

ЛИТЕРАТУРА

1. Баграмян К.А., Карагулян Э.А., Трчунян А.А. и др. Биолог. журн. Армении, 41, 393-397, 1988.
2. Карагулян Э.А., Гонян С.А., Трчунян А.А. Биофизика, 29, 319-320, 1984.
3. Октябрьский О.Н., Пшеничнов Р.А., Ткаченко А.Г. и др. Микробиология, 50, 467-472, 1981.
4. Октябрьский О.Н., Пшеничнов Р.А. Микробиология, 51, 515-519, 1982.
5. Октябрьский О.Н., Смирнова Т.В., Зеленин Е.Н. Биофизика, 29, 831-834, 1984.
6. Октябрьский О.Н., Смирнова Т.В. Биофизика, 31, 459-463, 1986.
7. Октябрьский О.Н., Смирнова Т.В. Изв. АН СССР. Сер. биол., 4, 616-620, 1986.
8. Работнова И.Л. Роль физико-химических условий (рН и γH_2) в жизнедеятельности микроорганизмов. М., 1957.
9. Работнова И.Л. Микробиология, 52, 166-168, 1983.
10. Трчунян А.А., Дургарьян С.С., Оганджян Е.С. и др. Биол. науки, 12, 82-88, 1986.
11. Bagratyan K.A., Martirosou S.M. FEBS Lett., 246, 149-152, 1989.
12. Bergmeyer H.U. Herausgegeben von Methoden der Enzymatischen Analyse, 1, 624-626, 1974.
13. Durgaryan S.S., Martirosou S.M. Bioelectrochem. Bioenerg., 5, 554-560, 1978.
14. Elferink M.G.L., Hellingwerf K.J., Nano F.E., et al. FEBS Lett., 167, 185-190, 1983.
15. Gibson F., Cox G.B., Downie J.A., et al. J. Biochem., 162, 665-670, 1977.
16. Konings W.N., Elferink M.G.L., Hellingwerf K.J., et al. Environmental Regulation of Microbial Metabolism. N.Y., London, 1984.
17. Martirosou S.M., Petrosian L.S., Trchounian A.A., et al. Bioelectrochem. Bioenerg., 8, 613-620, 1981.
18. Martirosou S.M., Trchounian A.A. Bioelectrochem. Bioenerg., 8, 605-611, 1981.
19. Martirosou S.M., Trchounian A.A. Bioelectrochem. Bioenerg., 11, 29-36, 1983.
20. Martirosou S.M., Trchounian A.A. Bioelectrochem. Bioenerg., 15, 417-426, 1986.
21. Martirosou S.M., Ogandjanian E.S., Trchounian A.A. Bioelectrochem. Bioenerg., 19, 353-357, 1988.
22. Rhoads D.B., Epstein W. J. Biol. Chem., 252, 1394-1401, 1977.
23. Robillard G.T., Konings W.N. Eur. J. Biochem., 127, 597-603, 1982.

Поступила 30.1.1991

Биолог. журн. Армении, 1-2 (49), 1996

УДК 612.017.4-006.6

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ
НЕКОТОРЫХ БИОПОЛИМЕРОВ

А.С. АГАБЯН, Р.А. ЗАХАРЯН, О.Я. ДАВТЯН

Институт молекулярной биологии НАН Армении, 375044, Ереван

В работе проведено сравнительное изучение противоопухолевой активности ряда интерферон-индуцирующих биополимеров. Показано, что двухспиральная РНК, используемая в виде кальциевого преципитата, в отличие от официального препарата нуклеината натрия обладает выраженным противоопухолевым действием. Значительное противоопухолевое действие обнаружено также у эндогенного, выделенного из *Bacillus thuringiensis*. Предполагается, что оба биополимера осуществляют свое противоопухолевое действие посредством стимуляции синтеза эндогенного интерферона.

Կատարվել է ինտերֆերոն-խթանող որոշ բիոպոլիմերների հակաուռուցքային ակտիվության համեմատական ուսումնասիրությունը: Ցույց է տրվել, որ երկպարույրայն ՌՆԹ-ն, օգտագործված կալցիումի նստվածքի չևով, հակառակ պաշտոնապես ընդունված նատրիումի նուկլէինատի պրեպարատի, օժտված է արտահայտված հակաուռուցքային ազդեցությամբ: Ուժեղացնող հակաուռուցքային ակտիվություն հայտնաբերվել է նաև *Bacillus thuringiensis*-ի անջատված էնդոտոքսինի մոտ: Ենթադրվում է, որ երկու բիոպոլիմերներն իրենց հակաուռուցքային ազդեցությունը իրագործում են էնդոգեն ինտերֆերոնի սինթեզը խթանելու միջոցով:

The comparative study of antitumour activity of some interferon induced biopolymers has been worked out. The two-helix RNA used in form of calcium precipitate has an expressed antitumour activity unlike the official preparation of sodium-nucleinate. Significant antitumour activity was revealed for endotoxin obtained from *Bacillus thuringiensis*. Both biopolymers their antitumour action effected by stimulation of endogenic interferon synthesis which was supposed.

ԸՏՐՈՒՄ - нуклеиат натрия - эндотоксин - интерферон - опухолевый рост.

Биополимеры, в частности низкомолекулярные РНК и ряд бактериальных эндотоксинов, являются признанными индукторами интерферона [6,10]. Земсков с соавт. показали широкий спектр биологического эффекта препарата нуклеината натрия [8]. Описана эффективность этого препарата при бронхопневмониях, острых респираторных заболеваниях, язвах желудка, неспецифическом язвенном колите и т.д. [8,9,11]. В настоящее время имеется значительное число сообщений, посвященных биологическим свойствам рибонуклеиновых кислот (РНК), и особенно ее двухспиральной форме (дсРНК). Установлено, что дсРНК обладает высокой интерферониндуцирующей и противовирусной активностью [5,6] и способна заметно усиливать процессы репарации и регенерации тканей [3]. Выраженные биологические свойства обнаружены также у ряда бактериальных эндотоксинов. Так, было показано, что эндотоксины *E.coli*, *S.typhimurium*, *Hemophilus influenzae* являются активными индукторами интерферона [10]. Prasad с соавт. установили, что эндотоксин *B. thuringiensis* обладает способностью подавлять рост асцитной опухоли Йоншида вследствие значительного усиления иммунного ответа организма [12,13]. В то же время нами показано, что эндотоксин *B.thuringiensis* обладает выраженной способностью индуцировать человеческий, иммунный интерферон [4], и поэтому предполагается возможность проявления противоопухолевой активности этого эндотоксина через систему интерферона.

Исходя из вышесказанного, представлялось интересным провести сравнительную оценку противоопухолевой активности дсРНК, нуклеината натрия и эндотоксина *B.thuringiensis*.

Материал и методика. В работе использовали коммерческий препарат нуклеината натрия (НН). Выделение и очистка дсРНК и эндотоксина *B.thuringiensis* описаны нами ранее [2,7]. Гепатому XXII-а (22-а) получили после прививки мышам линии СЗНА 2×10^6 клеток гепатомы, саркому-45 - путем прививки клеток опухоли (2×10^6) крысам линии Август и, наконец, опухоль толстой кишки крыс получили посредством введения животным ДНК, выделенной из аденокарциномы толстой кишки человека. Подробная методика получения опухоли толстой кишки крыс и гистоморфологическая характеристика слизистой оболочки толстой кишки (СОТК) описаны в другой нашей работе [1].

Все препараты вводили животным внутривенно (в/в), дсРНК применяли в виде кальциевого преципитата (Са-дсРНК). Влияние препаратов на рост опухоли определяли в случаях с гепатомой 22-а и саркомой-45 по их весовым характеристикам, а в случае с опухолью толстой кишки - по гистоморфологической картине СОТК животных.

Результаты и обсуждение. В первой серии экспериментов изучали влияние нуклеиновых кислот и эндотоксина на рост гепатомы 22-а и саркомы-45. Нуклеиновые кислоты вводили животным в следующих концентрациях: ИИ-5 мг/мышь и 50 мг/крысу, Са-деРНК-20 мкг/мышь и 100 мкг/крысу, эндотоксин вводили животным в дозе 40 мкг/мышь и 80 мкг/крысу. Результаты этих экспериментов отражены в табл. 1 и 2. Из приведенных таблиц видно, что в результате проведенных исследований установлено значительное ингибирование роста экспериментальных опухолей препаратами РНК. Наиболее выраженное противоопухолевое действие оказали препараты Са-деРНК, введенные животным за 24 ч до трансплантации опухолевых клеток. Развитие опухолей в этом случае подавлялось в среднем на 70%. В то же время введение ИИ животным в том же временном режиме приводило к подавлению роста опухолей лишь на 47%. Введение препаратов РНК через 24 ч после трансплантации опухолевых клеток приводило к уменьшению противоопухолевой активности препаратов почти в 2 раза. Многократное введение препаратов через 24, 48 и 72 ч после трансплантации опухолей не приводило к усилению их противоопухолевого эффекта.

Таблица 1. Влияние Са-деРНК и ИИ на развитие гепатомы 22-а и саркомы-45.

Характер воздействия	Масса опухоли, г			
	гепатома 22-а	% подавления	саркома-45	% подавления
1. Контроль (исключены) (n = 20)	2,07 ± 0,180	+	4,560 ± 0,141	-
2. ИИ				
а) за 24 ч до трансплантации (n = 20)	1,195 ± 0,102 P < 0,05	42,3	2,297 ± 0,201 P < 0,01	50,9
б) через 24 ч после трансплантации (n = 20)	1,472 ± 0,160 P < 0,05	29,1	3,155 ± 0,285 P < 0,05	30,8
3. Са-деРНК				
а) за 24 ч до трансплантации (n = 20)	0,630 ± 0,08 P < 0,01	70	1,189 ± 0,05 P < 0,05	73,9
б) через 24 ч после трансплантации (n = 20)	1,095 ± 0,120 P < 0,01	47,2	2,402 ± 0,117 P < 0,05	47,4

Изучение противоопухолевой активности эндотоксина *B.thuringiensis* проводили по той же схеме. Результаты этих экспериментов суммированы в табл. 2, из которой видно, что подавление роста опухолей эндотоксином эффективно как при введении препарата за 24 ч до трансплантации опухолевых клеток, так и через 24 ч после трансплантации. И в этих экспериментах многократное использование препарата не приводило к усилению противоопухолевой активности.

Таблица 2. Влияние эндотоксина *B.thuringiensis* на развитие гепатомы 22-а и саркомы-45.

Воздействие эндотоксином	Масса опухоли, г			
	гепатома 22-а	% подавления	саркома-45	% подавления
1. Контроль (исключены) (n = 20)	2,130 ± 0,180	+	4,510 ± 0,205	-
2. Эндотоксин				
а) за 24 ч до трансплантации (n = 20)	0,630 ± 0,187 P < 0,01	70,5	1,145 ± 0,03 P < 0,01	74,6
б) через 24 ч после трансплантации (n = 20)	0,700 ± 0,05 P < 0,01	67,2	1,550 ± 0,12 P < 0,01	65,6

Полученные результаты предполагают, что в основе подавления роста экспериментальных опухолей препаратами Са-дсРНК и эндотоксина *B.thuringiensis* лежит индукция эндогенного интерферона у животных. Это предположение подтверждается тем обстоятельством, что высокая степень индукции интерферона различными индукторами, как правило, отмечается при предварительной, до заражения, обработке культуры клеток интерферонотенами.

Следующая серия экспериментов была направлена на изучение влияния препаратов РНК на развитие опухолевого процесса в толстой кишке белых крыс.

В этих экспериментах препараты РНК вводили животным после развития у последних неопластических изменений в СОТК, определяемых гистоморфологическим путем. Препараты РНК вводили животным по следующей схеме: в неделю раз животным вводили 50 мг НН, время лечения - три недели, аналогичный курс лечения проводили с Са-дсРНК, доза препарата - 100 мкг/крысу (разовая доза). Морфологическая характеристика СОТК контрольных и опытных животных приведена в табл. 3.

Таблица 3. Влияние препаратов РНК на развитие опухоли в толстой кишке крыс.

Характер воздействия	Морфологическая характеристика СОТК
1. Контроль (нелеченые) (n = 20)	Губулярная аденома с признаками тяжелой дисплазии и ослизнением
2. НН (n = 20)	Губулярная аденома с признаками тяжелой дисплазии и ослизнением
3. Са-дсРНК (n = 20)	Продифференция эпителия, в криптах сужение межкриптовых перегородок, соединительная ткань представлена фиброзно измененными волокнами и фибробластами

Из приведенной таблицы видно, что Са-дсРНК в отличие от нуклеината патрия оказывает значительный ингибирующий эффект на опухолевую прогрессию в толстой кишке крыс с четким изменением морфологической картины СОТК в сторону нормализации.

Таким образом, проведенные исследования выявили выраженные противоопухолевые свойства дсРНК и эндотоксина *B.thuringiensis*. Полученные результаты позволяют однозначно заключить, что ингибирование роста опухолей в наших экспериментах связано с индукцией эндогенного интерферона примененными препаратами, усилением иммунного ответа животных и повышением неспецифической противоопухолевой резистентности организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агабалян А.С., Давтян О.Я. и др. ДАН Армении, 4, 179-183, 1987.
2. Агабалян А.С., Захарян Р.А. и др. Журн.экспер. и клин. медицины, 6, 559-562, 1985.
3. Агабалян А.С., Назаров Л.У. и др. ДАН Армении, 3, 173-178, 1993.
4. Агабалян А.С., Рухкян Л.А. и др. А.С. СССР, 3875028/28-14/.
5. Буката Л.А., Носик Н.Н. В кн: Изучение индуктора интерферона - двухспиральной РНК в различных биологических системах. 7-17, Рига, 1989.
6. Ершов Ф.И., Носик Н.Н. Антибиотики, 6, 444-448, 1979.
7. Захарян Р.А., Месропян Н.П. и др. Экспер. онкология, 3, 54-56, 1985.
8. Земсков А.М., Провоторов В.М. Антибиотики, 11, 853-855, 1979.

9. Помазян В.А., Пешко В.А. и др. Вест. хирургии, 10, 75-78, 1977.
10. Соловьев В.Д., Бектемиров Т.А. В кн: Интерфероны в теории и практике медицины. М., 1981.
11. Ткач С.М., Бычкова Н.Г. и др. Врач. дело, 9, 58-62, 1989.
12. Prasad S., Jalitha H., Shetna Y. Current science, 42, 568-573, 1973.
13. Prasad S., Shetna Y. Indian J. Exp. Biology, 14, 285-289, 1976.

Поступила 8. IX.1994

Биолог. журн. Армении, 1-2 (49), 1996

УДК 577.5:579.253.4

ВЛИЯНИЕ МУТАЦИЙ КОМПОНЕНТОВ БЕЛОКСИНТЕЗИРУЮЩЕЙ СИСТЕМЫ НА ОБРАЗОВАНИЕ КАПСУЛЯРНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ У *ESCHERICHIA COLI* K-12

Г.Г. ОГАНЕСЯН, А.А. БАРСЕГЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г. Абовян

Изучено влияние мутаций в генах, детерминирующих биосинтез компонентов белоксинтезирующей системы клетки, на сверхсинтез капсулярных полисахаридов (КПС) у *lon* мутантов *Escherichia coli* K-12. Показано, что *ropB* мутации, затрагивающие структуру β -субъединицы РНК-полимеразы, приводят как к увеличению, так и снижению синтеза КПС. Рибосомные же мутации *rpsL* приводят к снижению или полной остановке биосинтеза КПС. Сочетание рибосомных и РНК-полимеразных мутаций в одной клетке усугубляет их действие на образование КПС.

Ուսումնասիրված է բջժի սպիտակուս սինթեզող ապարատի կոմպոնենտների բխոսինթեզը ավյմանավորող գենային մուտացիաների ազդեցությունը, որը *Escherichia coli* K-12-ի *lon* մուտանտների մոտ առաջ է բերում կապսուլյար (պատիճի) բազմաշաքարների (ԿՊՏ) գերսինթեզ: Ցույց է տրված, որ *ropB* մուտացիաները, որոնք ազդում են ՌՆԹ-պոլիմերազի β - ենթամիավորի կառուցվածքի վրա, ավելացնում կամ նվազեցնում են ԿՊՏ սինթեզը: Ռիբոսոմային *rpsL* մուտացիաները առաջ են բերում ԿՊՏ բխոսինթեզի նվազում կամ լրիվ կանգ: Ուսումնասիրված է ՌՆԹ-պոլիմերազի և ռիբոսոմային մուտացիաների համատեղ ազդեցությունը ԿՊՏ առաջացման վրա:

The influence of mutations in genes, determining the biosynthesis of components of protein synthesising system of cell, for overproduction of capsular polysaccharides (CPS) of *lon* mutants of *Escherichia coli* K-12 is studied. The *ropB* mutations effecting on the structure of β -subunits of RNA-polymerase bring to increase or decrease the synthesis of CPS. Ribosomal *rpsL* mutations bring to decrease or stop the biosynthesis of CPS. The combined action of ribosomal and RNA-polymerase mutations on formation of CPS is investigated.

Капсулярные полисахариды - мутация - рибосома - РНК-полимерата.

Биосинтез КПС у *E. coli* K-12 находится под негативным контролем *lon* гена [11,12]. Этот ген детерминирует биосинтез АТФ-зависимой протеазы, избирательно подвергающей протеолизу дефектные и короткоживущие пативные белки клетки, в том числе белки, контролирующие инициацию септообразования и биосинтез КПС колановой кислоты [5,6,9,12]. Мутации в *lon* гене приводят к более чем 100-кратному увеличению биосинтеза колановой кислоты, тогда как биосинтез составляющих ее