կարցինոսարկոմայի (ՈԿ) վրա։ Բացահայտված է, որ ՊԷ օժտված է հակաուռուցքային հատկություններով։ Մեր փորձերի ընթացքում ՄՌԹ չի ազդում ՈԿ աճի վրա, սակայն արագացնում է ՊԼ աճը։ Երկու գործոնների զուգորդված ազդեցության ժամանակ ՄՌԹ նվազեցնում է ՊԷ հակաուռուցքային հատկությունները։ Այդ տվյալները հաստատվում են իմունոլոգիական և բիոքիմիական որոշ փորձերով։

L. N. Mkrtchian, A. K. Nersessian, G. A. Abrahamian, K. A. Alexanian, Z. R. Ter-Poghossian

The Influence of Human Navel Cord Extract and Microwave Resonance Therapy on the Growth of Two Rat Transplantable Tumors

It has been studied the influence of human navel cord extract (CE) and microwave resonance therapy (MRT) on the growth of two rat transplantable tumors—Plis' lymphosarcoma (PL) and Walker's carcinosarcoma (WC). It has been shown that CE had antitumoral properties. MRT stimulated the growth of PL and had no influence on the growth of WC. These results were confirmed by some biochemical and immunological reactions.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Биняшевский Э. В., Бундюк Л. С., Кузьменко А. П.* и др. Тез. докл. I Всесоюзн. симпозиума. Киев, 1989, с. 150. 2. *Мкртчян Л. Н., Ситько С. П., Шукурян С. Г.* и др. Там же, с. 315. 3. *Мкртчян Л. Н., Тер-Погосян З. Р., Нерсесян А. К.* и др. Экспериментальная и клиническая онкология, вып. 1. Матер. научной конф. ОНЦ МЗ Армении. Ереван, 1979, с. 63. 4. *Мкртчян Л. Н., Тер-Погосян З. Р., Нерсесян А. К.* и др. Вопр. онкологии, 1990, 36, 8, с. 356. 5. *Соловьев И. Е., Кузьменко А. П., Пана С. В., Тофан А. В.* Тез. докл. VIII съезда онкологов УССР. Киев, 1990.

УДК 616.345—006

К. Б. Назарян, А. П. Макарян, Е. О. Никогосян, А. С. Агабалян

АКТИВНОСТЬ РЕГУЛЯТОРНЫХ И НЕРЕГУЛЯТОРНЫХ ГЛИКОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ПРИ ОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ТОЛСТОЙ КИШКИ

Рядом авторов установлено изменение активности гликолитических ферментов при малигнизации, которое позволило использовать их в диагностике [3, 6, 11, 12]. В основном это касается изучения регуляторных ферментов гликолиза—гексокиназы, фосфофруктокиназы, пируваткиназы, альдолазы и лактатдегидрогеназы. С другой стороны, в последнее время накопились данные в пользу диагностической ценности и нерегуляторных ферментов, таких как енолаза, при нейробластоме и раке легкого [4, 8—10].

Все вышеуказанные ферменты, за исключением лактатдегидрогеназы, практически не изучены при патологии толстой кишки. Поэтому целью настоящей работы явилось систематическое изучение активности регуляторных и нерегуляторных ферментов гликолиза при полипах и злокачественных новообразованиях толстой кишки.

Материалы и методы

В работе использовались ткани толстой кишки больных, полученные после ее резекции по поводу аденокарциномы и полипэктомии; в качестве контроля применялась относительно здоровая слизистая, взятая на расстоянии 15—20 *см* от опухоли или полипа, а также биоптаты, взятые у больных геморроем. Ткани гомогенизировали в 5 объемах 50 *мМ* трис HCl буфера с 3 *мМ* $MgCl_2$, pH 8 (буфер А) и центрифугировали 30 *мин* при 20000 g. В качестве источника ферментов использовали надосадочную фракцию. Активность гексокиназы, фосфофруктокиназы, пируваткиназы, фосфоглицераткиназы и енолазы определяли спектрофотометрически по методам, описанным ранее [2]. Удельную активность ферментов выражали в *мкм* продукта на *мг* белка в *мин*, белок определяли по Bradford [5]. Для фракционирования енолазы использовали колонку с ДЭАЭ-целлюлозой ДЕ-32 «Whatman» (Англия) объемом 5 *мл*, уравновешенной буфером А. Белки, связавшиеся с матриксом колонки, элюировали тем же буфером, содержащим 0,6 *М* NaCl. Для определения элюционных объемов $\alpha\alpha$ и $\alpha\alpha+\gamma\gamma$ фракций енолазы в конкретных условиях описанного эксперимента использовали экстракт растворимых белков головного моза крысы, обработанного аналогично ткани толстой кишки.

Результаты экспериментов обрабатывали статистически по t-критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Как видно из таблицы, активность изученных ферментов, за исключением енолазы, по сравнению с контролем достоверно не изменяется. Это, вероятно, можно объяснить тем, что активность регуляторных ферментов измеряли при значениях pH, при которых они функционируют по типу гиперболической кинетики и слабо подвержены влиянию аллостерических эффектов (фосфофруктокиназа и пируваткиназа). Фосфоглицератмутаза, как и вышеупомянутые ферменты, функционирующая по типу «равновесного», тоже не меняет своей активности. Из этой группы выделяется енолаза, активность которой достоверно возрастает при злокачественном процессе. Из литературных данных хорошо известно диагностическое значение повышения концентрации ее изофермента—$\gamma\gamma$ (нейронспецифическая енолаза) или $\beta\beta$ (енолаза, характерная для скелетных мышц) при раке легкого и мышечных патологиях соответственно [7, 9, 13]. Показано, что содержание нейроноспецифической енолазы возрастает лишь при мелкоклеточном раке легкого, что вполне понятно, так как эти клетки аналогично нейронам имеют нейроэктодермальное проис-

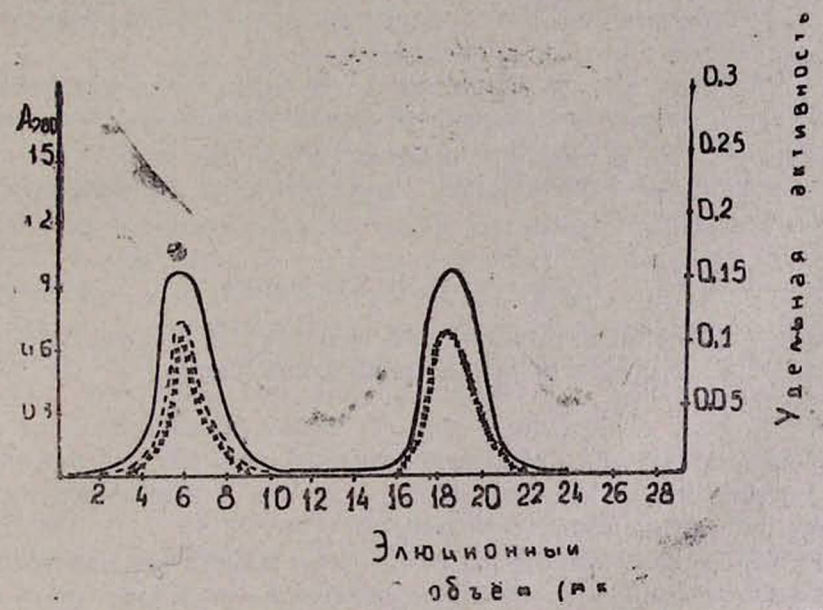
хождение. Поэтому мы предположили, что и в этом случае меняется ее изоферментный спектр и в процессе малигнизации синтезируются изоформы, характерные для злокачественного процесса.

Удельная активность (в *мкМ* продукта на *мг* белка/*мин*) гликолитических ферментов в норме и при патологии

Объект исследования	Гексокиназа	Фосфофруктокиназа	Пируваткиназа	Фосфоглицератмутаза	Енолаза
Норма	0,4±0,15	0,1±0,06	0,5±0,05	0,7±0,08	0,41±0,08
Полип	0,42±0,08	0,12±0,05	0,5±0,06	0,72±0,1	0,43±0,08
Опухоль	0,5±0,1	0,16±0,09	0,53±0,08	0,69±0,09	0,63±0,06

Примечание. $p<0,001$, $n=10$.

Ранее нами было показано, что изоферменты енолазы легко отделяются один от другого на колонке с ДЭАЭ-целлюлозой при pH 7,5 элюцией линейным градиентом NaCl [1]. Как видно из рис.,



Фракционирование экстракта водорастворимых белков тканей толстой кишки и головного мозга крысы. —— поглощение при 280 *нм*, — — — енолазная активность экстракта толстой кишки, * * * енолазная активность экстракта головного мозга.

при фракционировании экстракта головного мозга крысы элюция стартовым буфером дает $\alpha\alpha$ изофермент, а второй этап—ступенчатая элюция 0,6 *М* NaCl дает при этом смесь изоферментов $\alpha\gamma+\gamma\gamma$. Экстракты толстой кишки как больных, так и здоровых людей выявляют только один пик енолазной активности, позволяющий заключить, что они содержали только изофермент с субъединичным составом $\alpha\alpha$. Следовательно, при злокачественном процессе в толстой

кишке изменений в изоферментном спектре нет, а лишь возрастает активность αα енолазы. Поскольку в доступной литературе нет примеров положительных эффекторов для енолазы, то можно предположить усиление биосинтеза de novo. Так как известно, что αα енолаза характерна как для эмбриональных, так и для целого ряда высокодифференцированных тканей, то на основании одного лишь повышения ее активности невозможно определить степень дедифференцированности ткани толстой кишки при процессе малигнизации. Практическая же ценность полученных результатов заключается в доступности и быстроте экспресс-анализа биоптатов на енолазу с целью уточнения диагноза.

Институт экспериментальной биологии
АН РА, НИИ проктологии
МЗ РА

Поступила 10/X 1990 г.

Կ. Բ. Նազարյան, Ա. Պ. Մակարյան, Ե. Հ. Նիկողոսյան, Ա. Ս. Աղաբալյան

ԿԱՐԳԱՎՈՐԻՉ ԵՎ ՈՉ ԿԱՐԳԱՎՈՐԻՉ ԳԼԻԿՈԼԻՏԻԿ ՖԵՐՄԵՆՏՆԵՐԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ ՀԱՍՏ ԱՂՈՒ ՈՒՌՈՒՑՔԱՅԻՆ ՀԻՎԱՆԴՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԴԵՊՔՈՒՄ

Ուսումնասիրվել է գլիկոլիկտիկ կարգավորիչ (պիրուվատկինազ, հեքսոկինազ), և ոչ կարգավորիչ (էնոլազ, ֆոսֆորգլիցերատմուտազ) ֆերմենտների ակտիվությունը հաստ աղու հյուսվածքներում։

Ցույց է տրված էնոլազի ակտիվության աճը հաստ աղու մալիգնիզացիայի ընթացքում։ Ջրալուծ սպիտակուցների ֆրակցիոնավորումը DEAE ցելյուլոզի միջոցով հայտնաբերեց էնոլազային ակտիվության մեկ պիկ, որը համապատասխանում է իզոֆերմենտին։ Այլ ֆերմենտների ակտիվության փոփոխություն չի նկատվել։

K. B. Nazaryan, A. P. Makarian, E. H. Nikoghossian, A. S. Aghabalian

The Activity of Regulatory and Nonregulatory Glycolytic Enzymes in the Large Intestine Tumors

The activity of regulatory (pyruvate kinase, hexokinase) and nonregulatory (enolase, phosphoglycerate mutase) glycolytic enzymes in the large intestine tissues has been studied. Increase of enolase activity during intestine malignization was observed.

DEAE-cellulose fractionation of the water soluble proteins from large intestine with tumors and without as well revealed only one isozyme of enolase, corresponding to alpha one. The activity of other enzymes was not changed.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Назарян К. Б., Карапетян Н. Г., Казарян Б. А.* Нейрохимия, 1985, 4, 2, с. 410. 2. *Назарян К. Б., Геворкян Э. С., Каграманян М. С.* и др. Нейрохимия, 1987, 6, 4, с. 565. 3. *Филиппова В. И., Лецкий В. Б., Смирнова Е. В.* Вопросы онкологии 1984, 30, 7, с. 12. 4. *Anastasiades D. K., Mullins R. E., Conn R. B.* Am. J. Clin. Pathol., 1987, 87, 2, 245. 5. *Bradford M. E.* Anal. Biochem., 1976, 72, 1, 248. 6. *Bustamante E., Morris H. P., Pedersen P. L.* J. Biol. Chem., 1981, 256, 16, 8699. 7. *Carney D. N., Maraujos P. I., Ihde D. C.* Lancet, 198 , 8272, 583. 8. *Denis-Poux-*

viel C., Riesienger E. I., Buhler C., Brdiczka D., Murat I. Biochem. Biophys. Acta, 1987, 902, 2, 335. 9. Gerbitz K. D. J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 1986, 24, 12, 1009. 10. Hennipman A., Van Oirschot B. A., Smits I., Rijksen G., Staal G. Tumor. Biol., 1988, 9, 5, 241. 11. Os Kam R., Van Eis C. A., Rijksen G. et al. Tumor Biol., 1985, 6, 1, 75. 12. Reinacher M., Eigenbrodt E., Gerbracht U. Carcinogenesis, 1986, 7, 8, 946. 13. Schmidt E., Schmidt F. Adv. Clin. Enzymol., 1979, 2, 239.

УДК 616.631:577.112.3

А. С. Оганесян, Ж. С. Геворкян, А. А. Саакян, С. Г. Минасян

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И ДЕЗАМИНИРОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ В ПОЧЕЧНОЙ ТКАНИ

Одним из важных путей метаболических превращений аминокислот является их дезаминирование. В этих процессах центральное место отводится глутамат-глутаматдегидрогеназе [1, 2]. В литературе имеются сообщения о том, что в корковом слое почек, помимо глутаматдегидрогеназы, функционируют также ферменты, принимающие участие в процессах дезаминирования L-аспартата и L-орнитина [3]. Показано, что дезаминирующая активность этих ферментов тесно связана с интактностью мембран почечных клеток и с аэробными условиями (в гипоксических условиях интенсивность этих процессов резко снижается). Известно, что в гипоксических условиях в значительной мере усиливаются процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ), протекающие в пределах клеточных мембран и приводящие к повреждению их тонкой структуры [4, 5, 8].

Учитывая вышеизложенное, мы задались целью изучить влияние процессов ПОЛ на интенсивность дезаминирования некоторых L-аминокислот (глутамат, аспартат, орнитин).

Материал и методы

Опыты ставили со срезами коркового слоя почек (по 100 *мг*) белых крыс. Инкубацию проводили в Кребс-Рингер-бикарбонатном буфере—2 *мл*, pH 7,4, в атмосфере высокого ($95\%O_2 + 5\%CO_2$) и низкого (воздух) парциального давления кислорода в течение 60 *мин* при 37°С. Аминокислоты добавляли по 16 *мкмоль* на пробу. Образовавшийся из аминокислот аммиак определяли микродиффузионным методом по Conway [7], интенсивность процессов ПОЛ—методом Ю. А. Владимирова и А. И. Арчакова [5]. С целью подавления развития ПОЛ к определенным пробам добавляли гомогенат (10%—1 мл) слизистой оболочки желудочной и кишечной (тонкой) тканей (которые, как показали наши прежние исследования, обладают высокой антиоксидантной активностью), а также известный антиоксидант α-токоферол (α-ТФ—0,5 *мг/мл*).