

БИОХИМИЯ

УДК 615.277.3, 543.852.6

А. С. Карагулян

Роль нового производного цианосодержащих лактонов в регуляции метаболизма компонентов фосфоинозитидного цикла мембран клеток тимуса при саркоме-45

(Представлено академиком К.Г. Карагезяном 24/II 2012)

Ключевые слова: *саркома-45, производное цианосодержащих лактонов, фосфоинозитиды, фосфоинозитидный цикл, клетки тимуса.*

Исследование механизмов межклеточных взаимодействий, поиск ответственных звеньев в нарушениях регуляции ионтранспортных сигнальных систем в настоящее время приобретают все большую актуальность. Литературные данные [1, 2] о роли фосфоинозитидных мессенджеров в передаче сигнала при онкологических заболеваниях требуют выяснения механизмов запуска и регуляции фосфоинозитидной сигнальной системы (ФСС), обеспечивающей антиапоптоз как нормальной, так и опухолевой клеток. Установлена непосредственная связь нарушений функционирования фосфоинозитол-3-киназного каскада, являющегося важнейшим звеном ФСС, с возникновением широкого спектра опухолей [1-3]. Так, повышение активности фосфоинозитид-3-киназы, фермента, дефосфолирующего фосфоинозитиды (ФИ), наблюдается при опухолях молочной железы [4]. Развитие опухолей эндометрия, связанное со снижением уровня фосфатазы, также ингибирует фосфоинозитидный каскад [2, 5-7]. Установлено, что опухоли лимфатической системы – лимфомы, а также нейробластома, остеосаркома и саркома Юинга, опухоли печени так или иначе связаны с вовлечением ФСС, механизмы активации которой имеют широкий спектр [2]. Возможны также подключения других сигнальных систем с активацией ферментов регуляции пролиферации, транскрипции и промоции опухолей [8, 9]. Понимание механизмов ФСС в регуляции роста опухолей необходимо для разработки и поиска более эффективных схем лечения онкологических заболеваний.

В последние годы создан ряд нетоксичных ингибиторов ФИ-3-киназного сигнального пути, что позволяет разработать новые подходы для комбинированной противоопухолевой терапии [3,10-12]. Нами были про-

ведены исследования ранних этапов транслокации внешнего сигнала через плазматические мембраны клеток тимоцитов путем исследования некоторых компонентов фосфоинозитидной сигнальной системы, в частности, монофосфоинозитидов (МФИ), дифосфоинозитидов (ДФИ) и трифосфоинозитидов (ТФИ).

Целью настоящей работы являлось исследование некоторых патогенетических механизмов развития опухолевого процесса при экспериментальной модели опухоли веретенчаточного происхождения – саркомы-45 (S-45) и противоопухолевой активности нового производного цианосодержащих лактонов.

Материал и методы исследований. Эксперименты проводились на 30 белых крысах-самцах линии Вистар массой 180-200 г, разделенных на три группы. Первая, контрольная, группа состояла из 10 интактных животных. Животным второй и третьей групп подкожно перевивали опухолевый штамм S-45, полученный из опухолевого банка Онкологического центра МЗ РФ (Москва). Перевивку проводили в специальном боксе лаборатории токсикологии и химиотерапии Научно-технологического центра органической и фармацевтической химии ГНТО НАН РА под руководством Р.Е. Мурадяна. Терапевтический эффект оценивали по степени ингибирования роста опухоли в процентах к контролю. Лечение было начато через 4 дня после перевивки. Цианосодержащее производное лактона вводили в течение 3 дней непрерывно, однократно в виде водного раствора (из расчета 17.5 мг/кг массы животного). Животных забивали под эфирным наркозом на 15-е сутки эксперимента методом декапитации. Мембраны клеток тимуса получали методом дифференциального центрифугирования. Затем методом тонкослойной хроматографии осуществляли выделение и фракционирование ФИ на закрепленном слое силикагеля марки ЛС 5/40 мкм в системе хлороформ:метанол:аммиак (45:35:10) [14, 15]. Статистическую обработку данных проводили с учетом критерия достоверности по Фишеру – Стьюденту.

Результаты и обсуждение. В результате проводимых экспериментов наблюдаются количественные изменения в спектре ФИ (таблица). Установлено, что формирование солидной опухоли саркомы-45 у экспериментальных животных приводит к почти двукратному ($P < 0.01$) повышению уровня ТФИ в мембранах клеток тимуса. При этом отмечалось выраженное (почти в 1.5 раза) снижение содержания МФИ и незначительное изменение ДФИ.

Полученные результаты о количественных сдвигах компонентов фосфоинозитидного цикла свидетельствуют об активации ФСС, что характерно для опухолевой трансформации, когда клетки теряют способность использовать защитные механизмы и это приводит к блокированию апоптоза [11]. Анализ полученных данных указывает на глубокие изменения метаболизма изучаемых компонентов фосфоинозитидного цикла в мембранах клеток тимуса экспериментальных животных при саркоме-45.

Накопление вторичного мессенджера – ТФИ способствует опухолевому росту, что согласуется с морфологическими данными. Высокое со-

держание ТФИ и фосфатидных кислот (ФК) [16], возможно, обусловлено подавлением активности фосфолипазы С-фосфоинозитидспецифичной фосфатазы и фосфатидатфосфатазы, соответственно.

Количественные изменения фосфоинозитидов клеток тимуса при саркоме-45 и после применения нового циансодержащего лактона (в мкг Р на 1 г свежей ткани)

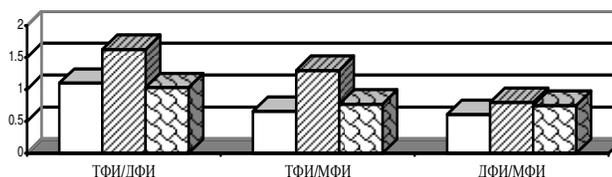
ФИ	Контроль (n=10)	Саркома-45 (n=10)	Лечение (n=10)	P ₁	P ₂	P ₃
ТФИ	434.5±21.05	689.4±29.87	406,2±34,23	<0.01	<0.001	>0.05
ДФИ	396.1±40,34	423.9±35.47	394,4±31,12	>0,05	>0,05	>0.5
МФИ	654.9±32,9	528.9±60.36	524.8±21.14	<0.05	>0.5	<0.05

Примечание. P₁ – сравнение данных при саркоме-45 с контролем; P₂ – сравнение данных при саркоме-45 с данными после лечения; P₃ – сравнение данных после лечения с контролем.

Особый интерес представляют результаты, касающиеся изучения особенностей количественных и качественных изменений в спектре ФИ мембран клеток тимуса после применения циансодержащего производного лактона (2-циан-3,4,4-триметил-2-бутен-4-олид). Установлено, что при этом наблюдается явно выраженная тенденция к нормализации уровня исследованных показателей. Так, в результате терапии в клеточных мембранах тимуса почти полностью восстанавливается содержание ТФИ и ДФИ. В этих условиях абсолютный уровень МФИ не подвергается статистически достоверным отклонениям (по сравнению с опытной группой), хотя их относительное содержание (37.1%) приближается к норме (41.4%).

Анализ полученных результатов, касающихся изучения особенностей изменения величин коэффициентов соотношений отдельных фракций ФИ, указывает на неоднозначность характера их изменений. Так, при исследуемой патологии величины коэффициентов соотношений ТФИ/ДФИ и ТФИ/МФИ, а также ДФИ/МФИ возрастают (рисунок), что свидетельствует об ускорении процесса деградации компонентов фосфоинозитидного цикла. После введения циансодержащего производного лактона коэффициенты соотношений абсолютных величин спектра ФИ при исследуемой патологии почти полностью нормализуются.

Таким образом, полученные нами данные являются доказательством нарушения при саркоме-45 регуляции фосфоинозитидного цикла, следовательно и ФСС, обеспечивающей транслокацию внешних сигналов, что позволяет контролировать такие кардинальные клеточные функции, как пролиферация и апоптоз.



Коэффициенты соотношений абсолютных величин спектра фосфоинозитидов при саркоме-45 и после введения цианосодержащего лактона (в мкг Р на 1 г свежей ткани). Белое – контроль, диагональные линии – саркома-45, черепица – лечение.

Нет сомнений, что вышеуказанные изменения в уровне важнейших компонентов этого каскада, в частности, липидных вторичных посредников, могут привести к нарушению деятельности функциональной активности биомембран, тем самым оказывая влияние на защитные механизмы и способствуя развитию злокачественных новообразований.

Полученные результаты свидетельствуют о положительном воздействии изучаемого препарата на состояние компонентов фосфоинозитидного цикла, приводящем к стабилизации биомембран и восстановлению функциональной активности клеток тимуса.

Ереванский государственный университет
Институт биохимии им. Г.Х. Бунятыя НАН РА

А. С. Карагулян

Роль нового производного цианосодержащих лактонов в регуляции метаболизма компонентов фосфоинозитидного цикла мембран клеток тимуса при саркоме-45

Исследовано содержание некоторых компонентов фосфоинозитидной сигнальной системы мембран клеток тимуса при экспериментальной опухоли саркома-45. Установлено, что при этом происходит увеличение уровня моно-, ди- и трифосфоинозитидов, приводящее к нарушению коэффициентов их соотношений и к деструктивным изменениям биомембран тимоцитов. После применения соединения цианосодержащего лактона наблюдается определенная нормализация уровня изучаемых компонентов биомембран.

Ա. Ս. Ղարագուլյան

Նոր ցիան խումբ պարունակող լակտոնների ածանցյալի դերը թիմուսի բջջաթաղանթների ֆոսֆոինոզիտիդային ցիկլի բաղադրիչների փոխանակության կանոնավորման գործընթացում սարկոմա 45-ի ժամանակ

Ուսումնասիրվել են թիմուսի բջիջների թաղանթների ֆոսֆոինոզիտիդային ազդանշանային համակարգի որոշ բաղադրամասերի պարունակության փոփոխությունները փորձարարական սարկոմա-45-ի ժամանակ: Հաստատված է, որ այդ պայմաններում դիտվում են մոնո-, դի- և եռֆոսֆոինոզիտիդների մակարդակների բարձրացում և նրանց հարաբերակցության գործակիցների փոփոխություններ:

Ցիան խումբ պարունակող չհագեցած լակտոնի օգտագործումից հետո տեղի է ունենում ուսումնասիրվող բոլոր ցուցանիշների որոշակի նորմավորում:

A. S. Karagulyan

The Role of New Cyan Containing Lactones Derivative in Regulation of a Metabolism of Thymus Cells Membrane Phosphoinositide Cycle Components in Case of Sarcoma-45

The content of some components of phosphoinositide signaling system of thymocytes membranes in case of experimental tumour sarcoma-45 has been investigated. It has been established that under such conditions occurred a level growth of mono-, di- and triphosphoinositides leading to infringement of coefficients of their relations, as well as to destructive modifications of thymocytes biomembranes. After application of cyan containing lactone conjunction definite normalization of the level of the studied biomembranes components is observed.

Литература

1. *Вересов В. Г., Кабак А. Г., Волотовский И.Д.* – Биофизика. 2002. Т. 47. № 1. С. 31-37.
2. *Шпаков А.О.* – Вопросы онкологии. 2002. Т. 48. С. 644-654.
3. *Шатская В.А., Красильников М.А., Павличенко О.В.* – Бюл. эксперимент. биологии и медицины. 2007. № 2. С. 206-210.
4. *Герштейн Е.С., Кушлинский Н.Е., Овчинникова Л.К.* – Вопр. биол., мед. и фармацевт. химии. 2009. № 5. С. 10-13.
5. *Слюсарь Н. Н.* Роль фосфоинозитидов и их метаболитов в онкогенезе Докт. дис. СПб. 1993.
6. *Зинченко В.П., Долгачева Л.П.* Внутриклеточная сигнализация. Пущино. 2003. 150 с.
7. *Орловская И.А., Топоркова Л.Б., Феофанова Н.А.* –Иммунология. 2009. № 2. С. 136-139.
8. *Pendaries C., Tronchera N., Plantavid M., Payrastra B.* – FEBS Lett. 2003.V. 546. P. 25-31.

9. *Toker A.* – Cell Mol. Life Sci. 2002. V. 59. P. 761-779.
10. *Kingsbury S.R., Gout I. T.* – Experimental Oncology. 2003. V. 25. P. 3-15.
11. *Toretsky J.A., Thaker M., Eskenazi A.E., Frantz C.N.* – Cancer Res. 1999. V. 59. P. 5745-5750.
12. *Чернов В.А., Богомолова Н.С., Минакова С.М., Сускова В.С.* В сб.: Фармакокинетика проспидина и крыс. Фармакокинетика и метаболизм лекарственных препаратов. М. 1978.
13. *Ghazaryan P.A., Panosyan T.R., Ghochikyan T.V., Harutunyan V.S., Ghazaryan A.P.* - J. Blood. 2010. V. 1(10). P.24.
14. *Зубер В. Л.* Выделение полифосфоинозитидов. Методы биохимических исследований. (Учебное пособие под ред. Прохоровой М.И.) Л. 1982.
15. *Казарян П. А., Элоян Д. В.* Хроматографические методы. М. ЦОЛИУВ. 1982.
16. *Ghazaryan P. A., Galoyan G.M., Karagulyan A.S.* In: International Society of Haematology Congress, European&African Divison, Budapest. 2007. Abstr. P030.