

## Вивчення мембраностабілізуючої і протизапальної дії дріжджової РНК *in vivo* та *in vitro*

З. Ю. Ткачук<sup>1</sup>, В. В. Ткачук, Л. В. Ткачук

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України  
Вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна

<sup>1</sup>Дочірнє підприємство «Біосел»  
Вул. А. Іванова, 10, Київ, 01021, Україна

ztkachuk@bigmir.net

---

*Показано, що нуклеїнові кислоти залежно від походження і ступеня очищення в дослідях *in vitro* та *in vivo* виявляють мембраностабілізуючу та протизапальну дію. Найефективнішою виявилася очищена дріжджова РНК.*

---

---

*Ключові слова: нуклеїнові кислоти, дріжджова РНК, клітинні мембрани, протизапальна дія.*

---

Вступ. Запалення — це локалізована реакція живої тканини на пошкодження, яке відбувається під впливом різних факторів екзо- і ендогенного походження. Серед екзогенних факторів розрізняють фізичні, хімічні і біологічні. До ендогенних належать медіатори запалення, антигени і антитіла. Запальна реакція обов'язково супроводжується порушеннями будови та проникності клітинної мембрани.

Функції клітинних мембран і їхній взаємозв'язок із запаленням добре вивчено. Запалення завжди пов'язано із змінами в обміні арахідонової кислоти, обміні оксиду азоту та з утворенням вільних радикалів. Оскільки запальний процес запускає дуже велику кількість метаболічних каскадів, використання інгібіторів або аналогів метаболізму арахідонової кислоти не дає можливості збалансувати всі реакції і таким чином комплексно регулювати перебіг запалення.

Протизапальні нестероїдні препарати (ПЗНП),

такі як аспірин, можуть блокувати певні етапи запального процесу, але вони не здатні стабілізувати клітинні мембрани, що обмежує їхній вплив на запальний процес.

Негативні побічні прояви препаратів ПЗНП, які супроводжують лікувальний процес, та мало-ефективність таких препаратів при хронічних запаленнях спонукають до пошуку нових засобів, які б, володіючи протизапальними властивостями, були нетоксичними в широкому спектрі концентрацій, не викликали побічної дії протягом дуже тривалого вживання, зупиняли і попереджували виникнення запальних вогнищ.

Нуклеїнові кислоти давно привертають до себе увагу як фармакологічні препарати. Зокрема, відомо, що РНК, продуктам її часткового гідролізу і синтетичним полінуклеотидам притаманний широкий спектр біологічної активності [1]. Вони стимулюють білковий синтез у клітинах [2] і мають протипухлинну активність [3]. Препарати РНК можуть збільшувати антитілоутворення та скоро-

чувати індуктивну фазу антитілогенезу [4—6]. Показано здатність дріжджової РНК нормалізувати деякі занижені або підвищені імунологічні показники, в першу чергу це стосується Т-лімфоцитів, кооперації Т- і В-лімфоцитів, активації функції макрофагів тощо. Більше того, екзогенна РНК при поділі клітин використовується для синтезу ДНК, а при метаболізмі клітини — для синтезу РНК. Показано, що через 2 год після введення екзогенна РНК включається в РНК лімфоцитів і макрофагів [7]. Отримано дані, які дозволяють припустити, що дріжджова тРНК може включатися в клітини у формі інтактних молекул [8].

Аналітичними методами показано, що РНК присутня в усіх мембранах тваринних клітин (у мембранах ендоплазматичного ретикулуму, мітохондрій, ядра і в плазматичних мембранах). Залежно від типу тканини і методу виділення вміст РНК коливається в межах 0,5—4 % сухої маси мембран. Експериментальні дані свідчать, що в мембранах детектується особлива мембранна РНК [9, 10], функції якої до кінця не з'ясовано. Однак нуклеїнові кислоти і особливо РНК або їхні сполуки до сьогодні не використовують для лікування чи попередження запалень та пов'язаних з ними захворювань і основну частину досліджень з РНК виконують на рівні *in vitro*.

Метою цієї роботи було вивчення протизапальної дії нуклеїнових кислот на моделі стабілізації мембран еритроцитів *in vitro* та *in vivo* при локальному запаленні, викликаному карагеніном.

**Матеріали і методи.** Досліджували такі препарати нуклеїнових кислот: ДНК-Т (з тимусу великої рогатої худоби), ДНК-ЕК (з еритроцитів курчат) фірми «Reanal» (Угорщина), тРНК (з *Escherichia coli*) фірми «Serva» (Німеччина) та сумарну РНК-Д (з дріжджів) у кінцевій концентрації  $1 \cdot 10^{-2}$  %. За стандарт протизапального препарату приймали аспірин у концентрації 0,06 мг на пробірку із збагаченою тромбоцитами плазмою.

**Виділення РНК.** Із дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* отримували РНК-Д, а з *Candida utilis* — РНК-П, РНК-ПН і РНК-Ф, які відрізнялися за ступенем очищення від білка, ДНК і полісахаридів. Дріжджову РНК екстрагували за допомогою 10—12 %-го розчину NaCl за температури 100—110 °С. РНК відділяли від дріжджових залишків, охолоджували до 0 °С та підкислювали HCl до рН 1—2. Після випадіння в осад РНК промивали етиловим спиртом, висушували і розчиняли у воді.

Гідроксидом натрію розчин доводили до рН 8,0—8,2 і додавали панкреатин. Витримували біля 1 год за температури 37—40 °С. Фермент інактивували кип'ятінням, після чого розчин фільтрували. РНК осаджували охолодженим етиловим спиртом, підкисленим HCl до рН 1—2, і висушували. Таким чином отримано РНК-Ф. Далі осад РНК фільтрували, промивали етиловим спиртом і розчиняли у воді, додаючи гідроксид натрію до рН 6,2—6,5. РНК-ПН осаджували етиловим спиртом, осад фільтрували і сушили. РНК-П одержували з РНК-Ф, додатково очищуючи від білків за допомогою повторної інкубації з панкреатином при 37—40 °С. Потім фермент інактивували кип'ятінням упродовж 10 хв. Розчин РНК-П фільтрували і осаджували підкисленим до рН 1—2 спиртом. Осад РНК-П фільтрували, промивали етиловим спиртом і висушували. Кінцевий продукт мав жовто-сірий колір.

Для оцінки ефективності мембраностабілізуювальної дії препаратів нуклеїнових кислот в разі пошкодження вільними радикалами визначали кислотну резистентність відмитих від плазми еритроцитів крові нормальних шурів. Еритроцити тричі відмивали холодним (4 °С) розчином 0,15 М NaCl і видаляли шар лейко- і тромбоцитів. Кислотний лізис відмитих еритроцитів у суспензії (10 мкл) індукували нітритом натрію в постійній концентрації (250 мкг/мл) для ініціації оксидного пошкодження еритроцитів. До складу суспензії входили розведені до певної густини еритроцити ( $0,7 \cdot 10^6$  клітин в 1 мл ізосмотичного середовища), 0,14 М NaCl і 0,01 М цитратно-фосфатний буфер, рН 2,5, та різні кількості нуклеїнових кислот (10 або 100 мкг). Спектри поглинання реєстрували за допомогою спектрофотометра СФ-26 (РФ).

Лізис еритроцитів ініціювали внесенням 1 мл 0,004 н. HCl і записували зміну екстинкції при 750 нм. Статистичну обробку результатів проводили, використовуючи критерій Стьюдента [11].

У дослідах *in vitro* записували кислотні еритрограми за присутності нітриту натрію (пошкоджувальний чинник) та різних концентрацій екзогенних нуклеїнових кислот [12—15].

Кислотний гемоліз еритроцитів представлено у вигляді інтегрального параметра цього процесу: сумарної кислотної стійкості еритроцитів, яку визначали, сумуючи добутки клітин еритроцитів, які гемолізували у даний період часу ( $a_i$ ), на  $t_i$ . Сумарна стійкість  $I = \sum a_i \cdot t_i$ .

Визначені зміни екстинкції ( $\Delta E$ ) від моменту початку гемолізу ( $E_n, t_n$ ) до його повного завершення ( $E_k, t_k$ ) пропорційні змінам кількості всіх клітин, що беруть участь у процесі гемолізу, яке приймається за 100 %, і тоді

$$\Delta E = E_k - E_n = 100 \%.$$

Сумарна кількість еритроцитів, які гемолізують (100 %), складається з суми гемолізуючих еритроцитів за кожні 30 с ( $E_{i+1} - E_i$ ) в інтервалі  $t_k - t_n$  = тривалість гемолізу:

$$\Delta E = \Delta E_{i+1} - E_i = 100 \%.$$

Вивчення протизапальної дії препаратів нуклеїнових кислот здійснювали на моделі місцевого запалення у мишей. Запалення у мишей лінії BALB моделювали, використовуючи класичний флогогенний агент — карагенін. За 30 хв до ін'єкції карагеніну мишам внутрішньочеревно вводили препарат у 2 мл фізіологічного розчину. Карагенін («Seriva Fein Biochemica», Німеччина) готували в вигляді 1 %-го розчину. Отриманий в'язкий розчин вводили мишам субплантарно в задню ліву лапку в об'ємі 40 мкл. Права лапка (інтактна) служила контролем. Через 4 год після введення карагеніну мишей забивали шляхом декапітації та відрізували обидві задні лапки на одному рівні, дещо вище гомілковостопного суглоба. Після цього кожну окремо їх зважували з точністю до 1 мг. Отримані результати опрацьовували на комп'ютері за допомогою статистичного аналізу у програмі MultiFac 2.2. SPSS 8/0.

Відсоток пригнічення запалення препаратом розраховували за формулою

$$\% \text{ пригнічення} = \frac{V_k - V_0}{V_k} \cdot 100 \%,$$

де  $V_k$  — середнє збільшення об'єму (маси) набряку лапки в контролі;  $V_0$  — середнє збільшення об'єму (маси) набряку лапки дослідних мишей.

Активність ферменту NO-синтетази (NOS) у плазмі крові та еритроцитах мишей визначали колориметричним методом за продуктом реакції — нітрит-аніоном [16].

Інкубаційна суміш (в об'ємі 1 мл) містила 50 мМ HEPES (рН 7,4), 1,25 мМ  $\text{CaCl}_2$ , 1 мМ NADPH, 80 мкМ ФАД, 20 мкМ тетрагідробіоптерин, 13 мкг/мл кальмодуліну, 1 мМ L-аргінін, 60 мМ L-валін, 100 од/мл супероксиддисмутази.

Таблиця 1  
Хімічний аналіз препаратів дріжджової РНК

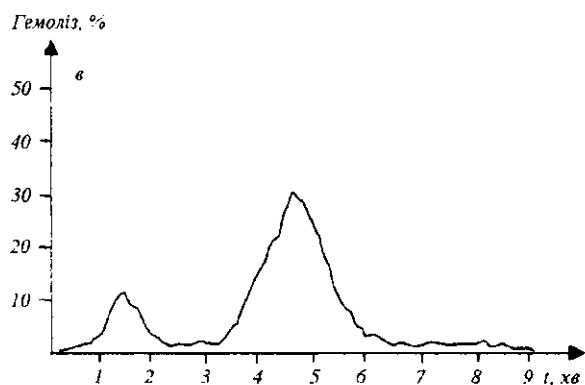
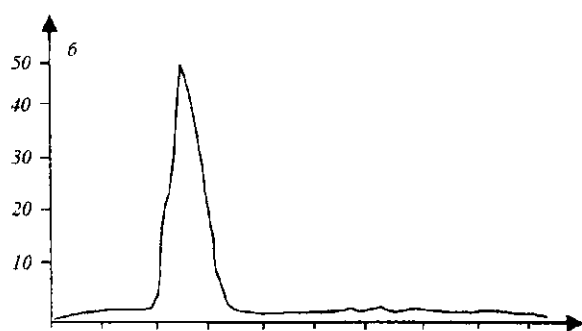
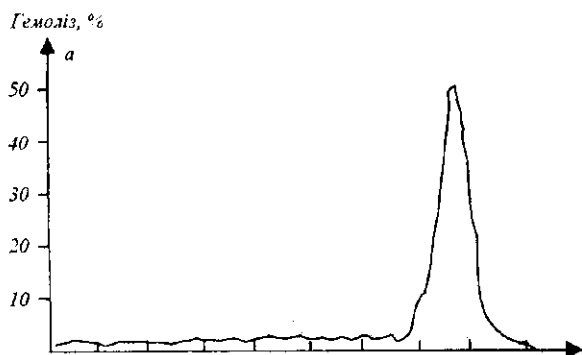
Показник	РНК-П	РНК-Д	РНК-Ф	РНК-ПН
Вміст азоту, %	15,49	15,16	14,16	14,65
Вміст фосфору, %	9,05	8,6	8,2	8,54
Біуретова реакція	—	—	+	—
Вміст ДНК, %	1	1,1	1,2	1,1

HEPES — це N(2-гідроксіетил)-1-піперазинетансульфонова кислота («Sigma Chemical Co.», США), NADPH — бета-нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат у відновленій формі («Sigma Chemical Co.»). Реакцію запускали додаванням 0,1 мл проби, що вміщувала біля 500 мкг загального білка, попередньо визначеного за Бредфордом. Інкубацію здійснювали при 37 °С упродовж 60 хв. Реакцію зупиняли, додаючи 0,2 мл 2 н.  $\text{HClO}_4$ . Суміш центрифугували при 10000 g протягом 10 хв і в надосадовій рідині виявляли вміст нітрит-аніону (стабільного метаболіту оксиду азоту).

Нітрит-аніон визначали, змішуючи реактив Гріса (суміш рівних частин 0,1 %-го водного розчину нафтилетилендіамінгідрохлориду з 1 %-м розчином сульфоніламіну в 5 %  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) з безбілковими аліквотами проб у співвідношенні 1:1. Величину екстинкції при 543 нм визначали через 5 хв після змішування; кількість  $\text{NO}_2$  — за калібрувальною кривою, побудованою для  $\text{NaNO}_2$  [17].

**Результати і обговорення.** На початку ми вирішили визначити, в якій мірі біологічна активність РНК залежить від джерела походження. Через це її виділяли з двох видів дріжджів: із *S. cerevisiae* отримували очищену РНК-Д, а з *S. utilis* — очищену РНК-П. У менш очищених препаратів РНК-ПН і РНК-Ф важливо було визначити, наскільки їхня біологічна активність залежить від наявності домішок білка, ДНК і полісахаридів. Як видно з хімічного аналізу відібраних препаратів, результати якого представлено в табл. 1, вони відрізняються за своєю чистотою. Найкраще очищеними є препарати РНК-П і РНК-Д, у яких білок відсутній, а вміст ДНК не перевищує 1,1 %.

У подальшому визначали мембраностабілізуювальну дію препаратів за кислотною резистентністю еритроцитів щурів. Вивчення проводили в динаміці за кінетичними параметрами гемолізу, індукованого зниженням рН середовища. Парамет-



Кислотні еритрограми гемолізу еритроцитів щурів: а — норма (0,004 н. НСІ); б — контроль (0,004 н. НСІ, NaNO<sub>2</sub>); в — РНК-Д (0,004 н. НСІ, NaNO<sub>2</sub>)

ри гемолізу реєстрували, спекрофотометрично визначаючи кількість зруйнованих клітин через відповідні проміжки часу. Стабільність кожної фракції еритроцитів можна охарактеризувати часом її виявлення на еритрограмі. Положення максимуму кінетичної кривої ( $t_{\max}$ ) відповідає стану основної популяції еритроцитів у даному зразку крові: зсув максимуму вліво на осі часу — зниженню стабільності і, навпаки, зсув вправо — її зростанню.

Результати досліджень наведено у вигляді діа-

Таблиця 2  
Вплив нуклеїнових кислот на кислотну резистентність (I) еритроцитів щурів

Препарат	Концентрація, мкг	
	10	100
РНК-Д	449±90,1	437±84,2
РНК-П	315±62,5	462±98,3
РНК-ПН	328±72,6	415±93,4
РНК-Ф	338±81,7	271±63,1
ДНК-Т	338±80,5	158±23,2
ДНК-ЕК	408±91,1	288±64,1
тРНК	279±65,8	296±74,3

П р и м і т к а. Норма — 0,004 н. НСІ,  $I = 475 \pm 38,0$  од.; контроль — 0,004 н. НСІ і NaNO<sub>2</sub>,  $I = 288 \pm 59,8$  од. Зміни статистично достовірні.

грам кислотного гемолізу еритроцитів (рисунок, а—в). Так, показано (рисунок, а), що пік кінетичної кривої гемолізу еритроцитів ( $t_{\max}$ ) при додаванні НСІ припадає на 7,5 хв. На рисунку, б, представлено кінетичну криву гемолізу з додаванням нітриту натрію, який спричинив зсув піка кінетичної кривої ( $t_{\max}$ ) до 2,5 хв, що свідчить про різке зниження стабільності мембран еритроцитів. У той же час при додаванні до еритроцитів високоочищеної дріжджевої РНК відмічено стабілізацію мембран, що продемонстровано на рисунку, в. Пік кінетичної кривої на ньому припав на 4,5 хв, що може підтверджувати мембраностабілізуювальну дію дріжджевої РНК.

Далі ми вивчали, як біологічна активність нуклеїнових кислот залежить від їхнього типу (ДНК чи РНК), а також від ступеня очищення. Як видно з наведених у табл. 2 результатів досліджень, ДНК тимусу теляти ( $I = 338$  од.) і ДНК еритроцитів курей ( $I = 408$  од.) значно поступаються за своєю біологічною активністю препаратам дріжджевої РНК.

Показано, що дріжджева РНК-Д у дозі 10 і 100 мкг підвищувала значення сумарної стійкості еритроцитів з 288 од. (контрольне значення за присутності NaNO<sub>2</sub> без препарату) до 449 од. (концентрація дріжджевої РНК 10 мкг) і 437 од. (концентрація РНК 100 мкг), що було близьким до значення в нормі (475 од.). РНК-ПН збільшувала сумарну стійкість до значення 328 од. у дозі 10 мкг та до 415 од. в дозі 100 мкг. Сумарна стійкість РНК-П зростала до значень 315 од. у дозі 10 мкг

Таблиця 3  
Вплив нуклеїнових кислот на локальне запалення лапок мишей

Показник	Норма (фізіологічний розчин)	Контроль (карагенін)	Аспірин	РНК-Д, 5 мг на мишку	РНК-Д, 10 мг на мишку	РНК-Д, 15 мг на мишку	ДНК-Т, 15 мг на мишку	ДНК-ЕК, 15 мг на мишку
Маса набряку, мг	—	43,3±2,4	35,5±2,8	27,4±2,1	28,9±2,3	20,3±3,2	31,8±2,6	28,9±2,8
Пригнічення, %	—	—	18,03	36,74	47,17	53,13	26,58	33,27
Достовірність	—	—	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001

та 462 од. у дозі 100 мкг (максимально наближена до нормальних значень величина цього параметра). Препарат РНК-Ф підвищував сумарну стійкість до значення 338 од. у дозі 10 мкг і, навпаки, дещо знижував її (до значення 271 од.) у дозі 100 мкг.

Препарат ДНК-Т збільшував сумарну стійкість еритроцитів до значень 338 од. у дозі 10 мкг та 654 од. у дозі 50 мкг (що більш ніж у 2 рази перевищує контрольні величини і навіть є вищим рівня норми (без пошкодження  $\text{NaNO}_2$ )). Однак у дозі 100 мкг ефект його був зворотним — мембранодестабілізуювальним, про що свідчить зниження сумарної стійкості до 158 од. (майже вдвічі нижче рівня контролю).

Препарат ДНК-ЕК у дозі 100 мкг не змінював кислотної резистентності еритроцитів у нашій моделі оксидного пошкодження. Тоді як у дозі 10 мкг він підвищував її до значення 408 од., що лише трохи нижче виявленої протекторної дії для РНК-Д (449 од. для дози 10 мкг).

Нами виявлено, що екзогенна ДНК за низьких концентрацій незалежно від походження деструктивно діє на клітинну мембрану, тому її не може використовувати як ліки або як харчову добавку.

Препарат тРНК в обох досліджуваних дозах (10 мкг до 279 од. і 100 мкг до 296 од.) не змінював кислотної резистентності еритроцитів.

Таким чином, нами показано, що біологічна активність РНК залежить від її видового походження. Препарати очищеної дріжджової РНК виявилися вдвічі активнішими, ніж препарат тРНК *E. coli*. Дріжджовій РНК у широкому спектрі концентрацій притаманні мембраностабілізуювальні властивості. Детальніше вивчення показало, що мембранопротекторна дія дріжджової РНК залежить від її чистоти і наявності білка. Найефективнішою виявилася очищена РНК-Д.

Досліджували також протизапальну дію нуклеїнових кислот *in vivo* на моделі локального запалення лапок мишей, викликаного карагеніном, яку порівнювали із впливом аспірину — відомого протизапального препарату.

Тварин розділили на вісім груп. Першу склали контрольні тварини, яким внутрішньочеревно вводили по 2 мл фізіологічного розчину, а в ліву лапку також ін'єкували 40 мкл фізіологічного розчину. Ця група представляла по суті інтактних мишей, на яких визначали вплив самої травми (ін'єкція без флогогенного агента) на запальний процес у лівій лапці. Друга група мишей — це контроль з карагеніном, тваринам внутрішньочеревно вводили по 2 мл фізіологічного розчину, а в ліву лапку — карагенін. Третя група мишей отримувала внутрішньочеревно по 0,4 мг аспірину в 2 мл фізіологічного розчину на тварину, а в ліву лапку — карагенін. Четверта, п'ята і шоста групи отримували внутрішньочеревно розчинену у фізіологічному розчині дріжджову РНК у концентрації 5, 10 і 15 мг в 2 мл фізіологічного розчину на тварину. Карагенін вводили в ліву лапку для провокування набряку. Сьому і восьму групи мишей лікували відповідно ДНК-Т і ДНК-ЕК, які вводили ін'єкціями в концентрації по 15 мг на мишку, як це описано нижче для груп, лікованих РНК.

Результати дослідів із вивчення протизапальної дії нуклеїнових кислот представлено в табл. 3, у якій показано, що аспірин у введених концентраціях зменшує розвиток набряку на лапках мишей на 18,02 %. Ці дані узгоджуються з результатами, отриманими в інших роботах, і свідчать про відповідність нашої моделі існуючим моделям запального процесу. Концентрації аспірину також відповідають дозі 20 мг/кг, яку тепер рекомендовано для клінічного використання. Однак згадана доза спричинює дещо негативні наслідки в разі тривалого застосування при різних формах запальних процесів.

Таблиця 4

Вплив дріжджової РНК та аспірину на активність NO-синтази (NOS) у плазмі крові мишей після ін'єкції карагеніну ( $M \pm m$ ;  $n = 5$ )

Препарат Час введення, хв	Активність NOS, $\text{пмоль} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{мг білка}^{-1}$	p1	p2
Контроль (карагенін)			
0	18,41 ± 2,24	—	—
30	189,45 ± 21,34	< 0,001	—
60	72,03 ± 9,25	< 0,001	—
320	110,48 ± 22,79	< 0,01	—
Дріжджова РНК			
30	35,40 ± 7,73	> 0,05	< 0,01
60	9,61 ± 0,96	< 0,01	< 0,01
320	107,14 ± 13,26	< 0,001	> 0,5
Аспірин			
320	42,24 ± 4,50	< 0,01	> 0,05

П р и м і т к а. У цій таблиці і в табл. 5 p1 — достовірна різниця відносно норми (перед ін'єкцією карагеніну); p2 — достовірна різниця відносно контролю (без дріжджової РНК).

Крім того, препарат дріжджової РНК виявив значну протизапальну активність, яка має концентраційну залежність. В концентрації 5, 10 і 15 мг на мишку препарат пригнічує утворення набряку відповідно на 36,74, 47,17 і 53,13 %. Препарати ДНК-Т і ДНК-ЕК також виявили протизапальну активність, хоча в досить високих концентраціях (15 мг на мишку), при цьому показники протизапальної дії були в два рази нижчими (відповідно 26,58 і 33,27 %).

Наступним етапом роботи стало вивчення впливу дріжджової РНК на активність ферменту NOS у плазмі крові та еритроцитах у мишей. Відомо, що при запальних процесах відбувається оксидне пошкодження білкових і ліпідних компонентів плазматичної мембрани еритроцитів, внаслідок чого активується біосинтез оксиду азоту, який є активним окиснювальним агентом, особливо гемоглобін еритроцитів.

Результати аналізу впливу дріжджової РНК на активність NOS представлено в табл. 4, з яких випливає, що після введення карагеніну (без попередньої ін'єкції дріжджової РНК — контроль) спостерігали різке (більш ніж у 10 разів) зростання активності NOS у плазмі крові за 30 хв. Після чого відбувалося зниження активності ферменту з наступним незначним підвищенням (але на рівні, суттєво вищому за норму) його активності.

Попереднє ін'єкування мишам дріжджової

РНК суттєво сповільнювало підвищення активності NOS у плазмі крові в ранній період (30 і 60 хв) розвитку запальної реакції. Цей протекторний ефект дріжджової РНК був відсутнім уже на 320-й хв розвитку запальної реакції, у той час як введення аспірину пригнічувало активність NOS саме в цей період.

У табл. 5 показано динаміку зміни активності NOS в еритроцитах крові мишей після введення карагеніну. У контрольних тварин спостерігали незначне підвищення активності ферменту на 30-й хв, яке надалі зростало майже в 2 рази.

Подібну, але значно більше виражену динаміку зміни активності NOS відмічено в еритроцитах мишей, яким попередньо вводили дріжджову РНК. Так, на 30-й і 60-й хв виявлено підвищення активності NOS (відповідно більш ніж в 3 і 2 рази). На 320-й хв дії карагеніну зареєстровано достовірне (більш ніж у 3 рази) зниження активності NOS в еритроцитах.

Деякі автори [18] відзначають, що в еритроцитах присутня конститутивна Са-залежна ізоформа NOS. Виходячи з цього можна зробити припущення, що підвищення активності еритроцитарної NOS у ранній період розвитку запальної реакції, викликане введенням карагеніну, обумовлене зростанням концентрації внутрішньоклітинного кальцію в еритроцитах.

Таким чином, дріжджова РНК чинить вираже-

Таблиця 5

Вплив дріжджової РНК та аспірину на активність NO-синтетази (NOS) в еритроцитах мишей після ін'єкції карагеніну ( $M \pm m$ ;  $n = 5$ )

Препарат Час введення, хв	Активність NOS, $\text{пмоль} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{мг білка}^{-1}$	p1	p2
Контроль (карагенін)			
0	4,34 ± 1,11	—	—
30	7,77 ± 0,99	> 0,05	—
60	2,32 ± 0,38	> 0,1	—
320	2,23 ± 0,52	> 0,1	—
Дріжджова РНК			
30	14,25 ± 1,11	< 0,001	< 0,01
60	10,21 ± 1,92	< 0,05	< 0,01
320	1,15 ± 0,24	< 0,05	> 0,05
Аспірин			
320	3,61 ± 0,60	> 0,5	< 0,2

ну інгібіторну дію на активацію окиснювального шляху метаболізму L-аргініну при введенні карагеніну, що виражається в пригніченні активності NOS у плазмі крові.

На основі отриманих результатів можна зробити висновок стосовно того, що нуклеїнові кислоти мають досить виражені протизапальні властивості порівняно з аспірином. Найзначнішу протизапальну активність виявлено для дріжджової РНК.

Проведеними дослідженнями продемонстровано, що дріжджова РНК залежно від форми, походження і ступеня очищення в дослідках *in vitro* виявляє мембраностабілізуючі властивості. Найефективнішим препаратом є очищена дріжджова РНК на відміну від екзогенної ДНК, якій притаманний антистабілізуючий вплив на клітинні мембрани.

Z. Yu. Tkachuk, V. V. Tkachuk, L. V. Tkachuk

The study on membrane-stabilizing and anti-inflammatory actions of yeast RNA *in vivo* and *in vitro*

#### Summary

It has been shown that nucleic acids reveal membrane-stabilizing and anti-inflammatory actions depending on origin and purity in *in vitro* and *in vivo* experiments. The purified yeast RNA has been found to be the most effective one.

Key words: nucleic acids, yeast RNA, cell membranes, inflammatory action.

З. Ю. Ткачук, В. В. Ткачук, Л. В. Ткачук

Изучение мембраностабилизирующего и противовоспалительного действия дрожжевой РНК *in vivo* и *in vitro*

#### Резюме

Показано, что нуклеиновые кислоты в зависимости от их происхождения и степени очистки в опытах *in vitro* и *in vivo* выявляют мембраностабилизирующее и противовоспалительное действие. Самой эффективной оказалась очищенная дрожжевая РНК.

Ключевые слова: нуклеиновые кислоты, дрожжевая РНК, клеточные мембраны, противовоспалительное действие.

#### ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Kordyum V. A., Kirilova V. S., Likhachova L. I. Biological action of exogenous nucleic acids // Вісн. АН СРСР.—1977.—41, № 6.—Р. 67—78.
2. Sved S. C. The metabolism of exogenous ribonucleic acids injected into mice // Canad. J. Biochem.—1965.—43.—Р. 949—956.
3. Niu M. C. Effect of ribonucleic acid on mouse acids cells // Science.—1960.—131—Р. 1321—1328.
4. Johnson A. G., Schmidtke J., Merrit K. Enhancement of antibody formation by nucleic acids and their derivatives // Nucl. Acid Immunol.—Berlin, 1968.—Р. 379—386.
5. Merrit K., Johnson A. G. Studies on the adjuvant of bacterial endotoxins on antibody formation. 6. Enhancement of antibody formation by nucleic acids // J. Immunol.—94.—1965.—Р. 416—425.
6. Brown W., Nakono M. Influence of oligodeoxyribonucleotides on early events in antibody formation // Proc. Soc. Exp. Biol. Med.—1967.—119.—Р. 701—707.
7. Enesco N. E. Fate of  $^{14}\text{C}$ -RNA infected into mice // Exp. Cell Res.—1966.—42.—Р. 640—646.
8. Herrera F., Adamson R. H., Gallo R. C. Uptake of transfer

- ribonucleic acid by normal and leukemic cells // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1970.—67.—P. 1943—1950.
9. *Shapot V. S., Davidova S. Y.* Liponucleoprotein as an integral part of animal cell membranes // Progr. Nucl. Acids Res.—1971.—11.—P. 81—101.
10. *Rodionova N. P., Shapot V. S.* Ribonucleic acid of the endoplasmatic reticulum of animal cells // Biochim. et Biophys. Acta.—1966.—129.—P. 206—209.
11. *Терентьев П. В., Ростова Н. С.* Практикум по биометрии.—Ленинград, 1977.—150 с.
12. *Terskov I. A., Hittelzon I. I.* Chemical (acid) erythrogram method // Biophysika.—1957.—2.—P. 259—266.
13. *Kellogg E. W., Fridovich I.* Liposome oxidation and erythrocyte lysis by enzymically generated superoxide and hydrogen peroxide // J. Biol. Chem.—1977.—252.—P. 6721—6728.
14. *Sato Y., Kamo S., Takahashi T., Suzuki Y.* Mechanism of free radical-induced hemolysis of human erythrocytes: hemolysis by water-soluble radical initiator // Biochemistry.—1995.—34.—P. 8940—8949.
15. *Lukacs G. L., Kapus A., Nanda A.* Proton conductance of the plasma membrane: properties, regulation, and functional role // Amer. J. Physiol.—1993.—265.—P. C3—C14.
16. *Yan L., Vandivier R. W., Suffredini A. F., Danner R. L.* Human polymorphonuclear leukocytes lack detectable nitric oxide synthetase activity // J. Immunol.—1994.—153.—P. 1825—1834.
17. *Green L. C., Waagner D. A., Glogowski J.* Analysis of nitrate, nitrite and [<sup>15</sup>N] nitrate in biological fluids // Anal. Biochem.—1982.—126.—P. 131—138.
18. *Chen L. Y., Mehta J. L.* Evidence for the presence of L-arginine-nitric oxide pathway in human red blood cells: relevance in the effects of red blood cells on platelet function // J. Cardiovasc. Pharmacol.—1998.—32.—P. 57—61.