - (*Amigdalus communis*)
6. Ծիրանենի սովորական - (*Armenica vulgaris*)
7. Ղեղծենի սովորական - (*Persica vulgaris*)
8. Բալենի մանրապտուղ - (*Cerasus microcarpa*)
9. Խնձորենի մշակովի - (*Malus domestica*)
10. Եղրևանի սովորական - (*Syringa vulgaris*)
11. Տանձենի սովորական - (*Pyrus communis*)
12. Բարդի կանադական - (*Populus deltoides*)
13. Ցախակեռաս սովորական - (*Lonicera xylosteum*)
14. Սոսի թխկատերև - (*Platanus acetifolia*)
15. Թթենի սպիտակ - (*Morus alba*)
16. Հացենի ամերիկյան - (*Fraxinus americana*)
17. Հացենի սովորական - (*Fraxinus excelsior*)
18. Ռոբինիա կեղծակացիա - (*Robinia pseudoacacia*)
19. Սպիտակ բարդի - (*Populus alba*)
20. Ալյանթ բարձրաբերձ - (*Ailanthus altissima*)
21. Նռենի սովորական - (*Punica granatum*)
22. Ունաթի սովորական - (*Ziziphus jujuba*)
23. Կուսախաղող հնգատերև - (*Parthenocissus quinquefolia*)
24. Գնդաձև կեղծակացիա - (*Robinia umblicaufera*)

Քանի որ դիտարկումների տարին՝ 2002թ. սեզոնը բավականին յուրահատուկ է եղել իր ընթացքով, մեր դիտարկումները հետաքրքրություն են ներկայացնում այն իմաստով, որ, չնայած վեգետացիոն սեզոնը սկսվել է փետրվարի կեսերից, այնուամենայնիվ, գարնան սկզբի խիստ ձգձգման հետևանքով մի շարք բույսերի ֆենոլոգիական ռիթմը հետ է ընկել:

Ֆենոլոգիական տարապատկերի (նկ.) այն հատվածի տեղեկությունները, որոնք վերաբերվում են օդերևութաբանական տվյալներին (օդի ջերմաստիճանի նվազագույնը, առավելագույնը և միջինը, ինչպես նաև տեղումների քանակությունը (մմ), մեզ բարյացակամորեն տրամադրել է Արտաշատի օդերևութաբանական կայանը:

Այսպես, օրինակ, եթե սովորական տարիներին ամերիկյան թխկու և մի շարք այլ թխկիների և բարդիների ծաղկումը դիտվում էր մարտի կեսերից, ապա 2002թ. ամերիկյան թխկու ծաղիկները սկսել են բացվել փետրվարի կեսերից մինչև մարտի կեսերը: Ի տարբերություն նախորդ տարիների՝ վեգետատիվ բողբոջների բացման սկիզբը արձանագրվել է ոչ թե մասսայական ծաղկման փուլում, այլ ծաղկման ավարտից անմիջապես հետո և տևել մինչև մարտի երրորդ տասնօրյակը, մի բան, որ խիստ անսովոր է այդ տեսակի համար: Բույսը լրիվ տերևակալել է մարտի վերջերին, որից հետո նրա բնականոն զարգացումը շարունակվել է: Թեղու 2 տեսակները (փետրատերև և լիտվինովի) սկսել են ծաղկել նորմալ ժամկետներում, մարտի սկզբներին (սովորաբար նրա ծաղկման սկիզբը համընկնում է ամերիկյան թխկու ծաղկման հետ): Սակայն փետրվարի երրորդ տասնօրյակի հանկարծահաս ցածր ջերմաստիճանները (ոչ բացասական) խանգարել են այդ բույսերի ծաղկմանը, և, բնականաբար, ծաղկումը հետաձգվել է: Բավականին հետաքրքիր է երկու կարևոր պտղատուների՝ նշենու և ծիրանենու զարգացման ռիթմերը:



Տ Ե Ս Ա Կ Ը	Ա Մ Ի Մ Յ Յ Ն Կ Ն Ե Ը (Դ Ե Կ Ա Ղ Ն Ե Ր)											
	II			III			IV			V		
	VI			VII			VIII			IX		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1. <i>Acer negundo</i>												
2. <i>Ulmus pinnatolamosa</i>												
3. <i>Ulmus litwinowii</i>												
4. <i>Salix alba v. pendula</i>												
5. <i>Amygdalus communis</i>												
6. <i>Armeniaca vulgaris</i>												
7. <i>Persica vulgaris</i>												
8. <i>Cerasus microcarpa</i>												
9. <i>Malus domestica</i>												
10. <i>Syringa vulgaris</i>												
11. <i>Pyrus communis</i>												
12. <i>Populus deltoides</i>												
13. <i>Lonicera xylosteum</i>												
14. <i>Platanus acerifolia</i>												
15. <i>Morus alba</i>												
16. <i>Fraxinus americana</i>												
17. <i>Fraxinus excelsior</i>												
18. <i>Robinia pseudoacacia</i>												
19. <i>Populus alba</i>												
20. <i>Ailanthus altissima</i>												
21. <i>Punica granatum</i>												
22. <i>Elaeagnus argentea</i>												
23. <i>Parthenocissus quinquefolia</i>												
24. <i>Robinia p. v. umbaculifera</i>												



բույսերի
առաջացում



տերևախաղձ
դրվում



ժողովում



դառնում
կոշտամբում



դառնում
հասնում



տերևախաղձ

Ինչպես հայտնի է, այդ բույսերը ծաղկում են շատ վաղ ժամկետներում և շատ հաճախ անբարենպաստ կլիմայական պայմանների պատճառով ամբողջովին զրկվում են բերքից: Այդպես եղավ և ընթացիկ տարում:

Նրանց ծաղկման ժամկետները (մարտի երկրորդ տասնօրյակը) համընկան ցածր ջերմաստիճանների հետ (-3° , -4°), որը ուղեկցվեց հորդ ու երկարատև անձրևներով և որի հետևանքով ծաղիկները ցրտահարվեցին, անձրևները խանգարեցին նաև ծաղիկների փոշոտվելուն, և այդ տարի նշենու և ծիրանենու բերքն աննշան էր: Այնուհետև վեգետացիոն շրջանը մինչև ապրիլի վերջերը ուղեկցվեց ճիշտ է դրական, բայց խիստ ցածր ջերմաստիճաններով և խիստ հորդառատ և երկարատև

անծրանցելի: Դրա հետևանքով բույսերի մասսայական ծաղկումը, որը տեղի էր ունենում սովորաբար մարտի ընթացքում և ավարտվում ապրիլի վերջերին, 2002թ. դիտվեց ապրիլի ընթացքում: Այնուհետև մի շարք բուսատեսակներ (թթենի սպիտակ, հացենի սովորական, ռոբինիա կեղծակացիա) սկսեցին ծաղկել մայիսի ընթացքում, և քանի որ մայիսը մույնպես աչքի ընկավ տեղումների առատությամբ, մայիսին բնորոշ ծաղկման առատությունը 2002թ. չարձանագրվեց:

Մայիսի վերջերին և հունիսի սկզբներից եղանակները կայունացան, տեղումները գրեթե դադարեցին և բույսերի աճն ու զարգացումը ընթացավ սովորական տարիների նման (համեմատությունները կատարվել են ըստ պրոֆ. Լ.Վ. Հարությունյանի կազմած ֆենոլոգիական տարապատկերների): Մեր կողմից ուսումնասիրված բույսերի թվում բացակայում էին ուշ և երկարատև ծաղկող տեսակները (սոֆորա ճապոնական, բադրջուկ սիրիական և այլն), որոնց բացակայությունը զգալիորեն աղքատացրել է ֆենոլոգիական տարապատկերների ամառա-աշնանային հատվածը:

Մեր առջև նպատակ է եղել դրված նաև, ուսումնասիրելով գյուղատնտեսական դաշտային աշխատանքների ժամկետները, դրանք համեմատել ծառափայլին բույսերի ֆենոլոգիական ժամկետների հետ՝ սինքրոն ֆենոլոգիական դիտարկումներ հետազայում կազմակերպելու համար: Սակայն ինչպես արդեն նշեցինք, տարին անբարենպաստ էր զարման գյուղատնտեսական աշխատանքների համար, որոնք խիստ ձգձգվեցին ցածր, բայց դրական ջերմաստիճանների և, հատկապես, հորդառատ և երկարատև անձրևների հետևանքով:

Մեր կատարած ուսումնասիրությունները ցույց են տալիս, որ ֆենոլոգիական ցուցանիշները կայուն մեծություններ չեն, դրանք անընդհատ փոփոխության են ենթարկվում: Կախված եղանակային և կլիմայական ազդակներից, դա չափազանց կարևոր է գյուղատնտեսական և կենսաբանական գիտությունների համար, քանի որ տարիների ընթացքում կատարված դիտարկումների հիման վրա կարելի է որոշակի պատկերացում կազմել բույսերի զարգացման սեզոնային ռիթմի մասին, որից կախված են բոլոր տեսակի դաշտային հետազոտությունները:

Ներկայումս անհնար է գտնել մի այնպիսի բնագավառ, որտեղ ֆենոլոգիական դիտարկումների արդյունքները չկիրառվեն: Սակայն, քանի որ Հայաստանում ֆենոլոգիական դիտարկումների ցանց գոյություն չունի, նպատակահարմար է դիտարկումները կազմակերպել Հայաստանի տարբեր բնակլիմայական պայմաններում գտնվող դպրոցներում:

Ֆենոլոգիական դիտարկումների արդյունքները կիրառում են հատկապես սինխրոն կենսաբանական երևույթների բացահայտման և դրանց օրինաչափությունների ճանաչման գործում: Անգնահատելի է դրանց դերը գյուղատնտեսության բնագավառում, քանի որ դրանց միջոցով են ճշտվում ցանքի, տնկումների, ֆիտոտեխնիկական միջոցառումների և բերքահավաքի ճիշտ ժամկետները: Դրանց միջոցով կարելի է ճիշտ որոշել նաև գյուղատնտեսական վնասատուների դեմ պայքարի ճշգրիտ ժամկետները:

Поступила 13.IX.2003

Биолог. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 619:615:285:595:636.92(084)

ՍԱՐԿՈՊՏՈՋԸ ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՃԱԳԱՐԱԲՈՒԾԱԿԱՆ ՏՆՏԵՍՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐՈՒՄ ԵՎ ՊԱՅՔԱՐԻ ՄԻՋՈՑԱՌՈՒՄՆԵՐԻ ՄՇԱԿՈՒՄԸ

Յ.Զ. ՆԱՐԱՇՅԱՆ, Ա.Վ. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ, Վ.Վ. ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ,
Լ.Հ. ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ, Օ.Վ. ՇԵՐԲԱԿՈՎ

Հայկական գյուղատնտեսական ակադեմիա, 375009, Երևան

It was revealed that the rabbits sarcoptic mange has wide distribution in Armenia and disturbs the development of rabbit-breeding. The 0.1% aquatic emulsion of neocidole was recommended for the treatment of the disease.

Саркоптоз - клещ - неоцидол - кролик

Հայաստանի գյուղատնտեսության ոլորտում սեփականաշնորհման հետևանքով խոշոր անասնապահական տնտեսություններին փոխարինեցին մանր և միջին անասնապահական տնտեսությունները, որոնցում հաճախակաբուժային միջոցառումների բացակայության հետևանքով մեծ տարածում ստացան, ընդգրկելով հանրապետության համարյա բոլոր տնտեսությունները, մի շարք ինվազիոն հիվանդություններ, ինչպիսիք են սարկոպտոզները:

Սարկոպտոզները անասնապահությանը պատճառում են մեծ տնտեսական վնաս, որը գոյանում է կենդանիների քաշաճի նվազեցման, ստացված հումքի անորակության և տարին բոլոր կատարվող հարկադիր բուժական ու կանխարգելիչ միջոցառումների հետևանքով:

Վերջին տասը տարիների ընթացքում, կենդանիների մոտ առավել տարածված սարկոպտոզոզային հիվանդություններից են ոչխարների պսորպտոզը, խոզերի և շների սարկոպտոզը, մորթատու զագանների օթոդեկտոզը և նոթոդերոզը, ճագարների պսորոպտոզը, սարկոպտոզը և նոթոդերոզը, թռչունների կենսիդոկոպտոզը և այլն: Եթե մյուս հիվանդությունները համեմատաբար «հին» են և յուրաքանչյուր տարի արձանագրվում են տարբեր անասնապահական տնտեսություններում, ապա ճագարների սարկոպտոզ և թռչունների կենսիդոկոպտոզ հիվանդությունները Հայաստանում պատկանում են «նոր» հիվանդությունների թվին:

Ճագարների սարկոպտոզը ներկայումս լայն տարածում ստացած ինվազիոն հիվանդություն է, որը հարուցում են *Sarcoptes cuniculi* ներմաշկային տզերը, որոնք հիմնականում տեղակայվում են կենդանիների գլխի և շեքային հատվածներում: Ախտահարված հատվածներում սկզբում ի հայտ են գալիս փոքր հանգույցներ, այնուհետև մաշկը բորբոքվելով թեփակալվում և կեղակալվում է, մազերը թափվում են ու առաջանում է ուժեղ քոր: Շեքային հատվածի մաշկը կարմրում և կեղակալվում է: Կենդանիները քորում կամ էլ ախտահարված

հատվածները քսում են այլ առարկաների, որի հետևանքով երկրորդային վարակի ներթափանցման պատճառով առաջանում են տարաբնույթ մաշկաբորբեր: Հիվանդ ճագարները նիհարում են, մատղաշների մոտ դանդաղում է աճն ու զարգացումը, իսկ մաշկի տարածուն ախտահարումների դեպքում առաջանում են զանգվածային անկումներ: Հայաստանի պայմաններում սարկոպտոզը արձանագրվում է տարվա բոլոր եղանակներին, առավել ցայտուն ամռանը և աշնանը, անկախ պահվածքի ձևից և հասակից:

Գրականությունում բացակայում են ճագարների սարկոպտոզի վերաբերյալ աշխատանքներ, մշակված չեն հիվանդության բուժման և կանխարգելման միջոցառումներ:

Վերոհիշյալը հիմք հանդիսացավ պարզելու նեոցիդոլ պատրաստուկի բուժական արդյունավետությունը ճագարների սարկոպտոզի ժամանակ:

Նյութ և մեթոդ: Օգտագործել ենք տզաբանությունում համընդհանուր ճանաչում գտած մեթոդները: Լաբորատոր փորձերը կատարել ենք առանձնացված *S. cuniculi* կենդանի տզերի և ճագարների վրա Հայկական գյուղատնտեսական ակադեմիայի մակաբուծաբանության սեկտորի կլինիկայում: Սարկոպտոզ հիվանդությունն ախտորոշել ենք կլինիկական նշանների և կենդանիներից վերցված քերուկների մանրադիտակային հետազոտության ճանապարհով:

Ճագարների սարկոպտոզի բուժման և կանխարգելման համար օգտագործել ենք նեոցիդոլի 60%-անոց էնուլսիայի խտանյութը: Քանի որ գրականության մեջ մենք չգտանք տվյալներ նեոցիդոլ պատրաստուկի *S. cuniculi* տզերի վրա ազդեցության մասին, ապա լաբորատոր հետազոտությունները տարել ենք ըստ Նեպոկլոնովի և Տալանովի [2, 3]: Սկզբում անջատված տզերի վրա պրոբիտ անալիզի մեթոդով [1] ուսումնասիրել ենք նեոցիդոլի միջին թունավոր քանակությունները (մահացու կոնցոնտրացիա (ՇԿ)): CK_{16} կազմել է $0,00008 \pm 0,0005\%$, CK_{50} -ը՝ $0,00127 \pm 0,0007\%$, CK_{84} -ը՝ $0,01132 \pm 0,0022\%$, իսկ CK_{100} -ը՝ $0,01 \pm 0\%$:

Առանձին տզերի անջատված ձվերի վրա ուսումնասիրել ենք նեոցիդոլի ձվասպան ազդեցությունը: Պարզվել է, որ նեոցիդոլը օժտված չէ ձվասպանիչ ազդեցությամբ:

Սկզբնական շրջանում նեոցիդոլի բուժիչ արդյունավետությունը ուսումնասիրել ենք սարկոպտոզով հիվանդ ճագարների վրա: Մշակել ենք կենդանիների զլխի հատվածը երկնվագ 7 օր ընդմիջումով, տեղային շփումների ձևով, յուրաքանչյուր կենդանու վրա ծախսելով 50մլ ջրային կախուկ: Ընդամենը մշակման են ենթարկվել սարկոպտոզով հիվանդ 30 զլուխ ճագարներ:

Արդյունքներ և քննարկում: Ինչպես ցույց տվեցին հետազոտությունները, սարկոպտոզի նկատմամբ նեոցիդոլի օպտիմալ կոնցենտրացիան համարվում է 0,1%-անոց ջրային էնուլսիան: Սարկոպտոզով ախտահարված ճագարների մոտ պատրաստուկի բուժիչ արդյունավետությունը ի հայտ է գալիս երկրորդ մշակումից 4-7 օր անց, այսինքն, երբ կենդանիների ախտահարված մաշկը հետզհետե ազատվում է կեղերից, և քերվածքների մեջ կենդանի տզեր չեն հայտնաբերվում: Բուժման 16-20 օրերին ախտահարված հատվածներից կեղերը ամբողջությամբ թափվում են, անհետանում են բորբոքային պրոցեսները, նկատվում է մազածածկի աճ և մաշկը ձեռք է բերում նորմալ տեսք:

Բացի նեոցիդոլով կենդանիներին բուժելուց, փորձ կատարվեց նաև հիվանդությունը կանխարգելելու նպատակով ճագարանոցների և վանդակների մեխանիկական մաքրումից հետո նեոցիդոլի 0,1%-անոց լուծույթի ցողարկման ճանապարհով կատարել դեզակարիզացիա:

Հետագա ամենամասյա հետազոտությունները ցույց տվեցին, որ մշակված կենդանիները ապահով են սարկոպտոզ հիվանդության նկատմամբ:

Այսպիսով, սարկոպտոզով հիվանդ ճագարներին նեոցիդոլի 0,1%-անոց կախուկով երկնվագ մշակելու դեպքում մաշկում տեղակայված սարկոպտոդային տզերը ոչնչանում են և մաշկը արագ առողջանում է: Նույն կոնցենտրացիայով

նեոցիդոլ ճագարանոցների և վանդակների մշակման դեպքում արտաքին միջավայրում գտնվող տզերը ոչնչանում են, հետևաբար կանխվում է կենդանիների հետագա վարակումը և հիվանդության տարածումը: Փորձարկումների արդյունքները թույլ են տալիս ճագարաբուծական տնտեսություններին ճագարների սարկոպտոզի բուժման և կանխարգելման նպատակով օգտագործել նեոցիդոլ պատրաստուկի 0,1%-անոց կախուկը:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Методические указания по первичному отбору новых акарицидов и сравнительному изучению их активности против саркоптозных клещей. М., 1982.
2. Непоклонов А.А., Таланов Г.А. Современные инсектициды, применяемые в животноводстве, М., 60с, 1968.
3. Непоклонов А.А. Химические средства защиты животных. М., 152с, 1972.

Ստացվել է 28.11.2003

Աղբարկներ • Обзоры • Reviews

Биол. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 617:616-073.1

**ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ
ИНФЕКЦИИ**

Л.Г. ХАЧАТРЯН

Центр медицинской генетики НАН РА, 375010, Ереван

Из заболеваний, передаваемых половым путем, заслуживает особого внимания папилломавирусная инфекция (ПВИ), возбудителем которой является вирус папилломы человека (ВПЧ). Это обстоятельство обусловлено высокой частотой встречаемости данной инфекции, сложностью для диагностики, особенно латентных форм, которые определяются только молекулярно-генетическими методами, и, что самое главное, вирус папилломы является этиологическим фактором в развитии рака шейки матки, который занимает второе место среди злокачественных новообразований у женщин. Следовательно, чрезвычайно важными являются ранняя диагностика онкогенных типов ВПЧ, а также лечение и профилактика ПВИ.

Սեռական ճանապարհով փոխանցվող հիվանդությունների շարքում առավել ուշադրության արժանի է պապիլոմավիրուսային վարակը (ՊՎՎ), որի հարուցիչն է մարդու պապիլոմավիրուսը (ՄՊՎ): Տվյալ հանգամանքը պայմանավորված է այս վիրուսի հանդիպման բարձր հաճախականությամբ, ախտորոշման բարդությամբ՝ առավելապես ծածկընթաց ծների, որոնք որոշվում են միայն մոլեկուլային գենետիկական մեթոդներով, և որ ամենից կարևորն է, ՄՊՎ-ն հանդիսանում է արգանդի վզիկի քաղցկեղի առաջացման պատճառարանական գործոն, որը կանանց մոտ չարորակ նորագոյացությունների շարքում զբաղեցնում է երկրորդ տեղը: Հետևապես, խիստ կարևորվում է ՄՊՎ-ի քաղցկեղածին տեսակների վաղ ախտորոշումը, ինչպես նաև ՊՎՎ-ի բուժումը և կանխարգելումը:

Papillomaviral infection (PVI) is the object of attention among sexually transmitted diseases stimulated by human papillomavirus (HPV). This circumstance is stipulated by the high frequency of infected individuals, difficulties in diagnosis of latent forms, particularly that could be detected only by molecular-genetic technologies. It's of great importance that HPV is etiologic factor firmly associated with cervical cancer. Carcinoma of the cervix is the second as the most common malignancy in both incidence and mortality in women. The most actual problem is the early molecular detection of oncogenic types of HPV with treatment and prevention of PVI.

Папилломавирусная инфекция - дисплазия - ПАП-мазок - полимеразная цепная реакция (ПЦР)

Из заболеваний, передаваемых половым путем, заслуживает особого внимания папилломавирусная инфекция (ПВИ), возбудителем которой является вирус папилломы человека (ВПЧ). Данное обстоятельство обусловлено следующими основными аспектами:

- высокая частота встречаемости этой инфекции: число инфицированных в мире за последнее десятилетие увеличилось более чем в 10 раз;
- ПВИ сложна для диагностики, в особенности ее латентные формы, при которых наличие вируса не проявляется клинически и не сопровождается

морфологическими изменениями тканей;

- роль ВПЧ в качестве этиологического фактора в развитии рака шейки матки (РШМ), который занимает второе место среди злокачественных новообразований у женщин [2].

Вирусы папилломы относятся к семейству паповавирусов (*Papovaviridae*), поражающих человека, крупный рогатый скот, птиц и способных инфицировать базальные клетки кожи и плоского эпителия. Папилломавирусы - одна из наиболее гетерогенных групп вирусов, критерием дифференцировки которой является степень генетического родства вирусов; по данным молекулярной гибридизации, она может колебаться от 10 до 85%. Вирус не имеет внешней оболочки, диаметр его частиц составляет 55 нм, а его капсид представляет собой 72 капсомера [14].

В настоящее время идентифицировано более 100 типов ВПЧ, из которых исследованы более 70. Как показано многими исследователями, различия между типами состоят в их способности инфицировать эпителий строго определенного вида, что приводит к характерным изменениям [6].

Из всех идентифицированных типов вирусов папилломы с поражением аногенитальной области ассоциированы 34. Онкогенный потенциал ВПЧ существенно варьирует. По способности инициировать диспластические изменения и рак папилломавирусы условно разделены на группы "высокого" и "низкого" риска возникновения опухолевой трансформации инфицированного эпителия. Типы ВПЧ 6, 11, 42, 43, 44 классифицируются как типы низкого риска развития рака, типы 16, 18, 31, 33, 35, 45, 48, 56 — как высокого [3].

Методика молекулярного клонирования с помощью эндонуклеаз позволила создать физическую карту вирусов, определить местоположение и последовательность кодированных вирусом белков.

Известные типы папилломавирусов сходны по своей генетической структуре. Генетический материал вируса представлен кольцевой двухцепочечной молекулой ДНК длиной около 8000 пар оснований, что соответствует массе около 5 млн. дальтон. Одна из нитей ДНК содержит 9 открытых рамок считывания (open reading frames, ORF), которые потенциально кодируют до 10 белков, а также регуляторный участок генома (upstream regulatory region, URR), который состоит из области вирусного промотора, локуса репликации, энхансерных элементов, активирующих последовательностей, необходимых для репликации вирусной ДНК, сайтов связывания для белка E2, клеточных факторов транскрипции, рецепторов прогестерона и глюкокортикоидных гормонов. URR не кодирующей последовательности ДНК располагается между концом области поздних генов и началом области ранних генов. ORF генома вируса разделены на ранний (early, E) и поздний (late, L) участки. Ранний фрагмент включает гены E1-E7, кодирующие белки, ответственные за различные функции в процессе репликации вируса и трансформации клеток. Гены E1 и E2 ответственны за репликацию вируса, а также участвуют в регуляции транскрипции вирусного генома. Продукт гена E1 отвечает за поддержание персистенции вирусного генома в эпизомальной форме. Ген E2 кодирует продукты, которые могут как трансактивировать, так и подавлять экспрессию ранних генов и энхансерных участков URR. Трансактивирующий фактор обнаружен при предраковых изменениях шейки матки, репрессирующий фактор *in vivo* не идентифицирован [7].

Ген E4 участвует в процессе созревания вирусных частиц, гены E5-E7

обладают трансформирующим потенциалом. Гены Е6 и Е7 всегда определяются и экспрессируются в опухолях шейки матки, что подтверждено при исследовании клеточных линий, полученных из опухолей шейки матки. Участки генома L1 и L2, кодирующие структурные белки вириона, экспрессируются на поздних стадиях вирусных частиц [8].

Вирусный белок Е7 способен нарушать регуляцию контроля клеточного цикла, оказывая митогенное влияние и стимулируя неконтролируемый синтез ДНК [7].

Показано, что в клетках больных РШМ происходит активная транскрипция вирусного генома, а решающее значение для развития РШМ имеет его персистенция. В тканях эпителиальных дисплазий и карцином шейки матки в процессе опухолевой трансформации нарушается регуляция транскрипции вирусных онкогенов, что проявляется в количественных различиях экспрессии генов Е6 и Е7, играющих основную роль в индукции злокачественного роста клеток [10].

Имеются сообщения об обнаружении вирусной ДНК в клетках больных РШМ как в интегрированной, так и в эписомальной формах.

В тканях эпителиальных дисплазий шейки матки обнаруживаются эписомальные формы ДНК ВПЧ. В большинстве случаев РШМ вирусные последовательности определяются в интегрированной форме [4].

Долгое время папилломатозные кондиломы считались единственным морфологическим проявлением папилломавирусной инфекции половых путей. Взгляды на патологию кондилом шейки матки были радикально пересмотрены после того, как были описаны генитальные плоские и инвертированные (эндофитные) кондиломы и определено их принципиальное отличие от кондилом других локализаций. Позже с помощью электронно-микроскопических, иммуногистохимических и ДНК-гибридизационных исследований была подтверждена их папилломавирусная этиология [15].

Субклиническая форма не сопровождается симптомами, но может быть диагностирована при кольпоскопии или микроскопическом исследовании ткани. Латентная форма не может быть диагностирована кольпоскопически, цитологически и гистологически [2].

Методы диагностики ПВИ условно можно разделить. 1. Классические: цитологический метод; гистологическое исследование биоптатов; кольпоскопия; определение антител к ВПЧ. 2. Современные: неамплификационные (Southern blot, Dot blot, гибридизация in situ), амплификационные (ПЦР, Hybrid Capture).

Широкое распространение во всем мире нашел цитологический метод исследования с окрашиванием мазков по Папаниколау (РАР-мазки) или по методу Романовского-Гимза [2].

Кольпоскопия является наиболее чувствительным клиническим методом определения субклинической формы ПВИ. Последняя сопровождается такими морфологическими особенностями, как акантоз, гиперплазия клеток базального и парабазального слоя многослойного плоского эпителия, пара- или гиперкератоз, койлоцитотическая атипия. Перечисленные критерии характеризуются разнообразием в отношении диагностики субклинической формы ПВИ. При возникновении морфологических признаков малигнизации изменения, характерные для ПВИ, уменьшаются, а патология митозов и ДНК нарастает [2].

В настоящее время определены антитела к серотипам ВПЧ и серореактивные области внутри соответствующих белков. Продукция цитокинов

также обеспечивает определенный вклад в иммунный ответ. Специфический Т-клеточный ответ имеет место в виде Т-хелперного ответа (Th1 или Th2), в зависимости от характера продуцируемых цитокинов или от типа активации иммунной системы. При ВПЧ стимулируется продукция ИЛ-12 и индуцируется Th1-ответ. Ответ локальных показателей иммунной системы зависит от индивидуальных особенностей женщины: фенотип HLA-DR2 имеет более выраженный характер выработки антител (Th2), чем другие [1].

Для определения разных типов ВПЧ в основном используют два основных теста: ПЦР и метод Hybrid Capture. Технология метода Hybrid Capture была разработана фирмой "Digene" (США), поэтому его иногда называют "Digene-тест". Метод заключается в ДНК-гибридизации в растворе с последующей сорбцией на полистироловой планшете [11]. С применением указанных тестов стало возможным определение более 70 различных типов ВПЧ, однако для клиники перспективным является выявление только канцерогенных типов.

ДНК ВПЧ может быть идентифицирована амплификацией генов вирусной последовательности методом ПЦР, который является наиболее широко применяемым и обнаруживает от 10 до 100 копий генома ВПЧ. Одним из условий, определяющих его эффективность, является оптимальный подбор олигонуклеотидных праймеров. Продукты ПЦР определяются типоспецифическими зондами, с использованием дот-гибридизации, блот-гибридизации по Саузерну или твердофазного иммуноферментного анализа (ТИФА) на полистироловых планшетах. Чувствительность методов, основанных на ПЦР, достаточно велика и позволяет определить онкогенные транскрипты Е6 и Е7 ВПЧ типа 16 даже в тех соскобах шейки матки, в которых не определялись диспластические изменения эпителия [11].

На сегодняшний день наиболее адекватными для скрининга являются три теста: цитологический, кольпоскопический и ВПЧ-тестирование. Некоторые авторы считают, что ВПЧ-тестирование актуально в клинической практике и может помочь в определении риска прогрессирования заболевания и выявлении рецидивов. Существующая практика наблюдения недостаточно эффективна, а одно лишь цитологическое исследование является нечувствительным для предотвращения рецидивов; в подобных случаях целесообразнее использование ВПЧ-тестирования. В 96-100% случаев рецидивов дисплазии после лечения обнаруживаются типы ВПЧ высокого риска, которые соответствуют типам, выявленным до начала лечения [5].

Отмеченные выше особенности позволяют предположить, что ВПЧ-тестирование при динамическом наблюдении имеет более высокую чувствительность и специфичность по сравнению с цитологическим методом и более высокую вероятность в предсказании рецидива.

Таким образом, можно сделать вывод, что современные подходы к диагностике и динамическому наблюдению папилломавирусной инфекции основаны на комбинации классических методов - цитологического и кольпоскопического исследований и современного ВПЧ-тестирования, что позволяет существенно увеличить эффективность первичного скрининга РШМ.

У женщин с РШМ чаще встречаются определенные варианты генов HLA I и II класса. Однако частота их распространения варьирует в различных популяциях. Наиболее часто наблюдается ассоциация между В1* аллелями HLA

II класса DR B1* 1501 и DQ B1* 0602 и инфекцией ВПЧ 16 типа [3].

Выявлены также вариации в географическом распространении ПВИ: у женщин Европы и Америки превалирует ВПЧ типа 16, тогда как в Индонезии более чем в 50% случаев РШМ обнаружен тип 18. На основании вариаций в последовательности ДНК онкогена Е6 выделено 6 вариантов ВПЧ 16: европейский (имеет 2 подтипа), азиатский, африканский (подтипы 1 и 2), североамериканский и азиатско-американский, у российских женщин анализ выявил тип 16 в 77%, а тип 18 в 14% случаев плоскоклеточного рака шейки матки [13].

Частота инфицированности ВПЧ, характер течения и исход ПВИ зависят и от возраста больных. Пик инфекции приходится на возраст 18-25 лет и снижается после 30 лет, когда существенно возрастает частота дисплазий и РШМ, пик которого приходится на 45 лет. ВПЧ обнаружен у 20-46% женщин в возрасте 20-25 лет и у 6% - старше 30 лет [12].

Таким образом, присутствуя в организме, вирусы не всегда вызывают заболевание. На трансформацию латентного носительства ВПЧ в дисплазию могут влиять следующие факторы: иммунные нарушения, сопутствующие инфекции, передаваемые половым путем, беременность, смена половых партнеров, низкий социально-экономический статус, применение оральных контрацептивов, ранняя первая беременность, недостаток витамина С, каротиноидов, фолатов, гормональные сдвиги, генетические детерминанты, курение [9].

Особое значение приобретает возможность создания вакцин против ВПЧ, над чем работают специалисты разных стран. Вакцинация структурными белками вириона обычно ведет к индукции эффективного иммунного ответа, поэтому в качестве иммуногенов выбраны вирусоподобные частицы (virus-like particles, VLP), полученные для различных типов ВПЧ. В ближайшие несколько лет станет ясно, какой профилактический и терапевтический эффекты могут иметь те или другие вакцинные разработки [15].

ЛИТЕРАТУРА

1. Кира Е.Ф. Бактериальный вагиноз. С-Пб., Нева-люкс, 2001.
2. Прилепская В.Н. Заболевания шейки матки, влагалища и вульвы. М., Медпресс, 2000.
3. Aguilar-Lemarroy A., Gariglio P., Whitaker N.J. et al. *Oncogene*. 21 (2), 165-75, 2002.
4. Brenna S.M., Syrjanen K.J. *Sao Paulo Med. J.* 2003. 121 (3), 128-32. Epub 2003 Aug 08.
5. Chua K.L., Hjerpe A. *Gynecol Oncol*. 66 (1), 108-13, 1997.
6. Fehrmann F., Laimins L.A. *Oncogene*. 22 (33), 5201-7, 2003.
7. Finzer P., Aguilar-Lemarroy A., Rosl F. *Cancer Lett.* 2002 Dec 15; 188 (1-2), 15-24.
8. Jeong H.S., Shin J.H., Park Y.N. et al. *Biologicals*. 31 (3), 223-9, 2003.
9. Manos M.M., Kinney W.K., Hurley L.B. et al. *JAMA*. 281 (17), 1605-10, 1999.
10. Mohan R.R., Possin D.E., Mohan R.R. et al. *Exp. Eye Res.* 77 (4), 395-407, 2003.
11. Nindl I., Greinke C., Zahm D.M. et al. *Int. J. Gynecol. Pathol.*, 16 (3), 197-204, 1997.
12. Richart R.M. *Pathol. Annu.* 8, 301-28, 1973.
13. Solomon D., Schiffman M., Tarone R. J. *Natl. Cancer Inst.* 93 (4), 293-9, 2001.
14. Zur Hausen H. *Adv. Cancer Res.* 33, 77-107, 1980.
15. Zur Hausen H. *J. Natl. Cancer Inst.* 93 (4), 252-3, 2001.

Поступила 11.11.2004

ԿԱՆՈՆՆԵՐ ԴԵՂԻՆԱԿՆԵՐԻ ԴԱՄԱՐ

«Հայաստանի կենսաբանական հանդեսը» հրատարակվում է Հայաստանի Հանրապետության Գիտությունների Ազգային Ակադեմիայի կողմից և հրապարակվում է գիտական աշխատություններ բուսաբանության, կենդանաբանության, ֆիզիոլոգիայի, կենսաքիմիայի, կենսաֆիզիկայի, կենսատեխնոլոգիայի, միկրոբիոլոգիայի, գենետիկայի և ընդհանուր ու կիրառական կենսաբանության վերաբերյալ՝ հայերեն, ռուսերեն և անգլերեն լեզուներով: Ակնարկային հոդվածները պատվիրվում են խմբագրության կողմից հատուկ դիմումով:

Ամսագիրն ունի հետևյալ բաժինները. *բնօրինակային* (փորձարարական) նախկինում չհրատարակված հոդվածներ, *համառոտ հաղորդումներ*, *բանավեճ*, *ավանդադրված հոդվածներ* *ռեֆերատներ*, *զանազան նյութեր* (գրախոսական, մատենագրություն, լրատու և այլն):

Ամսագրի ամեն համարում զետեղվում է մի հեղինակի 2 հոդվածից ոչ ավելին: Հոդվածը պետք է ունենա ուղեգիր հիմնարկությունից, հեղինակային տեղեկանք, հիմնարկի ԽՊՀ-ի որոշման քաղվածք՝ աշխատանքի գիտական արժեքի նշումով և երաշխավորագիր բաց հրապարակման համար: Օրիգինալ հոդվածի ծավալը չպետք է գերազանցի 7 էջ (ներառյալ ամփոփումները, գրականության ցանկը և նկարները), համառոտ հաղորդումները, գրախոսականները, բանավեճերը և այլն՝ 4 էջ, մեքենագրված կամ համակարգչով հավաքված. 1,5 ինտերվալով, Microsoft Word 6.0 և բարձր վերսիաներով, սկավառակի հետ:

Օրիգինալ հոդվածները ձևակերպվում են հետևյալ կերպ. *ամփոփումներ* (ռուսերեն, հայերեն և անգլերեն լեզուներով)՝ մինչև 8 տող, *բանալի բառեր* (ոչ ավելի քան 6 բառ), համառոտ ներածական՝ աշխատանքի նպատակի մասին, *նյութ և մեթոդ*, *արդյունքներ և քննարկում*, *գրականություն*: Հոդվածի առաջին էջի վրա (վերևի աջ կողմում) դրվում է ունիվերսալ տասնորդական դասակարգման (ՎԶԿ) ինդեքսը: Հոդվածի անվանումը, հեղինակների ազգանունները (6-ից ոչ ավելի) և անվան սկզբնատառերը ներկայացվում են հոդվածի վերջում՝ հայերեն, ռուսերեն և անգլերեն լեզուներով: Հոդվածների վերնագրերը պետք է լինեն ամփոփ և կարճ, արտացոլելով հիմնական բովանդակությունը: Հոդվածը խմբագրության կողմից ընդունվում է 2 օրինակից: Հոդվածի սկզբում և վերջում չենք գրել հետո նշվում են հեղինակի ազգանունը և անվան սկզբնատառերը, հիմնարկը, նրա հասցեն և է-փոստը, ուր կատարված է աշխատանքը: Հոդվածը պետք է ստորագրված լինի բոլոր հեղինակների կողմից, նշելով այն հեղինակին, որը պատասխանատու է խմբագրության հետ կապի համար, նրա հասցեն և հեռախոսը:

Թվերը, բանաձևերը և ինդեքսները պետք է գրված լինեն պարզորոշ, գլխագիր տառերը ընդգծված ներքևից երկու, իսկ փոքրատառերը՝ վերևից նշված երկու գծիկով ($\underline{S}$ ու $\underline{s}$): Հունական այբուբենի տառերը ընդգծվում են կարմիր մատիտով:

Վերնագրում և տեքստում առաջին անգամ հիշատակելիս, տաքսոնների անվանումները տրվում են ցեղի և տեսակի համար լրիվ տառադարձությամբ, իսկ կրկնության դեպքում՝ ցեղի համար ընդունված կրճատ ձևով: Մեջբերվող գրականությունը պետք է սահմանափակված լինի առավել կարևոր վկայակոչումներով մինչև 15 ամուս և տրվի այբբենական կարգի ընդհանուր ցուցակով՝ հայերեն, ռուսերեն և այլ լեզուներով: Գրականության վկայակոչումը տեքստում տրվում է թվանշանով, որն առնվում է քառակուսի փակագծերի մեջ առանց հեղինակի նշման, օրինակ՝ [3] կամ [3, 4, 7]:

Գրականությունը ձևակերպվում է հետևյալ կերպ.

ա) ամսագրային հոդվածների համար՝ հեղինակի ազգանունը և անվան սկզբնատառերը բնագրային տառադարձությամբ, ամսագրի անունը՝ ընդունված կրճատ ձևով, հատորը՝ ընդգծված ալիքավոր գծով, համարը, էջերը, տարեթիվը:

բ) գրքերի համար՝ հեղինակի ազգանունը և անվան սկզբնատառերը, լրիվ անվանումը, հրատարակության վայրը, հրատարակչությունը և տարեթիվը:

Գծանկարները և գծագրերը, տուշով պարզ գծված սպիտակ ստվարաթղթի, կալկայի վրա կամ ֆայլով ներկայացվում են 1 օրինակից թվով 3-ից ոչ ավելի: Լուսանկարները ընդունվում են բացառիկ դեպքերում և պետք է լինեն պարզ և կոնտրաստային: Նկարների բացատրությունները տրվում են առանձին էջի վրա 2 օրինակից: Նկարի հակառակ կողմում նշվում է նկարի համարը և հեղինակի ազգանունը, իսկ հոդվածի լուսանցքում նշվում է նկարի տեղը:

Աղյուսակները չպետք է գեղազանցեն տպագրական 1 էջին (A4): Թույլատրվում են միայն համընդհանուր ժամանակակից կրճատումներ՝ բառերի, չափերի ցուցանիշների, ֆիզիկական, քիմիական և մաթեմատիկական մեծությունների, տերմինների և այլն: Բոլոր չափերը տրվում են Միավորների միջազգային սիստեմի՝ SI կարգաբանությամբ, ջերմաստիճանը՝ Ցելսիուսով: Հապավումների միասնականացման համար առաջարկվում է հետևել «Биохимия» (Մոսկվա) ամսագրի պահանջներին: Պայմանական հապավումները տեքստում առաջին անգամ հիշատակելիս տրվում են լրիվ ձևով:

Ավանդադրման երաշխավորված հոդվածը ձևակերպվում է համաձայն պահանջների (Հոդվածների ավանդադրման կանոններ):

Հանդեսի կրճատ անվանումն է՝ «Հայաստանի կենսաբան. հանդես», ակրոնիմը՝ ԲԺԱ:

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

"Биологический журнал Армении" издается Национальной Академией наук Республики Армения и публикует научные работы по ботанике, зоологии, физиологии, биохимии, биофизике, микробиологии, биотехнологии, генетике и другим отраслям общей и прикладной биологии на армянском, русском и английском языках. Обзоры заказываются редакцией специальным обращением.

Журнал имеет разделы: *оригинальные* (экспериментальные), ранее не опубликованные статьи, *краткие сообщения, дискуссии, рефераты депонированных статей, разное* (рецензии, библиография, хроника и пр.).

Журнал помещает не более 2-х статей одного автора в номере. Статья должна иметь направление от учреждения, авторскую справку, выписку из протокола РИСО учреждения с указанием научной ценности работы и рекомендации на публикацию в открытой печати. Объем оригинальной статьи не должен превышать (включая аннотации, список литературы, иллюстрации) 7 стр., кратких сообщений, рецензий, дискуссий и др. - 4 страниц машинописного или компьютерного набора через 1,5 интервала. Дискета представляется в формате *Microsoft Word*, версии 6.0 и выше.

Оригинальные статьи оформляются следующим образом: *аннотации* (на русском, армянском и английском языках) - до 8 строк, *ключевые слова* (не более 6 слов), краткое введение с указанием цели работы, *материал и методика, результаты и обсуждение, литература*. На первой странице рукописи (вверху, справа) указывается индекс по Универсальной десятичной классификации (УДК). Название статьи, фамилии и инициалы авторов (не более шести) представляются на армянском, русском и английском языках в конце статьи. Заглавия статей должны быть лаконичными и отражающими его основное содержание. Рукопись принимается редакцией в 2-х экземплярах. В начале статьи, после заголовка, указываются фамилии и инициалы авторов, учреждение, где выполнена работа, его адрес и э-почта. Рукопись должна быть подписана всеми авторами с указанием автора, ответственного за переписку с редакцией, его адреса и контактного телефона.

Цифры, формулы и индексы должны быть четко вписаны, заглавные буквы подчеркнуты двумя черточками снизу, а строчные отмечены сверху (S и s). Греческие буквы подчеркиваются красным карандашом.

В заголовке и при первом упоминании в тексте названия таксонов приводятся в полной родовой и видовой транскрипции, при повторном упоминании - род в принятом сокращении. Цитируемая литература должна быть ограничена наиболее важными ссылками (до 15 названий) и приведена общим списком в алфавитном порядке на армянском, русском и иностранных языках. Ссылки на литературу в тексте даются в квадратных скобках без упоминания авторов (например, [3] или [3, 4, 7]).

Список литературы составляется следующим образом:

а) журнальные статьи - фамилия и инициалы авторов в транскрипции, соответствующей оригиналу, название журнала в принятом сокращении, том (подчеркнуть волнистой линией), номер выпуска, страницы, год.

б) книги - фамилия и инициалы автора, полное название, место издания, издательство и год издания.

Графики и чертежи, отчетливо выполненные черной тушью, представляются в одном экземпляре на плотной бумаге, кальке или файлом, в количестве не более 3-х. Фотоснимки принимаются в исключительных случаях и должны быть четкими и контрастными. Подписи к рисункам представляются на отдельном листе в 2-х экз. На обороте иллюстрации отмечаются номер рисунка и фамилии авторов, а на полях рукописи указывается место рисунка. Таблицы не должны превышать размера стандартной страницы (А4). Разрешаются лишь общепринятые современные сокращения слов, показателей мер, физических, химических и математических величин, терминов и т.п. Все меры даются в Международной системе единиц СИ, температура - по шкале Цельсия. Для унификации сокращений рекомендуется придерживаться требований журнала "Биохимия" (Москва). Условные сокращения при первом упоминании даются полностью.

Рукопись статьи, рекомендуемой к депонированию, оформляется согласно инструкции (см. "Правила депонирования статей").

Сокращенное название журнала "*Биолог. журн. Армении*", акроним - БЖА.

GUIDE TO AUTHORS

"Biological Journal of Armenia" is functioning under the auspice of the National Academy of Sciences of Armenia and publishes scientific papers on botany, zoology, physiology, biochemistry, biophysics, microbiology, biotechnology, genetics and other fields of general and applied biology in Armenian, Russian and English languages. The review articles are to be invited by the special request from the Editorial Board.

The Journal has following divisions: *Original* (Experimental) not published in any place; *Articles*; *Short communications*; *Abstracts of deponated articles*; *Miscellaneous* (*Discussions, Bibliography, Chronics, etc.*).

The Journal publishes no more than 2 papers of one author per issue. Paper should be accompanied by the assignment of Institution, author's certificate, the conclusion of Editorial Board of Institution with indication of scientific importance of work and recommendation on open publication. Original articles should not exceed (including abstracts, references, illustrations) - 7, the short communications, comments, discussions, etc. - 4 pages typewritten or printed on computer in 1,5 space. The diskette must be presented too, formalized in the format *Microsoft Word*, versions 6.0 and higher.

Original articles are compiled as follows: *Abstracts* (in Russian, Armenian and English) - till 8 lines, *Keywords* (no more than 6 words); Short introduction with indication of work purposes; *Material and methods*; *Results and discussion*; *Literature*. The title of article, the name(s) and initials of author(s) (no more than six) are represented at the end of manuscript in Armenian, Russian and English. Titles of articles must be short, expressing the main content. Manuscripts are submitted by the Editorial Office in two copies. At the beginning of paper, after the title are indicated the author(s) name(s) and initials, the name of Institution, address and e-mail, where the work is prepared. Manuscript should be signed by all of the authors indicating the name, address and contact telephone of the corresponding author, who is responsible for correspondence with the Editorial Office.

Numbers, formulae and indices must be inserted legibly, the capital letters must be lined with double lines under and the small letters - above (S and s). The Greek letters have to be underlined by red pencil.

In the title and for the first mention the names of taxons are given in full transcription for genus and species while for the repeated mentioning the generic name - in accepted abbreviation. Literature cited should be limited by most important references (till 15 names) and listed on alphabetical order in Armenian, Russian and in foreign languages. References in the text are placed in square brackets without mentioning author(s) name, for example [3] or [3, 4, 7].

Literature is represented as follows:

a) the journal papers - name(s) and initials of the author(s) in original transcription, the name of journal in accepted abbreviation, the volume indicated by wave line, number, pages, year.

b) the books - name(s) and initials of the author(s), the complete name, publication place, press and year.

Graphs and drawings, no more than 3, must be drawn clearly with Indian ink on compact paper or tracing-paper in one copy.

Photographs are accepted in exceptional cases and must be legible and contrast. The figure legends are given on separate pages in two copies. On the back page of illustration the figure number, author(s) name are indicated and on margins of manuscript place of figure is pointed out. Tables should not exceed the size of the standard page (A4). The general conventional abbreviations are permitted for words, indices of measures, physical, chemical and mathematical quantities, terms, etc. All measures are given in the International System of Units (SI), temperature - by Centigrade.

For unification of abbreviations it is recommended to follow the Instructions of Journal "Biochemistry" (Moscow). At the first mentioning the relative abbreviations are given completely.

Abbreviated name of the Journal is "*Biolog. J. Armenia*", Acronym - *BJA*.

ԲՈՎԱՆ-ԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

Օրիգինալ հոդվածներ

Աբելյան Վ.Դ., Բալայան Ա.Ս., Ղոչիկյան Վ.Տ., Մարկոսյան Ա.Ա. Ստեփիոզիդի տրանսգլյուկոզիդացումը մանրէների տարբեր խմբերի ցիկլոդեքստրին գլյուկանոտրանսֆերազների միջոցով	3
Բաղդասարյան Ջ.Ն., Ալեքսանյան Գ.Ա., Սիրոզյան Ա.Ս. Սնուցիչ միջավայրի բազմաչափանիշային օպտիմիզացիա	10
Հայրապետյան Ա.Վ. Օտոմիկոզի միկրոբիոլոգիական կառուցվածքը	17
Անտոնյան Լ.Գ., Գոգինյան Վ.Բ., Ղազանչյան Ն.Լ., Աֆրիկյան Է.Գ. Պոլիմեր նյութերի սնկեր կենսաբալթայիչների ադեզիոն հատկությունները	22
Ավետիսյան Ա.Ա., Պարոնյան Ռ.Վ., Հարությունյան Ա.Վ. Ամինաթթվային արտադրության կեղտաջրերի կենսաբանական մաքրման ինտենսիֆիկացման մասին	27
Ջաքարյան Ա.Ե., Սարգսյան Ն.Ա. Լիպիդների և մեմբրանային կառույցների ազատ ռադիկալային օքսիդացումը հակաօքսիդացային պրեպարատների ներկայության դեպքում	32
Աղաքանյան Ա.Խ., Սինասյան Ջ.Ս., Ջախարյան Ա.Ա. Արգինազի ակտիվության կարգավորումը ծածան ձկան <i>Cyprinus carpio</i> տարբեր օրգաններում	37
Անմեքայան Գ.Գ. Ադենինի դեզամինացումը որոշ բույսերում, կենդանիներում և միկրոօրգանիզմներում	42
Եղոյան Ա.Գ. <i>Treponema hyodysenteriae</i> սպիրոխետի կենսաբանության շուրջը	47
Դազարյան Կ.Ա., Խաչատրյան Ջ.Ա., Թաթյան Ս.Վ., Բուդաղյան Լ.Գ., Հակոբյան Գ.Ս., Սկրտչյան Վ.Ա., Ղարաբյոբյան Կ.Գ., Հարությունյան Վ.Ս. Պարբերական հիվանդության տարբեր փուլերում իմունիտետի բջջային և հումորալ օղակների ցուցանիշները	51
Ալեքսանյան Ա.Ս. Սիրտ-անոթային հիվանդությունների բուժման դեղամիջոցների պատրաստուկների ազդեցությունը արյան մետաղապրոտեինների օպտիկական-սպեկտրալ բնութագրերի և ակտիվությունների վրա	57
Սիմոնյան Լ.Ա., Սիմոնյան Գ.Ս., Սիմոնյան Ա.Ա., Սիմոնյան Մ.Ա. Տոկոֆերոլի կարգավորիչ ազդեցությունը առնետների արյան մետաղապրոտեինների մակարդակների վրա	63
Կարապետյան Ա.Ա., Բախչինյան Ս.Ջ., Տեր-Պողոսյան Ջ.Լ. Հակատուբերկուլյոզային քիմիոթերապիայի ազդեցությունը բնական քիլերային բջիջների վրա <i>in vitro</i> պայմաններում	68
Նաղաշյան Դ.Ջ., Սարգսյան Ա.Ա. Ֆասցիոլոզով վարակման դեպքերը Հայաստանի ճագարաբուծական տնտեսություններում	73
Պիպոյան Ա.Խ. Արարատյան հարթավայրի ջրամբարների հայկական կարմրակնի <i>Rutilus rutilus scheikvnikovii</i> Derjavin, 1926 (<i>Cypriniformis, Cyprinidae</i>) կենսաբանական առանձնահատկությունները	77
Երվանդյան Ս.Գ., Նեբիշ Ա.Ա., Սիմոնյան Ե.Դ., Հարությունյան Ռ.Ս. Մշակովի խաղողի միկրոգամետոֆիտային փոփոխությունը	82
Անմեքայան Ի.Դ. Լեռնային սովորական սևահողերի ֆերմենտային ակտիվությունը	87
Դազարյան Ա.Ս., Ոսկանյան Վ.Ս., Պետրոսյան Ֆ.Ռ., Սնացականյան Մ.Ս., Մադոյան Վ.Ս. 1,2-դիքլորբութադիենի-1,3 թունաբանական բնույթը և սահմանային թուլատրելի խտության հիմնավորումը աշխատանքային գոտու օդում	93

Համառոտ հաղորդումներ

Չախյան Ս.Գ. Հիպոթալամուսի նոր պեպթիդների ամինաթթվային կազմի և հաջորդականության որոշումը	97
---	----

Հովհաննիսյան Ս.Պ., Դավթյան Ս.Ա., Պապոյան Ա.Ռ., Գաբրիելյան Գ.Ա. <i>Aspergillus niger</i> R-3-ի պերօքսիսոմների տրանսամիմազները	100
Վարդանյան Լ.Վ. Նատրիումի սելենիտի ազդեցությունը լեյկոցիտների ֆունկցիոնալ ակտիվության վրա	104
Զամինյան Ս.Ս., Ավալյան Ռ.Է. Հայաստանի որոշ հացազգիների գլիադինների պոլիմորֆիզմը	106
Վարդանյան Լ.Վ., Տերտերյան Ե.Ե. Նատրիումի սելենիտի ազդեցությունը ճագարների աճի, մսեղիքի քաշի, մորթու և ներքին օրգանների վրա	110
Ավետիսյան Կ.Վ., Միրզոյան Վ.Ս. Ինսեկտիցիդ ակտարայի ազդեցությունը ծիրանենու և խնձորենու ազոտափոխանակության որոշ կողմերի վրա	112
Շահագրգյան Գ.Դ. Հիվանդությունների ռացիոնալ ախտորոշման մի մոդելի կառուցման մասին	115
Եփրեմյան Օ.Ժ. Ֆենոլոգիական դիտարկումներ	117
Նաղաշյան Դ.Զ., Վարդանյան Ա.Վ., Գրիգորյան Վ.Վ., Գրիգորյան Լ.Դ., Շչերբակով Օ.Վ. Սարկոպտոզը Հայաստանի ճագարաբուծական տնտեսություններում և պայթարի միջոցառումների մշակումը	121

Ավանդակներ

Խաչատրյան Լ.Գ. Պապիլոմավիրուսային վարակի պաթոգենետիկական առանձնահատկությունները	124
Կանոններ հեղինակների համար	

Биолог. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

СОДЕРЖАНИЕ

Оригинальные статьи

Абелян В.А., Балаян А.М., Кочикян В.Т., Маркосян А.А. Трансглюкозилирование стевियोзида циклодекстринглюканотрансферазами различных групп микроорганизмов	3
Багдасарян З.Н., Алексанян Г.А., Мирзоян А.М. Многокритериальная оптимизация ферментационных сред	10
Айрапетян А.В. Микробиологическая структура отомикоза	17
Антонян Л.Г., Гогинян В.Б., Казанчян Н.Л., Африкян Э.К. Об адгезивных свойствах грибов-биодegradантов полимерных материалов	22
Аветисян А.С., Паронян Р.В., Арутюнян А.В. Об интенсификации биологической очистки сточных вод аминокислотного производства	27
Закарян А.Е., Саркисян Н.А. Свободнорадикальное окисление липидов и мембранных структур в присутствии противоопухолевых препаратов	32
Агаджанян А.Х., Минасян З.С., Захарян А.А. Регуляция активности аргиназы в различных органах сазана <i>Suipinus carpio</i>	37
Семерджян Г.Г. Дезаминирование аденина в некоторых растениях, животных и микроорганизмах	42
Егоян С.Г. О биологии спирохеты <i>Treponema hyodysenteriae</i>	47
Казарян К.А., Хачатрян З.А., Татьяна М.В., Будагян Л.Г., Акопян Г.С., Мкртчян В.А., Карагезян К.Г., Арутюнян В.М. Параметры клеточного и гуморального звеньев иммунитета в различных стадиях периодической болезни	51
Алексанян С.С. Влияние лекарственных препаратов для терапии сердечно-сосудистых заболеваний на оптико-спектральные характеристики и активность металлопротеинов крови	57

Симонян Л.А., Симонян Г.М., Симонян А.А., Симонян М.А. Регулирующий эффект токоферола на уровень металлопротеинов крови у крыс	63
Каралян М.А., Бахшиян М.З., Тер-Погосян З.Р. Естественные киллерные клетки при противотуберкулезной химиотерапии в системе <i>in vitro</i>	68
Нагашян О.З., Саркисян М.А. Случаи заражения фасциолезом в кролиководческих хозяйствах Армении	73
Пипоян С.Х. Биологические особенности армянской плотвы <i>Rutilus rutilus schelkovnikovi Derjavin, 1926 (Cypriniformes, Cyprinidae)</i> водоемов Арагатской равнины	77
Ервандян С.Г., Небиш А.А., Симонян Е.Г., Арутюнян Р.М. Микрогаметофитная изменчивость у винограда культурного	82
Семерджян И.Г. Ферментативная активность горных обыкновенных черноземов	87
Казарян А.С., Восканян В.С., Петросян Ф.Р., Мнацаканян М.С., Мадоян В.С. Токсикологическая характеристика и обоснование предельно допустимой концентрации 1,2-дихлорбутана-1,3 в воздухе рабочей зоны	93

Краткие сообщения

Чаилян С.Г. Определение аминокислотного состава и последовательности новых пептидов гипоталамуса	97
Оганесян С.П., Давтян М.А., Папоян А.Р., Габриелян Г.А. Пероксисомальные трансаминазы <i>Aspergillus niger</i> R-3	100
✓ Вартанян Л.В. Влияние селенита натрия на функциональную активность лейкоцитов .	104
Заминян С.С., Авалян Р.Э. Полиморфизм глиадинов у некоторых представителей пшениц Армении	106
Вартанян Л.В., Тертерян Е.Е. Влияние селенита натрия на рост, массу тушек, шкурок и внутренних органов кроликов	110
Аветисян К.В., Мирзоян В.С. Влияние инсектицида актары на некоторые стороны азотного обмена абрикоса и яблони	112
Шахазизян Г.Г. О построении одной модели рациональной диагностики заболеваний	115
Епремян О.Ж. Фенологические наблюдения	117
Нагашян О.З., Варданян А.В., Григорян В.В., Григорян Л., Щербаков О.В. Саркоптоз в кролиководческих хозяйствах Армении и разработка мероприятий в отношении данного заболевания	121

Обзоры

Хачатрян Л.Г. Патогенетические особенности папилломавирусной инфекции	124
<i>Правила для авторов</i>	

Biolog. J. Armenia, 1-2 (56), 2004

CONTENTS

Original articles

Abelyan V.H., Balayan A.M., Ghochikyan V.T., Markosyan A.A. Transglycosylation of stevioside by cyclodextrin glucanotransferases of various groups of microorganisms ..	3
Bagdasaryan Z.N., Aleksanyan G.A., Mirzoyan A.M. Multicriterion optimization of enzyme medium	10
Hayrapetyan A.V. Microbiological structure of otomycosis	17

Antonyan L.G., Goginyan V.B., Ghazanchyan N.L., Afrikian E.G. On adhesive properties of fungal biodegradants of polymeric materials	22
Avetisyan A.S., Paronyan R.V., Harutunyan A.V. About biological sewage disposal intensification of amino acid production	27
Zakaryan A.E., Sargsyan N.A. Lipid and membrane structures free radical oxidation under presence of anticancer preparations	32
Agajanyan A.Kh., Minasyan Z.S., Zakharyan A.A. Regulation of arginase activity in different organs of sazan <i>Cyprinus carpio</i>	37
Semerjyan G.G. Adenine deamination in some plants, animals and microorganisms	42
Yeghoyan S.G. On biology of spirochete <i>Treponema hyodysenteriae</i>	47
Kazaryan K.A., Khachatryan Z.A., Tatyana M.V., Budagyan L.G., Hakobyan G.S., Mkrtchyan V.A., Karageuzyan K.G., Harutjunyan V.M. Parameters of cell and humoral links of immunity in different stages of familial mediterranean fever	51
Alexanyan S.S. The influence of medicinal preparations for the therapy of cardio-vascular diseases on the optical-spectral characteristics and activity of blood metalloproteins	57
Simonyan L.A., Simonyan G.M., Simonyan A.A., Simonyan M.A. The regulating effect of tocopherol on rats' blood metalloprotein	63
Karalyan M.A., Bahshinyan M.Z., Ter-Poghosyan Z.R. Natural killer cells at antituberculosis preparations by <i>in vitro</i> system	68
Naghashyan H. Z., Sargsyan M. A. The cases of fascioliasis at the rabbit-breeding farms of Armenia	73
Pipoyan S.Kh. Biological features of the Armenian roach <i>Rutilus rutilus schelkovnikovi</i> Derjavin, 1926 (<i>Cypriniformes</i> , <i>Cyprinidae</i>) of the Ararat valley reserviore	77
Yervandyan S.G., Nebish A.A., Simonyan E.G., Aroutiounian R.M. Microgametophyte variability at cultural grape	82
Semerjyan I.G. Enzymatic activity of mountainous ordinary chernozems	87
Ghazaryan A.S., Voskanyan V. S., Petrosyan F.R., Mnatsakanyan M.S., Madoyan V.S. The poisonous character of 1,2-dichlorobutadiene-1,3 and the permissible concentration of it in the air of the working area	93

Short communications

Chailyan S.G. Definition of amino acids and their sequences in new peptides in hypothalamus	97
Hovhannisyan S.P., Davtyan M.A., Papoyan A.R., Gabrielyan G.A. Peroxisomal transaminases of <i>Aspergillus niger</i> R-3	100
Vardanyan L.V. The influence of sodium selenite on leucocytes	104
Zaminian S.S., Avalian R.E. Polymorphism of gliadins at some wheat species of Armenia	106
Vardanyan L.V., Terteryan E.E. The influence of sodium selenite on the growth and mass of carcass, skins and internal organs of the rabbits	110
Avetisyan K.V., Mirzoyan V.S. Effect of the insecticide actara on several aspects of nitrogen metabolism of apricot and apple trees	112
Shahazizyan G.H. On a model construction of rational diagnostics of diseases	115
Yepremyan O.J. Phenological observations	117
Naghashyan H. Z., Vardanyan A. V., Grigoryan V.V., Grigoryan L., Shcherbakov O.V. Sarcoptosis at the rabbit-breeding farms of Armenia and the control	121

Reviews

Khachatryan L.G. Pathogenetic features of papilomaviral infection	124
Guide to authors	