

УДК 612.014.4.083.36

Р. М. АРУТЮНЯН, Г. Г. ОГАНЕСЯН, Р. Е. МУРАДЯН, К. С. МАРГАРЯН

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ НОВЫХ ПОРФИРИНОВ МЕТОДОМ ДНК-КОМЕТ *IN VIVO*

Методом ДНК-комет оценивалась сравнительная генотоксичность нового порфирина TOEt4PyP и его Ag-, Zn- и Co-производных в лейкоцитах крови мышей *in vivo* в зависимости от времени воздействия. Повышение уровня повреждений ДНК через 24 ч после введения изучаемых порфиринов по сравнению с уровнем, наблюдаемым через 6 часов, свидетельствует о кумулятивном эффекте их воздействия, что может быть использовано в химиотерапии опухолей.

Исследования порфиринов и их аналогов за последнее десятилетие стремительно развиваются. Повышенный интерес к уникальной структуре порфиринов и металлопорфиринов обусловлен реальными перспективами их использования в химиотерапии опухолей. В частности весьма перспективной является их уникальная способность селективно накапливаться в опухолевых тканях и удерживаться там длительное время [1]. Фармакологические и биологические свойства порфиринов во многом определяются их структурой. Поэтому во многих лабораториях занимаются целенаправленным синтезом новых порфиринов с целью получения наиболее активных и безопасных соединений. Подобный поиск предполагает обязательную оценку их генотоксичности с учетом механизмов действия изучаемых соединений на ДНК и возможности уменьшения побочного воздействия на нормальные клетки организма.

Исследования токсичности и противоопухолевой активности новых порфиринов, синтезированных на кафедре фармакологической химии ЕрГМУ, проводятся в лаборатории предклинической токсикологии Института тонкой органической химии НАН РА согласно методическим рекомендациям [2]. Одновременно изучаются их генотоксические свойства методом ДНК-комет. Метод широко используется для оценки повреждений и репарации ДНК в любых популяциях эукариотических клеток *in vitro* и *in vivo* [3].

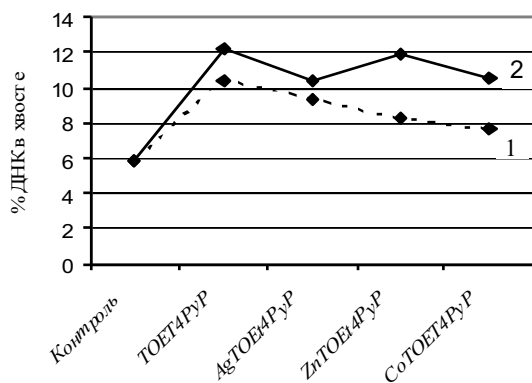
Целью настоящего исследования являлось изучение генотоксической активности мезо-тетра (4-N-оксиэтилпиридил) порфина тетрахлорида и его Ag-, Zn- и Co-производных в клетках крови белых беспородных мышей

in vivo в зависимости от времени воздействия препаратов методом ДНК-комет (гель-электрофорез единичных клеток).

Материал и методика. Эксперименты проводили на белых беспородных мышах весом 25–30 г. Для каждого экспериментального варианта было использовано по 3 животных. Мышам вводили препараты ТОEt4PyP, ZnТОEt4PyP и СоТОEt4PyP в дозе 25 мг/кг и AgТОEt4PyP в дозе 15 мг/кг, что соответствует ½ LD50. Забор образцов цельной крови проводили через 6 и 24 часа после однократного введения препаратов. Для оценки индукции комет применяли методику П. Синха с соавторами с небольшими модификациями [4]. Для получения оптимальной плотности клеток на предметное стекло наносили смесь 15 мкл цельной крови мышей и 85 мкл раствора агарозы. Все остальные этапы осуществляли по стандартной методике [5]. Изображения комет анализировали с применением программы автоматического анализа Comet 4 (*Kinetic Imaging*, Liverpool). В каждом варианте анализировали по 150 клеток. Уровень повреждений ДНК оценивался на основе измерений процента ДНК в хвосте.

Статистический анализ полученных результатов проводили с помощью программ Microsoft EXCEL и STATGRAPHICS Plus 5.1 с применением непараметрического теста Mann-Whitney (U-test).

Результаты и обсуждение. Через 6 часов после введения препаратов наблюдалось достоверное ($p < 0,05$) повышение % ДНК в хвосте комет для ТОEt4PyP (10,41%), AgТОEt4PyP (9,32%) и ZnТОEt4PyP (8,20%) по сравнению с контролем (5,86 %). Через 24 часа после введения также было отмечено



ДНК в хвосте комет в лейкоцитах мышей после введения порфиринов ТОEt4PyP, AgТОEt4PyP, ZnТОEt4PyP и СоТОEt4PyP: 1 – через 6 ч после введения; 2 – через 24 ч.

изученных порфиринов при оценке их генотоксичности, что создает предпосылки для их возможного применения в химиотерапии опухолей.

Работа выполнена при поддержке гранта А-301.2.

Кафедра генетики и цитологии

Поступило 13.02.2007

ЛИТЕРАТУРА

1. Vicente MG.H. – Current Med. Chem, Anti-Cancer Agents, 2001, v.1, p. 175–194.

2. Степанов А.В. Доклинические исследования лекарственных средств. Методические рекомендации. Киев, 2002.
3. Tice R.R., Agurell E., Anderson D., Burlinson B., Hartman A., Kobayashi H., Miyamae Y., Royas E., Ryu J.C., Sasaki Y.F. – Environ. Mol. Mutagen., 2000, v. 35, p. 206–221.
4. Singh N.P. et al. – Exp. Cell Research, 1988, v. 175, p. 184–191.
5. Hovhannisyan G., Haroutiunian S., Ghazaryan R., Aroutiounian R., Margaryan K. – Korean Journal of Environmental Biology, 2005, v. 23, № 4, p. 379–382.

Ռ. Մ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ, Գ. Գ. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ, Ռ. Ե. ՄՈՒՐԱԴՅԱՆ,
Թ. Ս. ՄԱՐԳԱՐՅԱՆ

ՆՈՐ ՊՈՐՖԻՐԻՆՆԵՐԻ ԳԵՆՈՏՈՔՍԻԿ ԷՖԵԿՏՆԵՐԻ
ՀԱՄԵՍԱՏԱԿԱՆ ԱՆԱԼԻԶԸ ԴՆԹ-ԳԻՍԱՍՏՎԵՐԻ ՄԵԹՈՂՈՎ *IN VIVO*

Ամփոփում

ԴՆԹ-գիսաստղերի մեթոդով գնահատվել է նոր պորֆիրին՝ TOEt4PyP-ի և նրա Ag-, Zn- և Co-ածանցյալների համեմատական գենոտոքսիկոթյունը մկների արյան լեյկոցիտներում *in vivo*՝ կախված ազդման ժամանակից: ԴՆԹ-ի վնասվածքների մակարդակի բարձրացումը ուսումնասիրվող պորֆիրինների ներարկումից 24 ժամ անց (ներարկումից 6 ժամ անց վնասվածքների մակարդակի համեմատությամբ) վկայում է նրանց կումուլյատիվ էֆեկտի մասին, ինչը կարող է կիրառվել ուռուցքների քիմիոթերապիայում:

R. M. HAROUTYUNIAN, G. G. HOVHANNISYAN, R.Ye. MURADYAN, K. S. MARGARYAN

COMPARATIVE ANALYSIS OF GENOTOXIC EFFECTS OF NEW
PORPHYRINS IN COMET ASSAY *IN VIVO*

Summary

Comparative genotoxicity of new porphyrins TOEt4PyP and their Ag-, Zn- and Co derivatives was estimated by Comet-assay in mice leukocytes *in vivo*, depending on time of treatment. The increase of level of DNA damage after 24 hours in comparison with 6 hours of porphyrins administration confirms their cumulative effect, that can be applied in chemotherapy of tumors.