Հայաստանի Գիտությունների Ազգային Ակադեմիա
Национальная Академия Наук Армении
National Academy of Sciences of Armenia

Հայաստանի Կենսաբանական Հանդես
Биологический Журнал Армении
Biological Journal of Armenia

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

Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 1(69), 2017

ՄԻԼԻՄԵՏՐԱԿԱՆ և ԴԵՑԻՄԵՏՐԱԿԱՆ ՏԻՐՈՒՅԹՆԵՐԻ ՃԱՌԱԳԱՅԹԱՀԱՐՄԱՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՊՈՒՐԻՆԱՅԻՆ ՆՈՒԿԼԵՈՏԻԴՆԵՐԻ ԴԵԶԱՄԻՆԱՑՄԱՆ ՎՐԱ C. guilliermondii ՀՊ-4 ԽՄՈՐԱՍՆԿԱՅԻՆ ԲՋԻՋՆԵՐՈՒՄ

ՄԱՐՈՒԹՅԱՆ Ս.Վ., ՊԵՏՐՈՍՅԱՆ Գ.Հ., ՄԱՐՈՒԹՅԱՆ Ս.Ա., ՆԱՎԱՍԱՐԴՅԱՆ Լ.Հ.

Երևանի պետական համալսարան, կենսաքիմիայի, մանրէաբանության և կենսատեխնոլոգիայի ամբիոն

Իրականացվել է *C.guilliermondii* ՀՊ-4 խմորասնկային բջիջներում պուրինային միացությունների դեզամինացման ուսումնասիրություններ խմորասնկային բջիջները միլիմետրական և դեցիմետրական տիրույթի ոչիոնացնող ճառագայթներով ճառագայթահարելուց և հետճառագայթային ռեպարացիայից հետո: Դրսևորվել են դեզամինացման ուժգնության փոփոխություններ պոլիֆոսֆատնուկլեոտիդների՝ ԱԿՖ-ի, ԱԵՖ-ի, ԳԿՖ-ի և ԳԵՖ-ի դեպքում, ինչը, հավանաբար, պայմանավորված է էքստրեմալ վիճակում ներբջջային պոլիֆոսֆատների մետաբոլիզմի ինտենսիվության փոփոխությամբ:

Միլիմետրական ալիքներ, դեցիմետրականալիքներ, նուկլեոտիդներ, դեզամինացում

Осуществлено исследование дезаминирования пуриновых нуклеотидов в дрожжевых клетках *C.guilliermondii* НП-4, облученных в областях миллиметровых и дециметровых длин волн и после пострадиационной репарации. Были обнаружены изменения в интенсивности дезаминирования полифосфат-нуклеотидов АДФ, АТФ, ГДФ и ГТФ, что, по всей вероятности, обусловлено изменением интенсивности метаболизма полифосфатов клеток в экстремальных условиях.

миллиметровые волны, децимертовые волны, нуклеотиды, дезаминирование

The investigation of purinenucleotides deamination in yeast cells *C.guilliermondii* NP-4 irradiated by millimeter and decimeter ranges of waves and after postradiation repair was realized. It has been shown that the changes in deamination intensity of polyphosphate-nucleotides ADP, ATP, GDP and GTP take place which perhaps can be conditioned with changes of metabolism of polyphosphate-nucleotides in cells in extreme conditions.

miilimeter waves, decimeter waves, nucleotides, deamination

Ներկայումս, կապված շրջապատող միջավայրի աղտոտվածության մեծացման հետ, արդիական խնդիր է դարձել կենդանի օրգանիզմների վրա արտաքին միջավայրի անբարենպաստ ազդակների ազդեցության մոլեկուլային մեխանիզմների բացահայտումը: Մարդու գործունեության ոլորտների ընդլայնմանը զուգահեռ, կապված գիտատեխնիկական առաջընթացի, հատկապես՝ բջջային հեռախոսակապի (միլիմետրական տիրույթի ալիքներ) և անթել համացանցի՝ Wi-Fi-ի (դեցիմետրական տիրույթի ալիքներ) օգտագործման հետ, մեծանում է կենդանի օրգանիզմների վրա երկարալիք ճառագայթման ազդեցությունը: Բջջային հեռախոսների օգտագործումը վտանգավոր հետևանքներ ունի մարդու առողջության համար՝ ընդհուպ մինչև գլխուղեղի և սեռական համակարգի տարբեր հիվանդությունների, այդ թվում՝ նաև քաղցկեղի զարգացումը [2, 4], երկարալիք տիրույթի ալիքների ազդեցությամբ նկատվում են բջիջների թաղանթներում Na-K–ական անցքուղիների ակտիվության փոփոխություններ, ինչպես նաև՝ դիտվում է զգալի ջերմային ազդեցություն բջիջների վրա [7]: Կենդանի օրգանիզմներն օժտված են հարմարվողական մեծ

հնարավորություններով, որոնք թույլ են տալիս նրանց վերապրել էքստրեմալ պայմաններում: Այդ ընթացքում օրգանիզմների բջիջներում սկսում են գործել որոշակի պաշտպանական մեխանիզմներ, որոնք կապված են նոր սպիտակուցների սինթեզի և մետաբոլիկ փոփոխությունների դրսևորման հետ: Այս տեսակետից կարևոր է ծայրահեղ պայմաններում ստորակարգ էուկարիոտների, մասնավորապես՝ խմորասնկային բջիջների ժառանգական նյութի [3], ԴՆԹ-ի կառուցվածքային մոնոմերներ հանդիսացող նուկլեոտիդների փոխանակության, ինչպես նաև՝ խմորասնկային սպիտակուցների կառուցվածքային և ֆունկցիոնալ փոփոխությունների ուսումնասիրումը [1], որը կարևոր ինֆորմացիա է տալիս բարձրակարգ էուկարիոտօրգանիզմներում էքստրեմալ պայմաններում դրսևորվող փոփոխությունների մասին:

Մեր աշխատանքի նպատակն է եղել՝ ուսումնասիրել պուրինային ազոտային հիմքերի, նուկլեոզիդների և նուկլեոտիդների դեզամինացումը *C. guilliermondii* ՀՊ-4 խմորասնկային բջիջները միլիմետրական և դեցիմետրական ալիքներով ճառագայթահարելիս և բջիջների հետճառագայթային ռեպարացիայից հետո:

Նյութ և մեթոդ

Հետազոտության օբյեկտ են հանդիսացել *C.guilliermondii* ՀՊ-4 խմորասնկերը: Խմորասնկային բջիջներն աճեցվել են հեղուկ սինթետիկ սննդամիջավայրում [1], թափահարող սարքի վրա: Խմորասնկային կենսազանգվածը կուլտուրալ միջավայրից առանձնացվել է ցենտրիֆուգման միջոցով՝ 5000g արագությամբ, 10 րոպե տևողությամբ: Խմորասնկային բջիջները թորած ջրով լվանալուց հետո որոշվել է թաց կենսազանգվածի կշիռը:

***C. guilliermondii* ՀՊ-4 խմորասնկային բջիջների ճառագայթահարումը -** Խմորասնկերի աճի ստացիոնար փուլում կենսազանգվածի մի մասը ենթարկվել է ճառագայթահարման միլիմետրական (λ=6մմ, υ=51.8ՄՀց) և դեցիմետրական (λ=30սմ, υ=1ԳՀց) ալիքներով, սենյակային ջերմաստիճանում, 45 րոպե տևողությամբ:

Խմորասնկային բջիջների հետճառագայթային վերականգնումը - Ճառագայթահարված խմորասնկային կենսազանգվածի մի մասը ենթարկվել է հետագա ինկուբացիայի՝ բջիջների վերականգնմանը նպաստող պայմաններում (30^0C ջերմաստիճան, 100մՄ գլյուկոզի առկայություն), որում աճեցվել էր խմորասնկային կենսազանգվածը նախքան ճառագայթահարելը:

Ջրալուծ սպիտակուցային էքստրակտի ստացումը խմորասնկային բջիջներից - Խմորասնկային բջիջները մինչև -10^0C սառեցնելուց հետո մամլվել են նախապես սառեցված մամլիչով: Մամլումից հետո ստացված բջջային հոմոգենատը խառնվել է մագնիսական խառնիչի վրա, 20 րոպե տևողությամբ, թորած ջրի միջավայրում՝ ջրալուծ սպիտակուցներ պարունակող էքստրակտ ստանալու նպատակով: Ստացված հոմոգենատը ցենտրիֆուգվել է 25000g պայմաններում, 20ր տևողությամբ: Վերնստվածքում պարունակվում է խմորասնկային սպիտակուցների ջրալուծ ֆրակցիան:

Դեզամինացման ընթացքում անջատված ամոնիակի քանակությունը որոշվել է Բերտլոյի գունային ֆենոլի ռեակցիայի մեթոդով [Martinek R.G., 1963]:

Արդյունքներ և քննարկում

Աշխատանքի առաջին փուլում իրականացվել է պուրինային նուկլեոտիդների (ԱԵՖ, ԱԿՖ, ԱՄՖ, ԳԵՖ, ԳԿՖ և ԳՄՖ), ինչպես նաև՝ նուկլեոզիդների (ադենոզին, գուանոզին) և ազոտային հիմքերի (ադենին և գուանին) դեզամինացման ուսումնասիրում միլիմետրական ալիքներով ճառագայթահարված և հետճառագայթային ռեպարացիայի ենթարկված *Candida guilliermondii* ՀՊ-4 խմորասնկային բջիջներում:

Ազոտային հիմքերի և նուկլեոզիդների դեզամինացման ուժգնության վերաբերյալ մեր կողմից ստացված տվյալներից պարզվել է, որ ադենինդեզամինազ, ադենոզինդեզամինազ, գուանին դեզամինազ և գուանոզին դեզամինազ ֆերմենտները ակտիվություն չեն ցուցաբերում ոչ չճառագայթահարված, ոչ էլ՝ միլիմետրական տիրույթի ալիքներով ճառագայթահարված և ռեպարացված խմորասնկային բջիջներում: Դեզամինացում չի դրսևորվել նաև ԳՄՖ-ի դեպքում: Պուրինային նուկլեոտիդների դեզամինացման վերաբերյալ ստաց-

ված տվյալները ներկայացված են աղյուսակ 1-ում: Չճառագայթահարված խմորասնկային բջիջներում բավական ցածր է եղել ԱՄՖ-ի և ԱԵՖ-ի դեզամինացման ուժգնությունը՝ դրսևորվել է համապատասխան ֆերմենտների հետքային ակտիվություն: Որոշակի ակտիվություն դիտվել է միայն ԱԿՖ-ի դեզամինացման գործընթացում: ԳԵՖ-ի և ԳԿՖ-ի դեզամինացման ուժգնության տեսակետից տարբերությունները աննշան են, և 1.7-2 անգամ ցածր են ԱԿՖ-ի համեմատությամբ:

Միլիմետրական ալիքներով ճառագայթահարման ենթարկված *Candida guilliermondii* ՀՊ-4 խմորասնկերում նկատվում էԱԿՖ-ի և ԳԿՖ-ի դեզամինացման ուժգնության անկում, իսկ մյուս նուկլեոտիդների համար (ԱՄՖ, ԱԵՖ և ԳԵՖ) դիտվում է դեզամինացման ուժգնության աճ չճառագայթահարված բջիջների համեմատությամբ: Հետճառագայթային ռեպարացիայի ենթարկված խմորասնկային բջիջներում ԱՄՖ-ի և ԱԿՖ-ի դեզամինացում այլևս չի դիտվում. դեզամինացման ենթարկվում են միայն ԱԵՖ, ԳԿՖ և ԳԵՖ նուկլեոտիդները: Ընդ որում, ԱԵՖ-իդեպքում դիտվում է դեզամինացման ուժգնության անկում ճառագայթահարված բջիջների համեմատությամբ՝ բարձր մնալով չճառագայթահարված խմորասնկերին բնորոշ աստիճանից, իսկ ԳԵՖ-ի դեպքում դեզամինացման ուժգնությունը նվազում է և մնում է ցածր ինչպես չճառագայթահարված, այնպես էլ՝ ճառագայթահարված բջիջների համեմատությամբ: ԳԿՖ-ի դեզամինացման ուժգնությունը ռեպարացված խմորասնկային բջիջներում աճում է և գերազանցում է չճառագայթահարված բջիջներին բնորոշ աստիճանին:

Աղյուսակ 1

Պուրինային միացությունների դեզամինացումը *C. guilliermondii* ՀՊ-4 խմորասնկերում՝ բջիջները միլիմետրական ալիքներով ճառագայթահարելուց և հետճառագայթային ռեպարացիայից հետո (մգ N2/1գ թաց կենսազանգված, n=5, p<0.05)

Նուկլեոտիդներ / Տարբերակ	ԱՄՖ	ԱԿՖ	ԱԵՖ	ԳԿՖ	ԳԵՖ
Չճառագայթված խմորասնկեր	0.013±0.001	0.87±0.07	0.026±0.002	0.44 ± 0.03	0.5 ± 0.02
Ճառագայթված խմորասնկեր	0.06±0.048	0.1±0.06	0.66±0.04	0.19 ±0.01	0.95±0.6
Ռեպարացված խմորասնկեր	0	0	0.24±0.018	0.76± 0.07	0.14± 0.1

Աշխատանքի հաջորդ փուլում իրականացրել ենքպուրինային նուկլեոտիդների դեզամինացման ուսումնասիրություն՝ խմորասնկային բջիջները դեցիմետրական տիրույթի ալիքներով ճառագայթահարելիս և հետճառագայթային ռեպարացիայից հետո: Ստացված տվյալները ներկայացված են աղյուսակ 2-ում:

Դեցիմետրական ալիքներով ճառագայթահարված խմորասնկային բջիջներում դիտվում է նուկլեոտիդների դեզամինացման ուժգնության աճ, բացառությամբ ԱԿՖ-ի: Մյուս նուկլեոտիդների՝ ԱՄՖ-ի, ԱԵՖ-ի, ԳԿՖ-ի և ԳԵՖ-ի համար դիտվում է դեզամինացման ուժգնության աճի ընդհանուր տենդենց: Միաժամանակ, ԱԵՖ-ի, ԳԿՖ-ի և ԳԵՖ-ի դեզամինացման ուժգնությունները միմյանցից տարբերվում են աննշան չափով: Պետք է նշել նաև, որ ԱԵՖ-ի դեզամինացման գործընթացում դիտվում է ուժգնության կտրուկ աճ՝ հետքային արժեքից (0.026 մգ N_2/1գ թաց կենսազանգվածում) ԱԵՖ-ի դեզամինացման աստիճանը հասնում է դիտարկված նուկլեոտիդների համար ամենաբարձր արժեքին՝ 1.016մգ N_2/1գ թաց կենսազանգվածում: Հետճառագայթային ռեպարացիայի ենթարկված բջիջներում նույնպես ադենինային նուկլեոտիդների դեզամինացման տեսակետից դիտվում է բոլոր նուկլեոտիդների դեզամինացման ուժգնության նվազում ճառագայթահարման ենթարկված բջիջների համեմատությամբ, սակայն դեզամինացման արժեքները բարձր են մնում չճառագայթահարված բջիջներին բնորոշ ցուցանիշներից, բացառությամբ ԱԿՖ-ի, որի դեզամինացման աստիճանը ռեպարացված բջիջներում ավելի ցածր է չճառագայթահարված բջիջների համեմատությամբ: Ռեպարացված բջիջներում դեզամինացման ուժգ-

նության աճն առավել արտահայտված է ԳԿՖ-ի դեպքում:Այսպիսով, ռեպարացված խմորասնկային բջիջներում դեզամինացման առավել բարձր ուժգնություն ցուցաբերում է ԳԿՖ-ը:

Աղյուսակ 2
Պուրինային միացությունների դեզամինացումը *C. guilliermondii* ՀՊ-4 խմորասնկերում՝ բջիջները դեցիմետրական ալիքներով ճառագայթահարելուց և հետճառագայթային ռեպարացիայից հետո
(մգ N2/1գ թաց կենսազանգված, n=5, p<0.05)

Նուկլեոտիդներ / Տարբերակ	ԱՄՖ	ԱԿՖ	ԱԵՖ	ԳԿՖ	ԳԵՖ
Չճառագայթված խմորասնկեր	0.013±0.001	0.87±0.07	0.026±0.002	0.44 ± 0.03	0.5 ± 0.02
Ճառագայթված խմորասնկեր	0.6 ±0.05	0.424 ± 0.03	1.016±0.1	1.02 ±0.1	1.024 ± 0.09
Ռեպարացված խմորասնկեր	0.35±0.02	0.28 ± 0.01	0.19 ± 0.01	2.33± 0.2	1.33± 0.1

Ամփոփում – Խմորասնկային բջիջներում պուրինային միացությունների դեզամինացման համեմատական ուսումնասիրությունները թույլ են տալիս եզրակացնել, որ պուրինային ազոտային հիմքերը և նուկլեոզիդները խմորասնկային բջիջներում չեն ենթարկվում վերջնական կատաբոլիզմի, այլ ընդգրկվում են նուկլեոտիդների փրկության ուղիներում [5, 6], ինչը հանդիսանում է էներգիայի և ռեսուրսների խնայման յուրօրինակ համակարգ միկրոօրգանիզմների, այդ թվում՝ նաև խմորասնկերի համար: Միլիմետրական և դեցիմետրական ալիքներով ճառագայթահարված խմորասնկերի համար դեզամինացման ուժգնության փոփոխություններ են դրսևորվում պոլիֆոսֆատ-նուկլեոտիդների՝ ԱԿՖ-ի, ԱԵՖ-ի, ԳԿՖ-ի և ԳԵՖ-ի դեպքում, ինչը, հավանաբար, պայմանավորված է էքստրեմալ վիճակում բջջի պոլիֆոսֆատների մետաբոլիզմի ինտենսիվության փոփոխությամբ՝ կապված էներգիայի պահանջարկի փոփոխության հետ: Այսպիսով, միլիմետրական և դեցիմետրական տիրույթի ալիքներով ճառագայթահարված խմորասնկային բջիջներում նշված պոլիֆոսֆատները կատարում են կարևոր հարմարողական ֆունկցիաներ՝ սթրեսին հակազդելու և հետճառագայթային ռեպարացիայի ընթացքում վերականգնողական պրոցեսների էներգետիկ պահանջը լրացնելու ուղղությամբ: Բջիջներում պոլիֆոսֆատ-նուկլեոտիդների դերը հետճառագայթային վերականգնողական պրոցեսներում պարզաբանելու համար պահանջվում են նրանց կատաբոլիզմի, մասնավորապես՝ հիդրոլիզի ակտիվության մանրամասն ուսումնասիրություններ:

Գրականություն

1. *Նավասարդյան Լ.Հ.,Մարության Ս.Վ.* Ռենտգենյան ճառագայթման ազդեցությունը C.guilliermondii ՀՊ-4 խմորասնկային քրոմատինի ֆլյուորեսցենտային ցուցանիշների վրա // Գիտաբժշկական հանդես, 11, 2, էջ 28-32, 2016
2. *Думанский Ю.Д., Сердюк А.М., Лось И.П.* Влияние электромагнитных полей радиочастот на человека Киев, стр.36-38, 2007г.
3. *Марутян С.В., Навасардян Л.А.,Бадалян Г.Г., Шагинян М.А.* Влияние рентгеновского облучения на структуру ДНК дрожжей C.guilliermondii НП-4.//Химия и химическая технология, т.59, вып. 3, стр.90-94, 2016.
4. *Тягин Г.В.* Клинические аспекты облучения СВЧ диапазона,стр.25-29,2002г.
5. Andrew N. Lane, Teresa W.-M. Fan Regulation of mammalian nucleotide metabolism and biosynthesis.//Nucleic Acids Res, 43 (4): p.2466-2485, 2015.
6. *Austin W.R., Armijo A.L., Campbell D.O., Singh A.S., Hsieh T., Nathanson D., Herschman H.R., Phelps M.E., Witte O.N., Czernin J. et al.* Nucleoside salvage pathway kinases regulate hematopoiesis by linking nucleotide metabolism with replication stress.//J. Exp. Med., vol.209, p.2215-2228, 2012.
7. *Shapiro MG, Priest MF, Siegel PH, Bezanilla F.* Thermal mechanisms of millimeter wave stimulation of excitable cells.//Biophysical Journal, vol.104, p.2622–2628, 2013.