

12 Ченцов Ю.С. *Общая цитология*. – М., 2000. – 350 с.

13 Кимеле Э. *Цитологическая диагностика в стоматологии* // - Рига: Звайгзне, 1984. – С. 86-91.

14 Афанасьев Ю.И. *Гистология*. – М.: Медицина, 2002. – 743 б.

15 Юрина Н.А., Торбек В.Э. *Гистология*. – М.: Медицина, 2002. – Б. 466-472.

Резюме

Хроническое воздействие хлористого кадмия приводит к значительному нарушению структурной целостности ткани десны, увеличению межклеточного пространства и снижению объемной плотности десмосомальных контактов, расширению интерстиция, уменьшению интенсивности гемато-тканевого обмена, который вызывает угнетение транспорта лимфы из десны.

Summary

Chronic exposure to cadmium chloride leads to a significant violation of the structural integrity of the gum tissue, an increase of intercellular space and decrease the bulk density desmosomal contacts, expansion of interstitium, reducing the intensity of the blood-tissue exchange, which causes inhibition of transport of lymph from the gums.

УДК 577.151.042+581.19

Турбекова Ш.М., Джолдыбаева Б.С., Алтыбаева Н.А., Бисенбаев А.К.

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ФИТОГОРМОНОВ НА АКТИВНОСТЬ КСАНТИНДЕГИДРОГЕНАЗЫ В АЛЕЙРОНОВОМ СЛОЕ ЗЕРНА ПШЕНИЦЫ (ДГП «Научно-исследовательский институт проблем биологии и биотехнологии» КазНУ им. аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан)

Показано, что ксантиндегидрогеназы (КДГ) продуцируют супероксид-радикал в ходе реализации апоптоза клеток алейрона пшеницы. Полученные результаты указывают на гормональный характер регуляции активности КДГ в алейроновом слое зерна пшеницы. Показано, что под действием гибберелловой кислоты в клетках алейронового слоя зерна пшеницы происходит существенное активация КДГ. Установлено, что действие абсцизовой кислоты в этой модельной системе направлено на задержку ГК зависимой активации КДГ именно на ранних стадиях действия ГК.

Ранее нами выявлены и описаны морфо-биохимические признаки ПГК эндосперма и алейронового слоя зерна пшеницы [1, 2]. Установлена важная роль активных форм кислорода (АФК), таких как супероксид (O), пероксид водорода (H₂O₂), и антиоксидантных ферментных систем (супероксиддисмутаза, аскорбатпероксидаза, каталаза и др.) в механизме реализации ПГК алейронового слоя зерна пшеницы [3].

В растительных системах, наряду с ПОЛ, источником АФК являются процессы фотосинтеза, и поэтому в пластидах развиты разнообразные защитные механизмы против вредных эффектов АФК [4]. Действительно, в растительных системах АФК, образованные в ходе фотосинтеза могут маскировать сигнал или синтез АФК генерированные как часть программы гибели клеток. Электронно-микроскопические исследования показали, что клетки алейронового слоя спелого зерна ячменя лишены фотосинтетических пигментов, пластиды представлены незначительным числом, и они практически лишены внутренней мембранной системы. Отсутствие функционально активного фотосинтетического аппарата исключает участие этого процесса в генерации АФК в алейроновых клетках.

В организме имеются ферменты, которые катализируют прямые реакции между своими субстратами и O₂. Эти реакции включены в различные пути биосинтеза, распада (обезвреживания), в метаболизм ароматических соединений, стероидов. К таким ферментам относятся альдегидоксидаза (КФ 1.2.3.1; АО) и ксантиндегидрогеназа (КФ 1.2.3.2; КДГ).

КДГ катализирует превращение гипоксантина в ксантин и далее в мочевую кислоту, а также окисление ряда птеридинов, альдегидов и имидазолов [5]. При дефиците кислорода ксантиноксидаза функционирует как НАД⁺-зависимая ксантиндегидрогеназа (КФ 1.2.1.37; КДГ), причем механизмы действия этих двух функциональных форм принципиально различаются.

КДГ растений проявляет различную субстратную специфичность. Наибольшим сродством к ксантину и гипоксантину, и слабой аффинностью к пуринам, птеринам и альдегидам [5].

В связи с этим в данной работе мы исследовали возможную роль абсцизовой кислоты (АБК) и гибберелловой кислоты (ГК) в регуляции активности КДГ и возможной роли КДГ в продукции радикалов кислорода в клетках алейронового слоя зерна пшеницы.

В первоначальных экспериментах КДГ алейронового слоя дифференцировали по субстратной специфичности. Для этого белки, полученные из ГК (1мкМ) -обработанных алейроновых тканей фракционировали с помощью нативного ПААГ электрофореза. После электрофореза для выявления активности КДГ гель инкубировали в присутствии ксантина и/или гипоксантина, а для выявления специфичности реакции

в инкубационную среду добавляли 0,4% аллопуринол. Аллопуринол превращается в аллоксантин, который прочно соединяется с субстрат-связывающим центром в домене МоСо, препятствуя, таким образом, дальнейшему взаимодействию фермента с субстратом [6]. В связи с этим аллопуринол является специфическим ингибитором МоСо-содержащей КДГ.

В наших экспериментах при использовании в качестве субстрата, как ксантина, так и гипоксантина, а также в присутствии обоих субстратов на ПААГ была выявлена только одна белковая зона с активностью КДГ. Добавление в инкубационную среду ингибитора КДГ – аллопуринола существенно снизил активность данного фермента.

Известно, что ксантиноксидаза является мощным источником супероксидного радикала (на каждый мономер фермента приходится только 1 молекула ФАД и два железосерных центра, в связи, с чем супероксид может образовываться в избытке), способного индуцировать процессы свободнорадикального окисления с образованием органических гидроперекисей. У млекопитающих КДГ, как правило, переносит электроны на НАД⁺, но также может восстанавливать молекулярный кислород с образованием АФК в присутствии ксантина, гипоксантина или НАДН⁺ в качестве доноров электронов. Показано, что рекомбинантная AtXDH1 арабидопсиса способна переносить 22 % электронов от ксантина на O₂, образуя O₂[•].

Происходит ли генерация O₂[•] при активации КДГ в алейроновом слое зерна пшеницы? Для выяснения этого вопроса нами были проведены специальные опыты по определению образования O₂[•] КДГ алейронового слоя зерна пшеницы прямо на ПААГ.

Известно, что тетразолиевые соли - нитросиний тетразолий (НСТ) и бромид 3 (4, 5-диметилтиазолил-2)2, 5-дифенилтетразолия (МТТ) способны принимать электроны от O₂[•], образованного в ходе окисления НАДН⁺ или НАДФН. Нами были проведены два варианта эксперимента: в первом варианте в качестве акцептора электронов мы использовали МТТ, а в качестве электрон - переносящего промежуточного катализатора - феназин метасульфат (ФМС), в присутствии гипоксантина и ксантина. Во втором варианте в качестве акцептора электронов мы использовали НСТ в присутствии гипоксантина и ксантина. Для определения O₂[•]- продуцирующую активность КДГ в среду добавляли СОД.

Наши эксперименты показали, что добавление СОД (15 ед./мл) значительно снижало активность КДГ при определении по степени восстановления МТТ гипоксантином/ксантином и использовании ФМС в качестве электронпереносящего промежуточного катализатора. В отсутствие ФМС восстановление НСТ ксантином/гипоксантином полностью подавлялось СОД и аллопуринолом. Эти результаты указывают на то, что преципитаты формазана были образованы в ходе реакции восстановления O₂[•], катализированной молибден-содержащим ферментом - КДГ.

Эти результаты указывают на то, что в ходе катализируемой реакции КДГ алейронового слоя зерна пшеницы происходит высвобождение O₂[•].

В последующих экспериментах мы анализировали динамику изменения активности КДГ под действием фитогормонов. Для этого алейроновые слои инкубировали в течение 8, 16, 24, 48 и 72 часов и анализировали активность различных форм КДГ с помощью нативного ПААГ электрофореза. При этом в качестве субстрата для выявления активности КДГ использовали ксантин и гипоксантин. КДГ в присутствии ГК значительную активность проявляла уже после 8 часов инкубации алейронового слоя. Дальнейшее увеличение времени инкубации алейронового слоя в присутствии ГК приводило к существенному усилению активности КДГ. В присутствии ГК на 72 часу наблюдалось снижение активности КДГ. Максимальная активность КДГ наблюдалась на 48 часу инкубации в присутствии ГК.

Инкубация алейронового слоя в присутствии только АБК (5мкМ) приводило к появлению слабой белковой полосы с активностью КДГ только на 24 часу инкубации. При дальнейшем увеличении времени инкубации (48 и 72 часа) приводило к увеличению активности КДГ. При этом необходимо отметить, что активность КДГ в присутствии АБК была значительно ниже по сравнению с действием только ГК. При совместном внесении в инкубационную среду ГК и АБК существенных различий в гормонозависимой активации КДГ по сравнению с предыдущими условиями эксперимента (в присутствии только АБК) обнаружено не было.

Эти результаты показывают, что под действием ГК в алейроновом слое зерна пшеницы происходит активация КДГ. Усиление активности КДГ может увеличивать генерацию.

Наши результаты впервые демонстрируют АФК - генерирующую активность КДГ алейронового слоя зерна пшеницы. Полученные результаты указывают на гормональный характер регуляции активности КДГ в алейроновом слое зерна пшеницы. Нами впервые показано, что активация КДГ являются одним из первичных эффектов ГК в алейроновом слое зерна пшеницы. В присутствии ГК активные формы КДГ непрерывно присутствуют в алейроновом слое зерна пшеницы. Действие АБК в алейроновом слое зерна пшеницы направлено на задержку ГК зависимой активации КДГ именно на ранних стадиях действия ГК.

Литература

- 1 Ванюшин Б.Ф. Апоптоз у растений // Успехи биологической химии. - 2001. - Т. 41. - С. 3-38.
- 2 Бисенбаев А.К., Кениев А.М. Берсимбаев Р.И. Участие ядерных дезоксирибонуклеаз в реализации онтогенетически запрограммированной гибели клеток алейронового слоя зерна пшеницы // Известия НАН РК, серия биологическая. - 2003, вып.5. - С. 35-42.

3 Jiang M., Zhang J. Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defense system and oxidative damage in leaves of maize seedlings // *Plant Cell Physiol.* - 2001. - Vol. 42(11). - P. 1265-1273.

4 Барабой В.А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов // *Успехи современной биологии.* - 1991. - Т. 111. - Вып. 6. - С. 21-28.

5 Montalbini P. Xanthine dehydrogenase from leaves of leguminous plants: purification, characterization and properties of the enzyme // *J. Plant Physiol.* - 2000. - Vol. 156. - P.3-16.

6 Montalbini P. Inhibition of hypersensitive response by allopurinol applied to the host in the incompatible relationship between *Phaseolus vulgaris* and *Uromyces phaseoli* // *J. Phytopathol.* - 1992 (a). - Vol. 134. - P. 218-228.

Тұжырым

Бидай дәнінің алейрон кабаттарының КДГ ферменттерінің белсенділігінің фитогормондар арқылы реттелетіндігі көрсетілді. КДГ ферментінің белсенді күйге көшуіне ГҚ тікелей әсер етеді деп болжауға болады. Ал оның табиғи антогонисті абсциз қышқылы бұл модельдік жүйеде керісінше, КДГ белсенділігін тежеуге бағытталған. Сонымен қатар, аталмыш фермент белсенділігі уақытқа катысты реттеліп отырады.

Summary

For the first time we showed ROS generating activity of xanthine dehydrogenase in aleuronic layer of wheat grain. According to the data activity this enzyme is under regulation of phytohormones. One of primary effects of GA in aleuronic layer is the activation of xanthine dehydrogenase. The enzyme is always in active form in presence of GA. Action of ABA is directed on slowing down activation effect of GA on early steps.

Homziak J.

THE NEED FOR AQUATIC RESOURCES MANAGEMENT PROGRAMS IN KAZAKH UNIVERSITIES (University of Vermont, USA)

Abstract: Kazakhstan is an arid country with limited water resources. These resources are critical for both economic development and for the conservation of the countries natural resources, aquatic and terrestrial. While some of the waters have been damaged in past development, Kazakhstan has begun to make the effort to reverse these trends, from reducing pollution burdens to waterways, to promoting sustainable water use policies, to restoration of the Aral Sea. The responsibility for carrying out these ambitious programs will fall to the students of today. There is an urgent need to increase the knowledge of university students in Kazakhstan about the structure and organization of aquatic, inland marine and associated coastal ecosystems, and to promote their conservation, restoration and sustainable use. Students who have this knowledge area key resource in the sustainable development of Kazakhstan. They form the cadre of future environmental scientists, resource agency staff, teachers, and leaders of business, community and volunteer organizations that will ensure that sustainable development guides the future of Kazakhstan.

Context and Need: Sustainable and science based resource utilization in aquatic and coastal ecosystems in Kazakhstan are articulated in the national conservation strategy, which also lays out how it may be achieved: [1]

- "Preparation of a cadastre of water reservoirs of the Republic determining the significance of its biological resources;

- Provision for complex utilization of biological resources of water eco-systems (on the basis of the cadastre assessment);

- Conducting systematic research on the identification of bioresource reserves and exploitation standards;

- Isolation of reservation plots of the water-coastal eco-systems;

- Conservation of native, especially endemic species within an eco-system".

Education and training in ecology is a priority for Kazakhstan in its transition to sustainable resources management. These efforts to increase of environmental knowledge have begun. Teachers are receiving training to include environmental education elements in pre-university programs. Of particular importance is the "...training of specialists ...to participate in implementation of the scientific, technical and educational programs on... ecology problems and ... in carrying out... managerial activities..." [2].

There is a tremendous need for improved understanding of aquatic ecosystems and resources in Kazakhstan. Kazakhstan has about 30,000 km² of inland waters, with 107 species of fish and an undetermined number of marine and aquatic invertebrates [3]. Kazakhstan contains a large part of the huge west/Central Asian endorhetic basin that includes the Caspian and the two largest lakes in Central Asia – the Aral Sea and Lake Balkash. Such isolated aquatic ecosystems systems, in arid climates, frequently harbor a high degree of endemism [4]. The coastal areas also form important but vulnerable ecosystems. Some important Kazakh examples [5] are the tugai forests in the Ili-Balkash region, the coastal desert along the northern and eastern shores of the Caspian Sea, and the fresh and salt lake marshes of the Naurzum and Korgalzhyn State Nature Reserves.

Freshwater wetlands in Kazakhstan, including lakes and wetlands, comprise a key stopover point and cross-roads for millions of migrating waterfowl on multiple trans-continental flyways. They also provide critical nesting habitat for waterfowl. Steppe lakes of Kazakhstan are affected by dramatic seasonal changes in hydrology, chemistry and biology.