

ՄՈՒԵԿՈՒՆԱՅԻՆ ԿԵՆՍԱԲԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

ՀՏԴ [57+61]:539.1.04:577.123.383:34.49.47

ՀՀ ԳԱԱ թղթակից անդամ Ժ. Ի. Հակոբյան, Լ. Ս. Ներսեսովա,
 Ս. Ս. Պետրոսյան, Ս. Գ. Գազարյանց

**Ca-մոդիֆիկացված երկպարույր ՌՆԹ-ն՝ որպես
 ռադիոպաշտպանիչ միջոց**

(Ներկայացված է 14/IV 2017)

Առանցքային բառեր. *Ca-մոդիֆիկացված երկպարույր ՌՆԹ (Ca-dsՌՆԹ), ռադիոպաշտպանիչներ, իոնիզացնող ճառագայթում, ապրել-ունակություն, Կապլան-Մեյերի ապրելունակության մոդել:*

Ներկայումս գոյություն ունեցող քիմիական ռադիոպաշտպանիչների կողմնակի տոքսիկ էֆեկտները և բնական ծագման ռադիոպաշտպանիչների ազդեցության կարճ տևողությունը հիմք հանդիսացան կենսաբանական ծագման միացությունների ռադիոպաշտպանիչ հատկությունների ուսումնասիրության համար: Բուսական ծագման մի շարք ռադիոպաշտպանիչներ, ինչպիսիք են օրինակ՝ *Aloe Vera*-ն, քրքումը (*curcumin*) ունեն կողմնակի էֆեկտներ, որոնք մասնավորապես կարող են դրսևորվել ալերգիկ ռեակցիաներով և մարսողական համակարգի խանգարումներով [1-3], իսկ քիմիական ռադիոպաշտպանիչների կիրառումը հաճախ սահմանափակվում է նրանց բարձր տոքսիկության, արտահայտված կողմնակի էֆեկտների պատճառով, ինչի մասին հիշատակվում է մի շարք հեղինակավոր ամսագրերում [4]: Բնական ռադիոպաշտպանիչներն այն նյութերն են, որոնք ունեն առավել մեծ պաշտպանիչ էֆեկտ ճառագայթումից որոշ ժամանակ առաջ ներմուծման դեպքում: Կենսաբանորեն ակտիվ նյութերի ոլորտում վերջին տասնամյակների ուսումնասիրություններով հայտնաբերվել է Ca-dsՌՆԹ-ի արտակարգ կարևոր դերն անբարենպաստ ազդեցությունների նկատմամբ օրգանիզմի ռեզիստենտության կարգավորման և իմունոդեֆիցիտ վիճակների շտկման հարցում: Այս էֆեկտների հիմքում ընկած են օրգանիզմում ինտերֆերոնի ակտիվ խթանման մեխանիզմները [5, 6]: Նրանք ունակ են հանդես գալու որպես

իմունոմոդուլյատորներ, պատվաստման դեպքում՝ իմունոադյուվանտներ, հակամուտագեններ և ռադիոպաշտպանիչ հատկություններ ունեցող միացություններ [7,8]: Կենսաբանորեն ակտիվ նյութերի հիման վրա պատրաստուկների ստեղծումը, որոնք ունակ են առանց տոքսիկ ազդեցություն թողնելու բարձրացնել օրգանիզմի ռադիոռեզիստենտությունը, հակաճառագայթային պաշտպանության արդյունավետ միջոցների որոնումներում հեռանկարային ուղղություն է: Քանի որ իմունային դիստեգուլյացիան որոշիչ դեր է խաղում ռադիացիոն սթրեսի պայթոզներում, տեսական և գործնական հետաքրքրություն էր ներկայացնում մեր լաբորատորիայի կողմից ստեղծված (ՀՀ ԳԱԱ մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտ, մոլեկուլային էնզիմաբանության լաբորատորիա) բարձր արդյունավետությամբ օժտված պատրաստուկի՝ Ca-մոդիֆիկացված երկպարույր ՌՆԹ-ի ռադիոպաշտպանիչ հատկությունների ուսումնասիրությունը:

Նյութեր և մեթոդներ: Ca-dsՌՆԹ-ն կարելի է ստանալ նատրիումի նուկլեինատից («Բիոսինթեզ» ԲԲԸ, ք. Պենզա, ՌԴ) կամ անջատել *Saccharomyces cerevisiae* քիլլերային խմորասնկերից՝ Ca-ով նրա հետագա մոդիֆիկացումով [6]: Պատրաստուկը ջրում հեշտ լուծվող դեղնամոխրագույն փոշի է: Այն պարունակում է 13.6% ազոտ (N), 7.8% ֆոսֆոր (P), 01գ սպիտակուց՝ ըստ չոր զանգվածի, N/P հարաբերակցությունը կազմում է 1.74: Ca-ով մոդիֆիկացիան կատարվել է կալցիումի քլորիդի ստերիլ լուծույթի ավելացմամբ, մինչև 40 բոլորի ընթացքում կայուն օպալեսցենցիայի ի հայտ գալը: Լուծույթում պատրաստուկն ակտիվ է 30 օր 4-10 °C ջերմաստիճանում: Ինտերֆերոնի ինդուկտորը (պայմ. անվանումը՝ իմունամոդուլյատոր), որը պարունակում է *Saccharomyces cerevisiae* քիլլերային խմորասնկերից անջատված երկպարույր ՌՆԹ-ի Ca-ձևափոխված ածանցյալը, մեր կողմից նախկինում օգտագործվել է որպես կանխարգելիչ միջոց խոշոր եղջերավոր անասունների դաբաղի և ընտանի թռչունների նյութապի հիվանդության դեմ [9, 10]: Տվյալ աշխատանքի նպատակը Ca-dsՌՆԹ-ի ռադիոպաշտպանիչ հատկությունների ուսումնասիրությունն է 630Ռ միանվագ ընդհանուր իոնիզացնող ճառագայթման ժամանակ:

Փորձերն իրականացվել են սպիտակ, 200-220 գ քաշով 40 արու առնետների վրա: Կենդանիները պահվել են ստանդարտ սննդակարգով, նրանց ամենօրյա կերաբաժինը պարունակել է սպիտակուցներ, ճարպեր, ածխաջրեր և վիտամիններ: Փորձնական խմբի կենդանիներին իոնիզացնող ճառագայթումից 24 ժ առաջ ներորովայնային ներարկվել է ստերիլ 1մլ թորած ջրում լուծված Ca-dsՌՆԹ՝ 40 մգ/200 գ կենդանու կշռին դրոպով, իսկ համապատասխան ստուգիչ խմբի կենդանիներին՝ կալցիումի քլորիդի լուծույթ:

Իոնիզացնող ճառագայթումը կատարվել է ՀՀ ԱՆ Ճառագայթային բժշկության և այրվածքների գիտական կենտրոնում: Խմբերում հավասարաչափ բաշխված կենդանիները (n=20) ենթարկվել են միանվագ ընդհանուր ճառագայթման "PVM-17" ռենտգենյան սարքի միջոցով՝ 630 R սուբլետալ դոզայով, $L_{50/30}$ -630 R (դոզայի հզորությունը՝ 178Ռ/րոպե, լարումը՝ 200 կՎ, հոսանքի ուժը՝ 20 մԱ, Cu-Al ֆիլտր, կիզակետային հեռավորությունը՝ 50 սմ): Կենդանիների ապրելունակությունը դիտարկվել է իոնիզացնող ճառագայթումից հետո՝ 30-օրյա ժամկետում (դիտարկման ժամանակահատված): Տվյալների վիճակագրական մշակման համար կիրառվել է SPSS STATISTICS 16 ծրագրային փաթեթի Կապլան-Մեյերի ապրելունակության մոդելը: Տվյալները համարվել են հավաստի $p < 0,05$ -ի դեպքում:

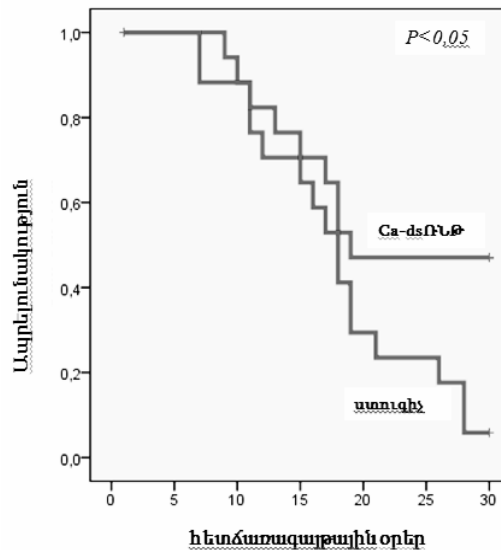
Ստացված արդյունքները և դրանց քննարկումը: Ca-մոդիֆիկացված dsԲՆԹ-ն օժտված է բարձր կենսաբանական ակտիվությամբ. այս առավելությունը պայմանավորված է նրա՝ մեմբրանով ներթափանցելու հատկությունների բարձրացմամբ և էնդոնուկլեազների նկատմամբ կայունությամբ՝ շնորհիվ Ca^{2+} իոնի առկայության [9-13]: Քանի որ շնորհիվ Ca-ով մոդիֆիկացիայի Ca-dsԲՆԹ-ի թափանցելիությունը բարձր է, ուստի առավել արձյունավետ է նաև յուրացվում ներմուծվող պատրաստուկի դոզան: dsԲՆԹ-ի արտակարգ կարևոր դերը օրգանիզմի ռեգիստենտության կարգավորման համար պայմանավորված է նրա էնդոգեն β ինտերֆերոնի ակտիվ խթանումով:

Ca-dsԲՆԹ-ի ռադիոպաշտպանիչ էֆեկտը իոնիզացնող ճառագայթման ժամանակ ցույց է տրվել առաջին անգամ: Կապլան - Մեյերի ապրելունակության մոդելի միջոցով ստացված վիճակագրական տվյալները ներկայացված են աղյուսակում և նկարում:

Ստուգիչ և փորձնական խմբերի կենդանիների ապրելունակությունը ճառագայթումից հետո՝ 30-օրյա ժամկետում

Կենդանիների խմբեր	Կենդանիների քանակը	Ca-dsԲՆԹ-ի ռադիոպաշտպանիչ հնարավորությունները																													
		Կենդանիների ապրելունակությունը դիտարկման ժամանակահատվածում (30 օր)																													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Ca-dsԲՆԹ	20	20	20	20	20	20	20	18	18	18	17	17	16	16	14	13	12	10	9	9	8	8	8	8	8	7	7	5	4	4	
ստուգիչ	20	20	20	20	20	20	20	18	18	18	17	17	16	16	14	13	12	10	9	9	8	8	8	8	7	7	5	4	4	4	

Ինչպես երևում է աղյուսակից և նկարից, որտեղ ներկայացված են փորձի արդյունքները ճառագայթումից հետո՝ 30-օրյա դիտարկման ժամանակահատվածում, կենդանիների մահացությունը ստուգիչ խմբում ճառագայթումից հետո սկսվում է արդեն իսկ 7-րդ օրվանից, այն դեպքում, երբ փորձնական խմբում կենդանիների անկումը սկսվում է 2 օրով ավելի ուշ՝ 9-րդ օրվանից, ինչը վկայում է ճառագայթման նկատմամբ փորձնական խմբի կենդանիների դիմադրության մասին: Ավելին, ստուգիչ խմբում կենդանիների մահացությունը շարունակվում է ընդհուպ մինչև 28-րդ հետճառագայթային օրը, այն դեպքում, երբ փորձնական խմբում նրանց անկումը դադարում է ճառագայթումից հետո՝ 18-րդ օրը: 19-րդ օրվանից կենդանիների ապրելունակությունը կայունանում է, վերականգնվում են ֆիզիկական ակտիվությունը, բնականոն կենսագործունեությունը, այսինքն՝ դիտվում է կենդանիների ֆիզիկական վիճակի կայունացում: Այս տվյալները վկայում են այն մասին, որ Ca-dsՌՆԹ ստացած առնետների հարմարվողականությունը պատճառով աթրեսային գործոնի նկատմամբ ավելի բարձր է, քան համապատասխան ստուգիչ խմբինը: Ճառագայթումից հետո ամենահաճախակի մահացությունը երկու խմբերում էլ դիտվել է 13-17 հետճառագայթային օրերին: Մտուգիչ խմբում, որտեղ 20 առնետներից ապրել են միայն 4-ը, մահացությունը գերազանցել է փորձնական խմբին, որտեղ 20 առնետներից ողջ են մնացել 11-ը:



Ca-dsՌՆԹ (փորձնական խումբ) և կալցիումի քլորիդի լուծույթ (ստուգիչ խումբ) ստացած կենդանիների ապրելունակությունը ճառագայթումից հետո՝ 30 օրվա ընթացքում (դիտարկման ժամանակահատված):

Համաձայն Կապլան-Մեյերի ապրելունակության մոդելի՝ Ca-dsՌՆԹ-ն ցուցաբերել է 40% ռադիոպաշտպանիչ էֆեկտ, ինչը նշանակալի գերազանցում է մի շարք բնական ռադիոպաշտպանիչների արդյունավետությունը, որոնք միջինում ցուցաբերում են 15-30% ռադիոպաշտպանիչ էֆեկտ [14]: Ներկայումս հայտնի են տարբեր ռադիոպաշտպանիչ նյութեր, որոնք փորձարկվել են առնետների ապրելունակության մոդելների վրա, որոնցից կարելի է նշել օրինակ՝ գենիստեինը [15]: Այն բուսական ծագման իզոֆլավոնների դասին պատկանող օրգանական նյութ է, որն ունի բարձր ռադիոպաշտպանիչ էֆեկտ, սակայն, համաձայն գրականության աղբյուրների, այն օժտված է նաև բացասական կողմնակի ազդեցությամբ, մասնավորապես մարսողական համակարգի վրա և խթանիչ ազդեցություն ունի օրգանիզմում առկա ուռուցքների աճի վրա [16]:

Այսպիսով, Ca-dsՌՆԹ-ն կարելի է բնորոշել որպես արդյունավետ, արագ ազդող և երկարաժամկետ էֆեկտիվություն ունեցող ռադիոպաշտպանիչ նյութ: Այն օժտված է արտահայտված ռադիոպաշտպանիչ հատկություններով և կարող է բարձրացնել օրգանիզմի ռեզիստենտությունն իոնիզացնող ճառագայթման նկատմամբ:

ՀՀ ԳԱԱ մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտ

**ՀՀ ԳԱԱ թղթակից անդամ Ժ. Ի. Հակոբյան, Լ. Ս. Ներսեսյան,
Ս. Ս. Պետրոսյան, Ս. Գ. Գազարյանց**

**Ca-մոդիֆիկացված երկպարույր ՌՆԹ-ն՝ որպես
ռադիոպաշտպանիչ միջոց**

Ստեղծվել է նոր պատրաստուկ՝ Ca-մոդիֆիկացված dsՌՆԹ-ն (Ca-dsՌՆԹ), որը օժտված է բարձր կենսաբանական ակտիվությամբ, ինչը պայմանավորված է նրա մեմբրան-պենետրացիոն հատկությունների բարձրացմամբ և էնդոնուկլեոզների նկատմամբ կայունությամբ: Ուսումնասիրվել են Ca-dsՌՆԹ-ի ռադիոպաշտպանիչ հատկությունները 630 Ռ միանվագ ընդհանուր իոնիզացնող ճառագայթման ժամանակ: Ստացված տվյալների համեմատական վերլուծությունը ցույց տվեց, որ Ca-dsՌՆԹ ստացած կենդանիների խմբում ճառագայթումից հետո մահացությունը սկսվում է ավելի ուշ և դադարում ավելի վաղ, քան համապատասխան ստուգիչ խմբում, իսկ ռադիոպաշտպանիչ էֆեկտն կազմում է 40%: Ca-dsՌՆԹ-ի ռադիոպաշտպանիչ էֆեկտը իոնիզացնող ճառագայթման ժամանակ ցույց է տրվել առաջին անգամ: Այսպիսով, Ca-dsՌՆԹ-ն օժտված է նշանակալի ռադիոպաշտպանիչ հատկություններով և ունակ է բարձրացնելու օրգանիզմի ռեզիստենտությունն ու հարմարվողականությունն իոնիզացնող ճառագայթման նկատմամբ:

**Член-корреспондент НАН РА Ж. И. Акопян, Л. С. Нерсесова,
М. С. Петросян, М. Г. Газарянц**

**Са-модифицированная двуспиральная РНК в качестве
радиопротекторного средства**

Создан новый препарат – Са-модифицированная дсРНК (Са-дсРНК), который обладает большой биологической активностью, что обусловлено повышением ее пенетрационных свойств и устойчивости к эндонуклеазам. Исследованы радиопротекторные свойства Са-дсРНК при однократном общем ионизирующем облучении в дозе 630Р. Показано, что в группе животных, получивших препарат, гибель начинается позже и прекращается значительно раньше, чем в контрольной группе, а радиозащитный эффект Са-дсРНК равен 40%. Выявлен радиопротекторный эффект препарата Са-дсРНК при ионизирующем облучении. Таким образом, можно заключить, что Са-дсРНК обладает значительными радиозащитными свойствами, повышая резистентность и адаптательность организма к ионизирующему облучению.

**Corresponding member of NAS RA J. I. Akopian, L. S. Nersesova,
M. S. Petrosyan, M. G. Gazaryants**

Ca-modified Double-Stranded RNA as a Radioprotective Agent

Ca-modified dsRNA (Ca-dsRNA), the preparation created by us, has a high biological activity, which is conditioned by an increase in its penetration properties and the resistance to endonucleases. The objective of this work is to study the radioprotective properties of Ca-dsRNA against a one-time total ionizing irradiation with the dose of 630R. The comparative analysis of the obtained data have shown that in the preparation received animals group the animals death begins later and stops noticeably earlier, than in the control group and the radioprotective effect of Ca-dsRNA is 40%. The radioprotective effect of the preparation of Ca-dsRNA against ionizing irradiation was revealed for the first time. Thus, we can conclude that Ca-dsRNA has significant radioprotective properties increasing the resistance and adaptability of the organism against the ionizing irradiation.

Գրականություն

1. *Surjushe A., Vasani R., Saple D.* – Indian J. Dermatol. 2008. V. 53. № 4. P. 163-66.
2. *Nagpal M., Sood Sh.* – J. Nat. Sci. Biol. Med. 2013. V. 4. № 1. P. 3-7
3. *Maurya D. K., Devasagayam T. P.* – Indian J. Exp. Biol. 2006. V. 44. № 2. P. 93-114.
4. *Mathew T. L.* – Def. Sci. Journal. 2005. V. 55. № 4. P. 403-25.
5. *Karpala A. J., Doran T. J., Bean A. G.* – Immunol. and Cell Biol. 2005. V. 83. № 3. P. 211-6.
6. *Саркисян Х. В., Газарянц М. Г., Маркосян Т. А., Акопян Ж. И и др.* – Вет. патол. 2015. № 1 (51). С. 19-23.

7. *Акопян Ж. И., Погосян Л. Г., Маркосян Т. А., Газарянц М. Г., Мкртчян З. С., Нерсесова Л. С.* – Эпизоотол., иммунобиол., фармакол., санитария. 2009. № 1. С.15-19.
8. *Аликин Ю. С., Ноздрин Г.Н., Шмидт Ю. Д., Луконина Н. В.* - <http://vettorg.net/articles/article-443/>. 2011.
9. Արտոնագիր N 2213 А, *Հակոբյան Շ., Գազարյանց Մ., Մկրտչյան Զ., Ներսեսովա Լ., Պողոսյան Լ., Մելիքսեթյան Գ., Մարկոսյան Տ.,* ՀՀ, <<Ինտերֆերոնի ինդուկտոր>>, 01.09.2008 թ.
10. Արտոնագիր N 2393 А, *Հակոբյան Շ., Գազարյանց Մ., Մկրտչյան Զ., Ռուխկյան Լ., Մարկոսյան Տ.,* ՀՀ, <<Ինտերֆերոնի ինդուկտորի կիրառումը որպես ընտանի թռչունների նյութապ հիվանդության կանխարգելիչ միջոց>>, 26.07.2010 թ.
11. Անասնաբուժական դեղամիջոցի գրանցման հավաստագիր N 00040 Թռչունների սուր վարակիչ հիվանդությունների կանխարգելման նկատմամբ <<Իմունոմոդուլյատոր>> իմունախթանիչ հակավիրուսային պատրաստուկ, 2014 թ.
12. Անասնաբուժական դեղամիջոցի գրանցման հավաստագիր N 00057 Խոզերի սուր վարակիչ հիվանդությունների կանխարգելման նկատմամբ <<Իմունոմոդուլյատոր>> իմունախթանիչ հակավիրուսային պատրաստուկ, 2014 թ.
13. Անասնաբուժական դեղամիջոցի գրանցման հավաստագիր N 00067 Խոշոր եղջերավոր անասունների համար իմունախթանիչ հակավիրուսային <<Իմունոմոդուլյատոր>> պատրաստուկ, 2014 թ.
14. *Aljanabi, S. M., Al-Laham S., Ekhtiar A. M.E.* – Asian J. Pharm. Clin. Res. 2013. V. 6. № 1. P. 82-86.
15. Patent. Radioprotective agents WO 2001095901 A1, Publication date 20 Dec 2001.
16. *de Lemons M.L.* – Ann. Pharmac. other. 2001. V. 35(9). P. 1118-21.