УДК 577.11+616–001.28

Антиоксидантная активность производного 4-бутанолидов в кардиомиоцитах при облучении

Р.Х.Саакян, П.А.Казарян, В.С.Арутюнян, Т.В.Кочикян

Гематологический центр МЗ РА, Ереванский государственный университет

375014, Ереван, ул. Нерсисяна, 7

Ключевые слова: ионизирующее облучение, перекисное окисление липидов, фосфолипаза A_2

В связи с развитием атомной энергетики, изменением радиоэкологической обстановки вследствие аварии на Чернобыльской АЭС, использованием малых доз облучения в практической медицине и научно-исследовательских целях в последние годы заметно возрос интерес к изучению роли перекисного окисление липидов (ПОЛ) в повреждении отдельных органов и систем, в том числе и ткани миокарда после лучевого воздействия [1, 2, 13].

Исследование сердечно-сосудистой системы после действия на организм проникающей радиации свидетельствует о функциональных изменениях важнейших показателей деятельности аппарата кровообращения (артериальное давление, пульс, электрокардиограмма, изменения в миокардиальной жидкости, увеличение потока коронарной артериальной крови [15], снижение сердечного выброса минутного объема крови, быстрое падение плотности в капиллярах). Однако механизмы, обусловливающие молекулярные изменения метаболизма миокарда при ионизирующем облучении, освещены недостаточно.

В последнее время в формировании современных представлений о механизмах биологического действия ионизирующих излучений большое значение приобретает мембранный аппарат клетки.

По мнению подавляющего большинства авторов [6,18], свободнорадикальному окислению липидов принадлежит решающая роль в развитии первичных биофизических процессов лучевого поражения.

Имеющиеся литературные данные [4,5] позволяют предположить, что положительный радиобиологический и терапевтический эффект на организм больных с лучевой патологией могут оказать синтезированные на кафедре органической химии ЕГУ академиком А.А. Аветисян, проф. В.С.Арутюняном и доц. Т.В. Кочикяном производные карбоксилактонов, в частности ВАС-167. Последний получен с помощью взаимодействия амина с хлорангидридом карбоксилактона, строение которого подтверждено инфракрасными спектрами. Скрининговые испытания амидов 2-карбоксиметил(этил) лактонов показали, что эти соединения проявляют гипотензивный, слабо выраженный гемолитический эффект, активность против вирусов герпеса, мышечно-расслабляющее и противосудорожное действие [12]. Однако в спектре биологических свойств соединений выраженной является противоопухолевая активность, а наиболее активным является соединение ВАС-167.

Оценку противоопухолевой активности ВАС-167 производили в соответствии с методическими указаниями [12]. После обнаружения противоопухолевого эффекта на модели лимфолейкоза Р-388 соединение ВАС-167 испытывалось на расширенном спектре штаммов, включающих в себя как сингенные, так и аллогенные опухолевые системы – лимфоидная лейкемия L1210, аденокарцинома молочной железы Са 755, карцинома легкого Льюиса, меланома В-16, саркома S-45, асцитная опухоль Эрлиха. Ежедневно соединение в крахмальном геле вводили мышам линии С 57В1/6, гибридам первого поколения $ВДГ_1$, аутобредным мышам и крысам.

Проведенные исследования показали наличие широкого спектра противоопухолевого действия ВАС-167 на всех использованных модельных системах [3]. Процент торможения роста опухолей варьировал от 59 до 90 %. При лечении мышей с лейкозами средняя продолжительность жизни животных увеличивалась на 53,7–65 %. На основании полученных результатов авторы [4] пришли к заключению, что достаточно высокий противоопухолевый эффект на перевиваемых опухолевых системах, а также низкие показатели острой токсичности [13] ($ЛД_{50}$ при однократном внутрибрюшинном введении белым мышам равняется 1860 мг/кг) и незначительные отрицательные коэффициенты роста животных позволяют считать соединение ВАС-167 перспективным противоопухолевым веществом.

Как известно, ведущим звеном формирования общей неспецифической реакции организма на факторы внешнего воздействия является изменение биологических мембран. В связи с этим важное значение приобретает изучение нарушений метаболизма мембранных

липидов в различных тканях и разработка способов коррекции метаболизма компонентов биомембран при ионизирующем облучении и после применения производного карбоксилактона – ВАС-167 [9].

Цель настоящего исследования – изучение роли активации процессов ПОЛ и деградации мембранных липидов при ионизирующем облучении путем определения интенсивности течения свободнорадикального окисления липидов и активности фосфолипазы A_2, а также изучение действия производного 4-бутанолидов (ВАС-167) на ПОЛ и деградацию мембранных липидов в кардиомиоцитах при ионизирующем облучении.

Материал и методы

В опытах использовали 20 белых крыс-самцов линии Вистар массой 160–180 г. Облучение проводили на аппаратах РУМ–17 в дозе 3 Гр, мощность дозы – 0,26 Гр/мин, кожно-фокусное расстояние – 60 см.

В исследованиях использовали микросомальную фракцию кардиомиоцитов, полученную методом дифференциального центрифугирования при 15000 G [10].

Активность ПОЛ определяли по реакции малонового диальдегида с тиобарбитуровой кислотой [11], а активность фосфолипазы A_2 – спектрофотометрическим методом [14].

ВАС-167 в виде 0,2 % водного раствора вводили внутрибрюшинно ежедневно (3 дня по одной инъекции в день) из расчета 10 мг/кг массы, начиная с 7-го дня облучения.

Цифровой материал подвергался статистической обработке с использованием критерия достоверности и различий Фишера-Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Известно, что стационарный уровень ПОЛ присущ всем нормально функционирующим тканям и имеет важное значение в формировании адекватных изменений метаболических процессов и функциональной активности клеток, органов и систем организма в ответ на изменение внешней среды [16]. При этом как высокий, длительно сохраняющийся уровень ПОЛ, так и чрезвычайно низкий уровень приводит к развитию патологии. Это обусловлено прежде всего тем, что процессы ПОЛ необходимы для обновления липидного слоя мембраны, поддержания устойчивого состояния мембранозависимых образований и ферментов, таких как аденилат- и гуанилатциклазы, АТФазы, ДНК-мембранный комплекс, рецепторы, в том числе и иммунные [6–8].

Полученные нами данные (рис. 1) указывают на резкое (четырехкратное) усиление процессов ПОЛ в кардиомиоцитах при лучевой патологии, что, по-видимому, можно объяснить снижением уровня антиоксидантов в кардиомиоцитах.

Предполагается, что усиление ПОЛ, вызывающее существенные нарушения в легочном метаболизме, влечет за собой и нарушение мембранной проницаемости для ионов кальция и тем самым способствует активации фосфолипазы A_2, что приводит к удалению токсичных переокисленных жирнокислотных остатков фосфолипидов. Как известно, образующиеся в результате действия фосфолипазы A_2 лизофосфатиды (лизофосфатидилхолины и лизофосфатидилэтаноламины) в определенной концентрации могут оказывать цитотоксическое действие, повреждая мембранные структуры клетки. Следует подчеркнуть тесную взаимосвязь перекисного и фосфолипазного гидролиза фосфолипидов. Молекулы с перекисными группировками с большей эффективностью атакуются фосфолипазами, чем интактные [17].

Согласно результатам проведенных нами исследований (рис. 2), ионизирующее облучение сопровождается двукратным усилением активности фосфолипазы A_2. Можно предположить, что повышение активности фосфолипазы A_2 в кардиомиоцитах, катализирующей

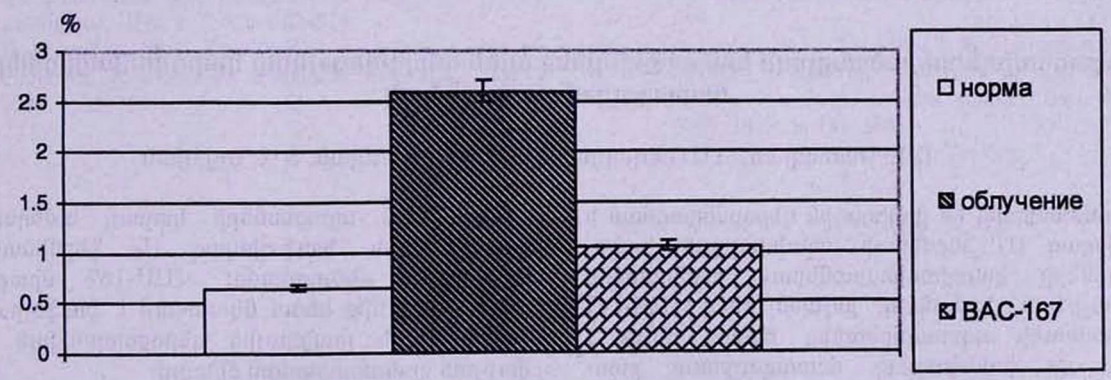

Рис. 1. Активность ПОЛ (усл. ед.) в кардиомиоцитах в норме, при ионизирующем облучении и после применения ВАС-167

реакции деацилирования фосфатидов-глицеридов, приводит к повышению пула неэстерифицированных жирных кислот (преимущественно полиеновых жирных кислот), в частности арахидоновой, которая вовлекается в различные метаболические процессы, в том числе и в реакции свободнорадикального окисления с выходом большого количества липидных перекисей.

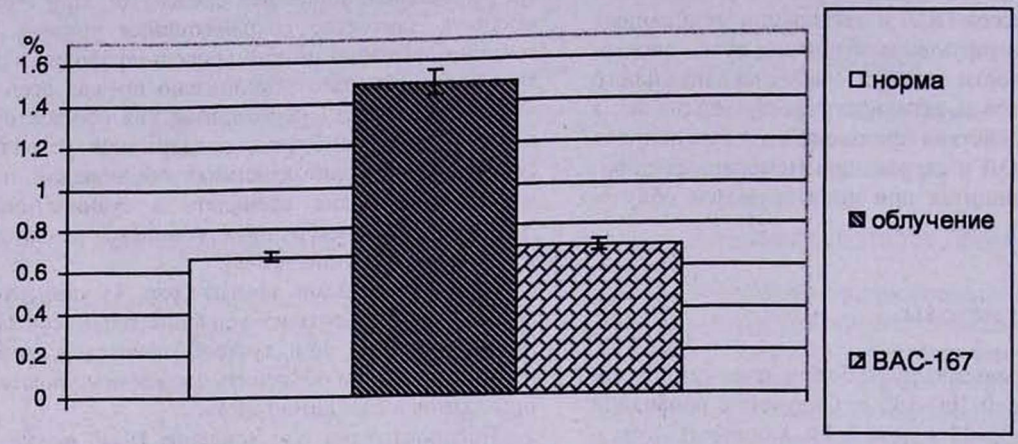

Рис. 2. Активность фосфолипазы A_2 (усл. ед.) в кардиомиоцитах в норме, при ионизирующем облучении и после применения ВАС-167

Таким образом, развитие лучевой патологии характеризуется выраженными признаками структурно-функциональной дезорганизации кардиомиоцитов, обусловленными усилением ПОЛ и повышением фосфолипазной активности в этом органе. Изменения указанных биохимических показателей со всей очевидностью позволяют говорить об их существенном патогенетическом значении в развитии почечных нарушений при ионизирующем облучении.

Исходя из установленных выраженных мембранодестабилизирующих процессов свободнорадикального окисления, представляется целесообразным купирование данных изменений использованием соединений, обладающих антиоксидантными свойствами.

Согласно нашим данным, ВАС-167 обладает определенным нормализующим действием на ПОЛ и фосфолипазный гидролиз при облучении. После применения ВАС-167 наблюдается выраженная тенденция к нормализации активности фермента и стабилизации перекисеобразования, что в определенной степени можно объяснить его мембраностабилизирующим свойством.

Таким образом, полученные нами данные позволяют заключить, что ВАС-167 характеризуется мембраностабилизирующим свойством и определенной эффективностью в плане регуляции нарушенных метаболических процессов при ионизирующем облучении.

Поступила 03.08.05

4-բութանոլիդների ածանցյալի հակաօքսիդանտային ակտիվությունը կարդիոմիոցիտներում ճառագայթման ժամանակ

Ռ.Խ.Սահակյան, Պ.Ա.Ղազարյան, Վ.Ս.Հարությունյան, Տ.Վ.Ղչիկյան

Ուսումնասիրվել են լիպիդային գերօքսիդացման և ֆոսֆոլիպազ A_2 ֆերմենտի ակտիվության փոփոխությունները կարդիոմիոցիտներում իոնիզացնող ճառագայթման ժամանակ, ինչպես նաև ՎԱՍ-167 պատրաստուկի օգտագործումից հետո: Ցույց է տրված, որ իոնիզացնող ճառագայթումը բնութագրվում է կարդիոմիոցիտների լիպիդային գերօքսիդացման պրոցեսների կտրուկ ուժեղացմամբ, ինչպես նաև ֆոսֆոլիպազ A_2 ֆերմենտի ակտիվության մեծացմամբ: ՎԱՍ-167 միացության օգտագործումից հետո նկատվում է ֆոսֆոլիպազ A_2 ֆերմենտի և լիպիդային գերօքսիդացման ակտիվության կանոնավորման միտում:

The antioxidant activity of 4-butanolide derivative in cardiomyocytes at irradiation

R.Kh.Sahakyan, P.A.Ghazaryan, V.S.Harutunyan, T.V.Kochikyan

It is shown that ionizing irradiation is characterized by stimulation of the lipid peroxidation reaction and of phospholipase A2 activity in membranes of cardiomyocytes. Using VAS-167, normalization of the lipid peroxidation and phospholipase activity was demonstrated.

Литература

1. *Абакумов Г.З., Галицкий Э.А., Селевич М.И.* Перекисное окисление липидов в крови людей, проживающих на территориях, загрязненных радионуклидами. Радиобиологический съезд. Киев, 20–25 сентября 1993. Тез. докл., Пущино, 1993, с. 3.
2. *Алехина С.М., Дробнинская Л.В., Халавко И.П.* Перекисное окисление липидов и антиоксидантная система крови у лиц, подвергающихся радиационному воздействию в связи с аварией на ЧАЭС. Радиобиологический съезд. Киев, 20–25 сентября 1993. Тез. докл., Пущино, 1993, с. 12.
3. *Арутюнян В.С., Кочикян Т.В., Глотова Т.В., Ширинян С.М., Аветисян А.А. и др.* Авт. свидетельство N1540069 (СССР) Производные 4-бутанолидов, проявляющие противоопухолевую активность, 1989, ДСП.
4. *Арутюнян В.С., Кочикян Т.В., Аветисян А.А., Кинзирский А.С.* Синтез и противоопухолевая активность амидов 2-карбоксилметил(этил)-4-алкоксиметил-4-бутанолидов (пособие для служебного пользования). Ереван, 1991, с. 15–19.
5. *Арутюнян В.С., Кочикян Т.В., Аветисян А.А., Кинзирский А.С.* Противоопухолевая активность в ряду производных 4-бутанолидов. Актуальные проблемы экспер. и клин. медицины. 1998, с. 409.
6. *Барабой В.А., Орел В.Е., Карнаух И.М.* Перекисное окисление и радиация. Киев, 1991.
7. *Бурлакова Е.Б., Сторожев Н.М., Храпова Н.Г.* Исследование роли фунциональных групп в действии фосфолипидов как синергистов окисления. Биол. мембраны, 1990, т. 7, 6, с. 612–618.
8. *Владимиров Ю.А.* Свободные радикалы в живых системах. Итоги науки и техники. Биофизика, 1991, т. 29, с. 33–35.
9. *Егиазарян А.Р., Казарян П.А., Арутюнян В.С. и др.* Активность ферментных систем фосфатидогенеза и содержание метаболитов липидов при облучении и после применения 4-бутанолидов. В сб. материалов I науч.-мед. конференции «Здоровье человека». Ереван, 2002, с. 179.
10. *Казарян П.А., Карагезян К.Г.* Изменение ферментных систем липогенеза и метаболитов липидов в мозгу и печени при голодании и адреналиновом возбуждении. В кн.: Вопросы биохимии мозга. Ереван, 1974, с. 75–86.
11. *Ланкин В.З., Гуревич С.М., Бурлакова Е.Б.* Биоантиокислители. М., 1975, 73с.
12. *Софьино З.*П. Первичные отбор противоопухолевых препаратов. Метод. рекомендации. 1980, с. 35.
13. Химиотерапия злокачественных опухолей /под ред. Н.Н.Блохина. М., 1977, с. 181.
14. *Grassl M., Maellering H.* Anal. Chem., 1969, 243, p. 416–423.
15. *Haasler G.B., Phyne T.L., Komorovski R., Boerboom L.E., Sagar K.B.* The lack of effect of hemodilutiom, myocardial water content, and increased coronary artery blood flow on integrated myocardial ulrtasonic bakceatter in the beathing canine heart, Ultrason. Imaging, 1993, Jan., 15(1), p. 25–35.
16. *Halliwell B., Gitteridge J.M.* Free radicals in biology and medicine. Oxford, Cl. Areton press, 1989.
17. *McLean L.R., Hagaman K.A., Davidson W.S.* Role of lipid structure in the activation of phospholipase A_2 by peroxidized phospholipids, Lipids. 1993, 28, 8, p. 505–509.
18. *Poliakova N.V., Shishkina L.N.* The action of gamma radiation at different dose rates of lipid peroxidation processes in mouse tisssues. Radiats. Biol. Radioecol., 1995, 35(2), p. 181–188.