

Биолог. журн. Армении, 3-4 (58), 2006

УДК 57.008.5:616.127

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНОГО БУТАНОЛИДОВ НА УРОВЕНЬ МЕТАЛЛОПРОТЕИНОВ ПОСЛЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ОБЛУЧЕНИЯ

Р.Х. СААКЯН^{*}, Г.М. СИМОНЯН^{*}, П.А. КАЗАРЯН^{*}, А.А. АВЕТИСЯН^{**},
М.А. СИМОНЯН^{***}

^{*}Гематологический центр МЗ РА, 375014

^{**}Ереванский государственный университет, 375025

^{***}Институт биохимии НАН РА, 375014

Под воздействием внутрибрюшинно введенного соединения VAS-167 у облученных в дозе 3 Гр крыс происходит регулирование эндогенного уровня Cu, Zn-COD, Mn-COD, цитохрома C и клеточного цитохрома b558 сердечной ткани. Предлагается проведение комбинированной терапии с использованием соединения VAS-167 и экзогенной каталазы.

ՎԱՍ-167 միացության ներորովայնային ներարկումից հետո 3 Գր դոզայով ճառագայրված առնետների մոտ տեղի է ունենում սրտամկանի Cu, Zn-ՍՕԴ-ի, Mn-ՍՕԴ-ի, ցիտոքրոմ C-ի և քջջային ցիտոքրոմ b558-ի լեզոգոն մակարդակի կարգավորում: Ընդ որում կառավարվողին ակտիվությունը շարունակվում է նվազել: Ստացարկվում է համակցված բուժում ՎԱՍ-167 միացության և էկզոգեն կառավարի օգտագործումով:

After ionizing radiation (3 Gr) of the rats, the regulation of endogenous level of Cu, Zn-COD, Mn COD, cytochrome C and cells cytochrome of b558 of heart tissue takes place under the influence of compound VAS-167. Simultaneously the decrease of the catalase activity is observed. It is supposed to use combined therapy of the compound VAS-167 and exogenous catalase.

Соединение VAS-167 - сердце - металлопротеины - облучение

При ионизирующем облучении млекопитающих в результате радиолиза водной среды организма образуются активные формы кислорода (АФК), в частности, супероксидный радикал ($O_2^{\cdot-}$) и его производные (перекись водорода, нитроксильный и гидроксильный радикалы) [2]. Избыток АФК при патологии оказывает деградирующий и инактивирующий эффект на многие биосистемы, включая и кардиомиоциты [17]. При этом оксидативное повреждение миокарда сопровождается снижением уровня защитных антиоксидантных систем, включая витамины Е и С, с одновременной индукцией каталазы [10]. Ионизирующее облучение приводит к повышению активности перекисного окисления липидов (ПОЛ) и креатинкиназы сердечной мышцы [18], в результате чего развивается сердечная недостаточность [13]. Снижая уровень АФК, радиопротекторный эффект оказывают различные соединения антиоксидантной активности, в частности, супероксиддисмутаза (СОД) [17], каталаза [20], церулоплазмин [4], диметилсульфоксид (ДМСО) [7, 14], витамины Е и С [9, 13].

Радиопротекторный эффект оказывает и биологически активное соединение ВАС-167 (производное 4-бутанолида), регулируя липидный и энергетический обмен после ионизирующей радиации [3, 19]. Эффективность и толерантность этих радиопротекторов против АФК различны.

По предварительным данным, соединение ВАС-167 оказывает высокое противодействие перекиси водорода и имеет СОД-миметическую активность, а нахождение нетоксичных для биосистем средств, имеющих эффективные и стабильные радиопротекторные свойства, имеет актуальное значение.

Цель работы состоит в определении воздействия соединения ВАС-167 на уровень металлопротеинов анти- и прооксидантной активности миокарда после ионизирующего облучения.

Материал и методика. Белые половозрелые крысы (массой 180–200 г) обоих полов были разделены на три группы (по 12 животных): животные контрольной группы (К) получали внутривентриально по 1 мл физраствора в течение семи дней ежедневно, животные первой опытной группы (ОГ-1) получали физраствор в аналогичном режиме после ионизирующего облучения в дозе 3 Гр, животные ОГ-2 после облучения – ВАС-167 (2 мг/кг) в лечебном режиме вместо физраствора. Через 10 дней крысы были декапитированы под легким эфирным наркозом. Сердечная ткань каждой группы была очищена, извлечена и гомогенизирована в 0,04 М калий фосфатном буфере, pH 7,4 (КФБ) по 40 мл. Фракцию металлопротеинов (МП) антиоксидантной активности (МАО): Cu,Zn-СОД, Мп-СОД и каталазу получали и очищали из гомогенатов сердечной ткани биотехнологическим способом [5] с использованием дробного осаждения белковых фракций сульфатом аммония и ацетона и дальнейшего хроматографирования на целлюлозе ДЕ-52 ("Whatman", Англия). МП прооксидантной активности (МПА) пиктохром (пикт) С получали и очищали путем ионообменного хроматографирования супернатанта гомогената сердечной ткани на целлюлозе КМ-52 ("Whatman", Англия), а суммарную фракцию кардиомиоцитарного пикт b558 получали биотехнологическим способом без использования детергента для солюбилизации белка из биомембран [6] клеток и далее очищали на целлюлозе ДЕ-52. Количество пикт С определяли оптическим спектральным методом, измерением характерной для этого гемопигмента интенсивности плотности максимального оптического поглощения (бета-полоса поглощения) при 520 нм (окисленная форма белка). Количество пикт b558 определяли аналогичным образом при 530 нм (поглощение бета-полосы при 530 нм), СОД активность фракций определяли нитротетразолиевым способом (НТС) путем расчета процента ингибирования образования формазана (при 560 нм) и результате восстановления НТС супероксидными радикалами [16]. Каталазную активность фракций определяли перманганатометрическим титрованием перекиси водорода, рассчитав по количеству перекиси, которое расщепляется определенным количеством каталазы за 1 мин при 20°.

Облучение животных осуществляли на установке «РУМ-1» (СССР) с фильтрами меди и алюминия – 0,5 мм.

Оптические спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре «Spectord UV-VIS», (Германия) с длиной оптического пробегу 1 см.

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли общеизвестным методом вариационной статистики Стьюдента-Фишера, с определением критерия достоверности (P).

Результаты и обсуждение. Через 10 дней после облучения состояние животных ОГ-1 ухудшилось и имела место гибель 2 животных. Состояние животных ОГ-2 (подвижность, аппетит, цвет глаз и кожи) практически не отличалось от такового животных контрольной группы. По сравнению с 100%-ным контролем (см. табл.) суммарная СОД активность (активность Cu, Zn-СОД и Мп-СОД) в миокарде в ОГ-1 снижалась, подавлялась и активность каталазы. Снижение уровня Cu, Zn-СОД и каталазы связывается

с деградирующими эффектами O_2^- и перекиси водорода, уровень которых существенно повышается при ионизирующем облучении. Однако уровень цит С в ОГ-1 повышается, что может быть связано с эффектом отщепления из митохондрий этого гемопротенина в гомогенную фазу в результате повышения ПОЛ в мембранах митохондрий клеток сердечной ткани.

Таблица. Относительные изменения (по сравнению с 100 %-ным контролем) эндогенных уровней МАА и МПА миокарда в ОГ-1 и ОГ-2 ($P < 0,05$, $n = 8$)

Наименование металлопротеинов	Группы животных	
	ОГ-1	ОГ-2
СОД	$-18,3 \pm 2,1$	$+3,4 \pm 0,5$
Каталаза	$-16,2 \pm 1,0$	$-27,5 \pm 4,0$
Цит С	$+25,0 \pm 3,4$	$-3,6 \pm 0,1$
Цит b558	$-47,4 \pm 5,1$	$-5,3 \pm 0,3$

Аналогичный эффект, но другой интенсивности наблюдается при инфаркте миокарда [1]. Снижение уровня другого МПА – цитохрома b558 из мембран кардиоцитов может вызывать снижение интенсивности метаболических процессов с участием O_2^- . В процессе продуцирования супероксидов оксилоредуктазами, локализованными в этих мембранах, цитохром b558 участвует как кофактор, причем эти ферменты также инактивируются активными формами кислорода [11, 15]. В ОГ-2 (табл.) уровень МПА и МАА, кроме каталазы (активность этого ключевого антиоксиданта даже снижалась), практически приближается к норме.

Снижение активности каталазы в ОГ-2 необходимо учитывать для повышения эффективности ВАС-167. Регулирование уровня цитохрома С, важного переносчика электронов в дыхательной цепи митохондрий в ОГ-2, свидетельствует о регулирующем эффекте ВАС-167 на энергетические процессы митохондрий (предотвращает релиз цитохрома С).

Таким образом, можно заключить, что, являясь гидрофобным соединением, ВАС-167 фактически регулирует мембранные метаболические процессы с участием активных форм кислорода при ионизирующем облучении. Механизм такого действия, скорее всего, связывается с СОД-миметической активностью ВАС-167. Итак, ВАС-167 в большинстве случаев защищает сердечную ткань от окислительного повреждения при сублетальной дозе облучения, однако для повышения его эффективности, по-видимому, необходимо использовать и энзимотерапию экзогенной каталазой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексанян С.С., Симонян Г.М. и др. Вестник МАНЭБ, СПб. 9, 3, с. 136-139, 2004.
2. Гусев В.А., Брусов О.С., Панченко Л.Ф. Вopr. мед. химии. 3, 291-302, 1980.
3. Казарян П.А., Саакян Л.С., Егиазарян А.Р., Григорян А.Г., Бегларян М.К. Ученые записки ЕГУ. Ереван. 1, с. 86, 2002.

4. Мжельская Т.И. Бюлл. эксп. биол. мед., 130, 8, 124-132, 2000.
5. Симомян М.А. Открытие изобрет. 1. СССР. 28, 107, 1988.
6. Симомян М.А., Симомян Г.М., Симомян Р.М. Лицензия изобрет. № 908 Армпатента, Ереван, 2001.
7. Симомян Р.М., Григорян К.Р., Маркарян Ш.А., Симомян М.А. ДНАН РА. 4, 290-294, 2003.
8. Alleyne T., Josef J., Sampson V. Appl. Biochem. Biotechnol., 90, 97-105, 2001.
9. Burton G.N., Ingold K.U. N.-Y. Acad.Press, 81-89, 1983.
10. Dalloz F., Maingon P., Cottin Y. et al. Free Radic.Biol.med., 26, 7-8. 785-800, 1999.
11. Feidovich I. Annu. Rev. Biochem., 64, 97-112, 1995.
12. Hill M.G. Am.J.Pathol., 148, 1, 291-300, 1996.
13. Ivanov I.I. Mol.Biol., 18, 416-426, 1984.
14. Jacob S.W., Hershler R. Criobiology, 23, 1, 14-17, 1986.
15. Kalinina N., Agrotis A., Tararak E. Atheroscler.Thromb.Vasc. Biol., 22, 12, 2037-2043, 2002.
16. Nishikimi M., Rao N.A., Jagi K. Biochem. Biophys. Res. Commun., 46, 848-856, 1972.
17. Petkau A. Free Radicals, Aging and Degenerative diseases. Alan.R.Liss.Inc., 481-501, 1986.
18. Przybszewski W.M., Widel M., Koterbicka A. Cancer Lett., 81, 2, 185-192, 1994.
19. Sahakyan R.Kh., Ghazaryan P.A., Avetisyan A.A. 3rd young medics' international conference, Yerevan, p. 160, 2005.
20. Simonyan M.A., Nalbandyan R.M. Biochem.Biophys. Res. Commun. 90(4), 1207-1213, 1979.

Поступила 30.XI.2005