



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 2(65), 2013

ԳԱԼԱՐՄԻՆԻ ԵՎ ՆՐԱ ՆՄԱՆՕՐԻՆԱԿՆԵՐԻ ՈՒՂԻՂ ՀԱԿԱՔԱԿՏԵՐԱԿԱՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒՄԸ ՍԻԲԻՐԱԿՏԻ ԲԱՑԻԼՆԵՐԻ ՎՐԱ *IN VITRO* ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Ա.Մ.ԲԱԴԱԼՅԱՆ

ՀՀ ԳԱԱ Հ. Բունիայանի անվան կենսաքիմիայի ինստիտուտ
asya.badalyan@mail.ru

Ուսումնասիրվել է հիպոթալամուսի պրոլինով հարուստ պոլիպեպտիդներ գալարմինի և նրա անալոգների ուղիղ հակաբակտերիական ազդեցությունը *Bacillus anthracis* բակտերիաների վրա *in vitro* պայմաններում: Ցույց է տրվել, որ d-15 գալարմինի և dGx-NH₂-ի որոշակի բաժնեջակներ ազդում են սիբիրախտի բացիլների մորֆոլոգիայի վրա, իսկ վիրուլենտության վրա չեն ազդում:

Պրոլինով հարուստ պոլիպեպտիդ – սիբիրախտ – բացիլ

Исследовано прямое антибактериальное воздействие богатых пролином полипептидов гипоталамуса – галармина и его аналогов на бактерии *Bacillus anthracis* в условиях *in vitro*. Показано, что галармин, а также и его аналоги dGx-NH₂ и d-15 галармина не обладают прямой антибактериальной активностью в условиях *in vitro*.

Богатые пролином полипептиды – сибирская язва – бацилл

Direct antibacterial activity of hypothalamic proline-rich polypeptides galarmin and analogues against bacteria of *Bacillus anthracis* in the *in vitro* conditions was investigated. It was shown that galarmin and its analogues dGx-NH₂ and d-15 galarmin do not have direct antimicrobial activity *in vitro*.

Proline-rich polypeptide – anthrax – bacillus

Դեռևս 1939 թ. Գլադսոնը պարզել է, որ սինթետիկ միջավայրում լեյցինի, վալինի, իզոլեյցինի առկայությամբ նկատվում է սիբիրախտի վակցինային կուլտուրայի փարթամ աճ: Սակայն Նշված ամինաթթուներից յուրաքանչյուրն ունի տոքսիկ ազդեցություն սիբիրախտի բացիլի վրա և ճնշում է նրա աճը: Այդ հատկությունը հատկապես արտահայտված է իզոլեյցինի մոտ: Նա եկել էր այն եզրակացության, որ այդ ամինաթթուները ոչ միայն ունակ են չեզոքացնելու դրանցից յուրաքանչյուրի տոքսիկ ազդեցությունը, այլ նաև խթանելու բակտերիայի աճը: Միաժամանակ ցույց է տրվել նաև, որ լեյցինը և վալինը անփոխարինելի ամինաթթուներ են սիբիրախտի բացիլների համար [3]:

Հաստատված է, որ Գալոյանի կողմից հիպոթալամուսի նեյրոսեկրետոր գրանուլներից անջատված գալարմինը (Ala-Gly-Ala-Pro- Glu-Pro-Ala-Glu-Pro-Ala-Gln-Pro-Gly-Val-Tyr) դրսևորում է մեծ ազդեցություն մի շարք գրամ դրական և գրամ բացասական միկրոօրգանիզմներով պայմանավորված ինֆեկցիաների նկատմամբ (*Salmo. Typhimurium*, *Salmonella cholerae suis*, *Salm. typhi*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *B. anthracis*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*) [1-5]: Գալոյանին հաջողվել է նաև կենդանիների հիպոթալամուսում բացահայտել նոր անալոգ Gx-NH₂ –ը, որը կազմված է 10 ամինաթթվային մնացորդից (Ala- Pro- Glu-Pro-Ala-Glu-Pro-Ala-Gln-Pro- NH₂), և որտեղ վերջին պրոլինը ամիդացված է:

Այս հետազոտության նպատակը գալարմինի և նրա անալոգների ուղիղ հակաբակտերիալ ազդեցության ուսումնասիրումն է *Bacillus anthracis* բակտերիայի վրա *in vitro* պայմաններում՝ ստանալու այն պատասխանը, ունեն արդյոք վերոնշյալ նյութերն ուղղակի ազդեցություն, թե դրանց ազդեցությունը պայմանավորված է իմունամոդուլյատոր հատկությամբ:

Նյութ և մեթոդ: Հետազոտության համար օգտագործվել է հակասիբիրախտային թիվ 55 վակցինային շտամը (սերիան՝ 10-08; 01.10.2008, Россия, 601120, г. Покров): Գալարմինի և նրա անալոգների ուղիղ հակաբակտերիալ ազդեցությունը *Bacillus anthracis* բակտերիայի վրա ուսումնասիրվել է բակտերետոսկոպիկ և բակտերեոլոգիական եղանակով: Հետազոտական աշխատանքների ընթացքում սիբիրախտի վակցինային մանրէների քանակությունը որոշվել է օպտիկական ստանդարտների միջոցով և մանրաբանական եղանակով:

2-ական մլ մսապատոհմային ազարակի մեջ լցվել են գալարմին, d15-գալարմին և Gx-NH₂ կենսապատրաստուկները համապատասխանաբար 8, 16 և 32-ական մկգ բաժնեչափերով և 1 ժ ենթարկել ինկուբացիայի՝ վերջիններս ազարակի մեջ դիֆուզվելու նպատակով: Այնուհետև 4-5 օրվա կիսապարավորված վակցինային շտամից պատրաստվել է 100 մլ նոսրացմամբ կախուկ և 0.25 մլ (25 մլն սպոր) տեղափոխվել փորձանոթների մեջ: Արդյունքները դիտարկվել են 24, 48 և 72 ժ կտրվածքով:

Արդյունքներ և քննարկում: *In vitro* պայմաններում ուսումնասիրվել է նվազագույն մահացու բաժնեչափով սիբիրախտի պատվաստանյութի մանրէների կայունությունը 8, 16 և 32 մկգ բաժնեչափերով գալարմին, d15-գալարմին և Gx-NH₂ կենսապատրաստուկների նկատմամբ (աղ. 1):

Աղ. 1. Գալարմինի, d-15 գալարմինի և dGx-NH₂-ի ազդեցությունը սիբիրախտի թիվ 55 վակցինային շտամի բացիլների վրա *in vitro* պայմաններում

Ժամ	dGx-NH ₂			Գալարմին			d-15գալարմին			Ստուգիչ	
	8, մկգ	16, մկգ	32, մկգ	8, մկգ	16, մկգ	32, մկգ	8, մկգ	16, մկգ	32, մկգ	պոզիտիվ	նեգատիվ
24	++++	++++	++	+	+++	++++	+++	+++	++++	++++	-
48	++++	++++	++	++++	+++	++++	+++	+++	++++	++++	-
72	++++	++++	++++	++++	+++	++++	++++	++++	++++	++++	-

Ծանուցում.

Պոզիտիվ ստուգիչ՝ սիբիրախտ, նեգատիվ ստուգիչ՝ արգանակ

++++

սիբիրախտի բացիլների փարթամ աճ

++

սիբիրախտի բացիլների ընկճված աճ

+

սիբիրախտի բացիլների ձևափոխված աճ

-

սիբիրախտի բացիլներ չկան

Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ 24 ժ հետո 32 մկգ բաժնեչափով dGx-NH₂-ի ազդեցությամբ սիբիրախտի բացիլների աճը ընկճված է, շղթան ավելի բարակած ի տարբերություն ստուգիչի, որտեղ կա շղթայի փարթամ աճ, իսկ 8 մկգ գալարմինի ազդեցությամբ սիբիրախտի բացիլները ձևափոխվում են (նկ.1): 72 ժ ընթացքում բոլոր տարբերակներում դիտարկվում է փարթամ աճ, սակայն 8 մկգ գալարմինի ազդեցությամբ սիբիրախտի բացիլները դեռևս մորֆոլոգիապես ձևափոխված են (նկ.4): Նեգատիվ ստուգիչում բացիլներ չկան, իսկ պոզիտիվում՝ ընդհակառակը (նկ.2, 3):



ա)

բ)

գ)

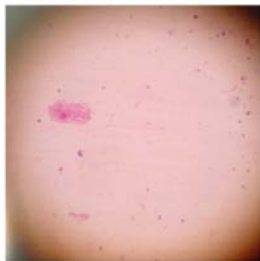
Նկ.1. ա) Սիբիրախտի բացիլների աճը 24 ժ ընթացքում (X 630)

բ) Սիբիրախտի բացիլների աճը 32 մկգ dGx-NH₂ -ի ազդեցությամբ 24 ժ ընթացքում (X 630)

գ) Սիբիրախտի բացիլների աճը գալարմինի ազդեցությամբ 24 ժ ընթացքում (X 630)

Փորձի հաջորդ փուլում մանրէների կենսունակությունը ստուգելու նպատակով 32 մկգ բաժնեչափով dGx-NH₂ և 8 մկգ բաժնեչափով միջավայրերից 0.5 մլ են ներարկվել է 18-20 օր մարմնի միջին զանգվածով 10 ոչ գծային սպիտակ արու մկան: Նույն ծավալով ներարկվել է նաև ստուգիչից և արգանակ (նկ. 2,3): Արդյունքում վարակված կենդանիները սատկել են 3-րդ օրը, բացառությամբ այն կենդանիների, որոնց ներարկվել է 32 մկգ բաժնեչափով dGx-NH₂ և 8 մկգ բաժնեչափով գալարմինի միջավայրից:

Դրանք դիմակայել են 1-2 օր ավել: Արգանակ ներարկված կենդանիները չեն սատկել: Փորձարկվող կենդանիները պահվել են էթիկայի սկզբունքներին համապատասխան:



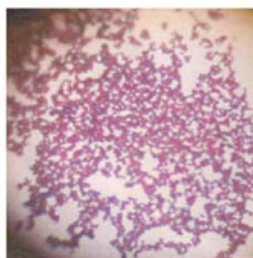
Նկ.2. Նեգատիվ ստուգիչ



Նկ. 3. Պոզիտիվ ստուգիչ



ա)



բ)

Նկ. 4. ա) Սիբիրախտի բացիլների 72 ժ աճեցվածք
բ) Սիբիրախտի բացիլները գալարմինի ազդեցությամբ 72 ժ ընթացքում

Այսպիսով, պարզվել է, որ փորձանոթային պայմաններում գալարմինը և dGx-NH₂-ը ազդում են սիբիրախտի բացիլների մորֆոլոգիայի վրա, իսկ վիրուլենտության վրա ազդեցություն չունեն:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Априкян В.С., Галоян А.А.* Антибактериальная активность нового гипоталамического полипептида. Докл. НАН РА. 99, 4, с. 367-371, 1999.
2. *Априкян В.С., Галоян А.А.* Гипоталамический полипептид предохраняет от гибели мышей при их заражении грам-отрицательными бактериями. Нейрохимия, 17, 1, с. 60-63, 2000.
3. *Колесов С.Г.* Сибирская язва. М., "Колос". с.22, 1976.
4. *Galoyan A.A.* Brain Neurosecretory Cytokines: Immune Response and Neuronal Survival. Kluwer Academic. Plenum Publishers, New York, p. 188, 2004.
5. *Galoyan A.A.* The brain immune system: Chemistry and biology of the signal molecules. Handbook of Neurosecretory and Molecular Neurobiology, 3rd ed., (Editor in chief-Professor Abel Lajtha), Neuroimmunology (eds. A. Galoyan, and H. Besedovsky), p. 155-195, 2008.
6. *Galoyan A.A., S.L. Grigoryan, K.V. Badalyan.* Neurochemical Research, 31, 6, 795-803, 2006.

Ստացվել է 15.04.2013

«ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆՐԱՅՆ» -ի էլեկտրոնային տարբերակը
և հեղինակների համար կանոնները գետեղված են հետևյալ կայքէջում
<http://www.flib.sci.am/eng/Biology/>

Հրատ. պատվերի դ 443
Ստորագրված է տպագրության՝ 25.05.2013 :
Թուղթը՝ օֆսետ. № 1:
8 տպ.մամուլ: Տպաքանակ՝ 150 :
ՀՀ ԱԱ «Գիտություն» հրատարակչության տպարան:
0019, Երևան, Մարշալ Բաղրամյան պ. 24: