ВЛИЯНИЕ АНТИМУТАГЕНОВ ОА-5965 и ПЕ-2590 НА АКТИВНОСТЬ ЛИПОКСИГЕНАЗЫ СОЕВЫХ БОБОВ. РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КРЫС И ТОРМОЖЕНИЕ РОСТА САРКОМЫ-45

А. Г. ПАНОСЯН, М. И. ЛЕБЕДЕВА, К. В. ГЕВОНДЯН, С. А. ПАПОЯЧ

Институт медицинской радиологии МЗ АрмССР, Ереван

Показано, что антимутагены ОА-5965 и ПЕ-2590 ингибируют окисление арахидоновой кислоты в 15-гидропероксиэйкозатетраеновую кислоту липоксигеназой соевых бобов. Оба соединения увеличивают радиочувствительность крыс при облучении, что подтверждает предположение о том, что активации липоксигеназ—адаптивная реакция организма на действие ионизирующего излучения. ПЕ-2590 сдерживает подавление роста саркомы-45 рентгеновскими лучами.

Ցույց է տրված, որ ՕԱ—5965 և ՊԵ—2590 լակտատազինները, սոյայի ուն գրիչ ստացված լիպոքսիգենազի միջոցով, արտիդրոնաթերիի միջև 15—իդրոպերօքսիէյկօզատետրաէնօւկտի օքսիդացման ինիբիտօրներ են լանդիսանու՝ մրկու միզոսթրուկներն է ճառագայթաճարման ժամանակ ընծազնում են առանձինրի օքսիդացումները, որը հաստատում է այն ենթադրությունը, որ լիպօքսիգենազի ակտիվացումը օրգանիզմի ադապտիվ ռեակցիան է իոնացնող էմալգայինների ազդեցության նկատմամբ: ՊԵ—2590-ը կասեցնում է սենտզենան ճառագայթների ընթացիկ սարկոմա—45-ի աճի արգելանքով:

It was shown that antimutagenes OA—5965 and PE—2590 inhibit arachidonic acid oxidation into the 15—hydroperoxyeicosatetraenoic acid by soy-bean lipoxygenase. Both of them enhance radi-sensitivity of rats, which proves the assumption that activation of lipoxygenases— is an adaptive reaction of organism to the action of ionizing radiation. PE—2590 reduces the X-rays induced suppression of sarcoma—45 growth.

Липоксигеназа—радиочувствительность—опыт.16.

Известно, что ионизирующее излучение приводит к гибели клеток и подавляет их пролиферацию [12]. Его действие на деление клеток и их дифференциацию приводит к хромосомным нарушениям (мутациям), нарушениям дифференциации эмбриональных клеток (тератогенезу) и неопластической трансформации клеток (канцерогенезу) [12].

В последние годы стало известно, что в эти процессы активно вовлечены эйкозаноиды [9]. Простагландин E₁ и тромбоксан A₂ проявляют антимутагенное действие, предотвращая вызываемое γ-облучением повреждение ДНК лимфоцитов и клеток костного мозга [7]. Простагландины E₀, D₂ и I₂ подавляют пролиферацию и синтез ДНК гладкомышечных клеток сосудов [6, 14], простагландин F_{2α}, наоборот, активизирует эти процессы [6]. Простациклин является сильным анти-метастатином [10]. 12-НЕТЕ—ингибитор биосинтеза простациклина— ингибирует пролиферацию гладкомышечных клеток и клеток нейробластомы [15]. Вместе с тем известно, что ингибиторы 12-липоксигеназы эпидермиса замедляют рост опухолей, вызываемый канцерогена-

Сокращения: НЕТЕ—гидроксиэйкозатетраеновая кислота, ПРТЕ—гидропероксиэйкозатетраеновая кислота.

ми [13]. Лейкотриены также являются промоторами пролиферации эндотелия и эпителия [11], они стимулируют синтез ДНК в культуре эпидермальных кератиноцитов [11]. 15-НРЕТЕ, наоборот, ингибирует митогенез лимфоцитов [8].

Нами было изучено влияние двух новых соединений—ОА-5965 и ПЕ-2590, проявляющих антимуtagenную активность [1, 2], на образование 15-НРЕТЕ (кислотом арахидоновой кислоты изолированным ферментом липоксигеназы соевых бобов) и выживаемость крыс при облучении.

Материал и методика. Инкубацию арахидоновой кислоты с липоксигеназой соевых бобов проводили по несколько измененной методике, описанной в работе [5]. К 20 мкл водного или этанольного раствора (10^{-4} М) ПЕ-2590 и ОА-5965 соответственно прибавляли 2 мл 1/15 М фосфатного буфера, рН 7,4, 50 мкл раствора липоксигеназы соевых бобов (1 мг/мл, 123500 е. е. и 1 мл 1 мМ раствора (этанол—фосфатный буфер, 1:29) арахидоновой кислоты. Смесь инкубировали при 25° в течение 10 мин. Реакцию останавливали добавлением 1,5 мл 1N HCl, прибавляли 1 мкг простагландин B_2 (100 мкл этанольного раствора, 0,01 мг/мл) и экстрагировали 20 мл хлороформа, хлороформ промывали водой, упаривали досуха, остаток растворяли в 100 мкл метанола и анализировали с помощью ВЭЖХ на колонке 259X4 мм) с Liсp-гелем 25-18, 5 мкм. Система растворителей метанол—вода—уксусная кислота, 78:22:0,01; 1 мл/мин. Детекция—280 нм (5 мин, ПГВ₂) и 235 нм (Р—20 мин, 15-НРЕТЕ).

Опыты с облучением проводили на белых беспородных крысах массой 160—180 г с помощью аппарата РММ-17 (0,5 мм Св, 1 мм Al, кожно-фокусное расстояние—60 см, 30 р/мин).

Результаты и обсуждение. Как видно из табл. 1 и 2, оба соединения ингибируют образование 15-НРЕТЕ и увеличивают радиочувствительность крыс при облучении. Это, возможно, связано с подавлением биосинтеза эйкозаноидов, активация которого является, по-видимому, компенсаторной реакцией организма на действие ионизирующего излучения [3].

Таблица 1. Влияние ОА-5965 и ПЕ-2590 на образование 15-НРЕТЕ, % к контролю

Соединение	Концентрация, М			
	Контроль	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
ОА-5965	100	—	—	13,8*
ПЕ-2590	100	20,3*	11,0*	2,0*

* $p < 0,05$

Радиосенсибилизирующее действие исследуемых соединений могло бы быть полезным, если бы оно проявилось с большей селективностью к опухолевым клеткам, которые, как известно, более чувствительны к ионизирующему излучению.

С этой целью мы изучили влияние ПЕ-2590 на процесс торможения роста саркомы-45 рентгеновскими лучами (табл. 3). Как видно из табл. 3, ПЕ-2590 сдерживает торможение роста опухоли рентгеновскими лучами, что свидетельствует о неселективности действия ПЕ-2590 на опухолевые клетки.

Таблица 2. Влияние ОА-5965 и ПЕ-2590 на выживаемость и среднюю продолжительность жизни крыс при облучении

Группа животных воздействие	Количество животных	Доза об- лучения, мг/крысу	Средний вес животного, г	Доза облу- чения, Гр	Длительность жизни, дни	Выжива- емость, %	Средняя продолжи- тельность жизни, дни
Биоконтроль	50	—	160—180	—	—	100	30
Контроль облучения	50	—	160—180	5,25	—	58	23,2
ПЕ-2590 + облучение	50	2,125	160—180	5,25	3000	26	15,2
ПЕ-2590 + облучение	50	8,5	160—180	5,25	3000	16	13,6
ОА-5965 + облучение	50	15	160—180	5,25	2200	23	17,8
ОА-5965 + облучение	50	60	160—180	5,25	2200	40	18,7

Такой эффект может быть связан как с подавлением биосинтеза 15-НРЕТЕ—ингибитора митогенеза лимфоцитов, так и с подавлением образования других продуктов липоксигеназного окисления арахидонової кислоты, в частности, 12-НРЕТЕ—ингибитора роста опухолевых клеток [15].

Таблица 3. Влияние ПЕ-2590 на торможение роста саркомы-45 крыс при действии рентгеновских лучей*

Группа животных	Воздействие	Число жи- вотных	Доза излу- чения, Р	Средняя масса жи- вотных, г	Доза ПЕ-2590, мг/крысу	Площадь поверхности опухоли, см ²	Торможение роста опухоли, Т (%)	Достовер- ность, Р
1	Биоконтроль	10	5	100	160—180	—	—	—
2	Саркома-45	10	5	100	160—180	—	4,59±0,59	—
3	Саркома-45, об- лучение	10	5	100	160—180	—	2,71±0,50	41,2
4	Саркома-45, об- лучение, ПЕ-2590	10	5	100	160—180	3 раза по 8,5	4,28±0,42	6,7
5	Саркома-45, об- лучение, ПЕ-2590	10	5	100	160—180	3 раза по 1,124	3,43±0,42	25,3

* Крысы подвергались местному облучению, воздействуя на опухоль рентгеновским излучением, начиная с 11 дня после прививки саркомы-45. За 4 дня до облучения животным 4 и 5 групп перорально вводили 0,5 мл водного раствора ПЕ-2590. Контрольные измерения проводили через 5 дней со дня начала лучевой терапии.

Таким образом, представление о том, что ингибиторы липоксигеназы могут быть эффективными агентами, тормозящими рост опухоли [4], не носит универсального характера.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зартянц С. А., Аюлюн Т. Р., Нароникян Е. Г. и др. Авт. свид. № 784266. 1.8.1980.
2. Нораян А. С., Оганесян А. Ш., Аветисян Г. М. и др. Авт. свид. № 1287522. 1.9.1986.
3. Нахасян А. Г., Джинялян К. О., Геворкян К. В. и др. Радиобиология, 27, 6, 770—775, 1987.
4. Bailey J. M., Bryant R., Low C. et al. Cell Immunol., 67, 112—124, 1982.
5. Benayont J. I., Brunrand A., Allais D. et al. Prostaglandins, 31, 535—544, 1986.
6. Cornisoff D. G., Hattner J. J., Milo G. E. et al. Lipids, 14, 194—202, 1983.
7. Das E. N., Ramu Devi G., Rao K. P., Rao M. S. Prostaglandins, 29, 911—920, 1985.
8. Gaulde N., Rabinovitch H., Fredon M., Rigaud M. Eur. J. Immunol., 12, 773—777, 1982.

9. Hayaishi O., Yamamoto S. *Advances in Prostaglandin, Thromboxane and Leukotriene Research*, 15, N. - Y., Raven Press, 1987.
10. Honn K., Gleone B., Scoff A. *Science*, 212, 1270—1272, 1980.
11. Kragballe K., Desjarlais L., Voorhees J. J. *Brit. J. Dermatol.*, 113, 43—49, 1985.
12. Livesey J. C., Reed D. J., Adamson L. F. *Radiation Protective Drugs and their Reaction Mechanisms*, Park Ridge, New Jersey, Noyes Publications, 146, 1985.
13. Nakaiate T., Aizy E., Yamamoto S., Kato R. *Prostaglandins*, 39, 357—369, 1985.
14. Drakhov A. N., Pertov V. V., Kadryashov S. A. *et al.* *Atherosclerosis*, 60, 101—110, 1986.
15. Smith D. L., Willis A. L., Mahmud I. *Prostagl. Leukotr. Med.*, 16, 1—10, 1984.

Поступило 29.VI 1988 г

Биолог. ж. Армении, № 1, (42), 1989

УДК 577.352.352.315:612.111:612.014.462.4

ЭФФЕКТЫ АНТИОКСИДАНТОВ И ИНГИБИТОРОВ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ НА ИНДУЦИРОВАННЫЕ ОБМЕННЫЕ ПОТОКИ K^+ И H^+ В ЭРИТРОЦИТАХ

А. В. ГЮНЬХАНДЛЯН

Ереванский филиал Всесоюзного научного центра хирургии АМН СССР

При активировании Ca^{2+} -зависимого калиевого канала эритроцитов человека β -блокатором обзиданом ингибиторы митохондриальных процессов олигомицина, ДЦКД, антимицина, ингибитор НАДН-дегидрогеназы плазматических мембран атебрина, антиоксидант ионол (но не α -токоферол) в большей степени подавляют скорости выхода K^+ и входа H^+ . При индуцировании калиевого канала Ca^{2+} -ионофором А23187 ингибирующее действие олигомицина, ДЦКД и антимицина менее выражено; ионол и атебрин увеличивают, а α -токоферол уменьшает утечку K^+ . Обсуждаются механизмы влияния этих соединений на Ca^{2+} -зависимый транспорт K^+ в эритроцитах.

Մարդկային էրիթրոցիտներում β -բլոկատոր օբզիդանով Ca^{2+} -կախված կալիումի կանալի ակտիվացման ժամանակ միտոքոնդրիալ պրոցեսների ինհիբիտորներն օլիգոմիցինը, ԴԾԿԸ-ն, անտիմիցինը, պլազմատիկ մեմբրանների ՆԱԴՌ-զեմիզրոզանազայի ինհիբիտոր ատեբրինը, անտիօքսիդանտ իոնոլը (բայց ոչ α -տոկոֆերոլը) մեծ չափով ճնշում են K^+ -ի Էլքի և H^+ -մուտքի արագությունները: Ca^{2+} -իոնոֆոր Ա23187-ով կալիումի կանալի ինդուցման ղեկավարում օլիգոմիցինի, ԴԾԿԸ-ի և անտիմիցինի ինհիբիտորային ազդեցությունը արտահայտված է ավելի պակաս, իսկոք և ատեբրինը ավելացնում են, իսկ α -տոկոֆերոլը նվազեցնում է K^+ -ի դուրս մղումը: Փնևարկիզում է այդ էլյութերի ազդեցության մեխանիզմը Ca^{2+} -կախված K^+ -ի արանագրտի վրա էրիթրոցիտներում:

By β -blocker obsidan activation of Ca^{2+} -dependent K^+ channel of human erythrocytes, the inhibitors of energetic processes oligomycin, DCCD, antimycin, inhibitor of plasma membrane NADH-dehydrogenase atebrian, antioxidant ionol (but not α -tocopherol) oppress in great degree the rates of K^+ efflux and H^+ influx. By Ca^{2+} -ionophore A23187 induction of K^+ channel the inhibitory effect of oligomycin, DCCD and antimycin is

Сокращения: ДЦКД—N, N'-дидецилогексилкарбодимид, НАДН-никотинамид-денидинуклеотид восстановленный.