

Биология

УДК 616.155.392-036.11-092-07

Н. С. БАБАЯН, А. Л. ГЕВОРКЯН, А. Г. ТОВМАСЯН

ИССЛЕДОВАНИЕ НОВОГО ВОДОРАСТВОРИМОГО Ag-ПОРФИРИНА  
(AgTOEtPyP) *IN VITRO*

В данной работе было исследовано воздействие AgTOEtPyP на кинетику клеточной популяции *in vitro* с использованием морфологических и биохимических методов. Результаты работы свидетельствуют о том, что он подавляет клеточное деление и одновременно индуцирует гибель клеток. Около 40% клеток погибает по пути апоптоза, из чего следует, что исследованный порфирин активирует как некротические, так и апоптозные процессы. Полученные результаты подтверждают высказанное ранее представление о AgTOEtPyP как о потенциальном хемотерапевтическом агенте.

Известная способность катионных порфиринов связываться с нуклеиновыми кислотами стимулировала исследования их медико-биологической активности. В последнее время появились сведения о противовирусном [1], противоопухолевом [2] и противомикробном [3] действии порфиринов. Будучи фотосенсибилизаторами, порфирины широко применяются в фотодинамической терапии опухолей [4]. У многих порфиринов обнаружена способность селективно накапливаться и долговременно сохраняться в опухолевых тканях [5]. Можно утверждать, что производные порфиринов являются перспективными кандидатами для поиска и разработки новых лекарственных средств.

Ранее мы синтезировали новый тетранитрат мезо-тетра(4-N-оксиэтилпиридил)порфирин (TOEtPyP) и его металлопроизводные [6]. Была проведена оценка токсичности *in vitro* двух из них: AgTOEtPyP и ZnTOEtPyP. Обнаружено, что эти соединения отвечают по меньшей мере двум требованиям, предъявляемым к потенциальным противоопухолевым агентам, так как их высокая цитотоксичность сочетается с низкой генотоксичностью [7]. Воздействие данных веществ на кинетику клеточной популяции, скорость и индукцию разных путей гибели клеток (апоптоз или некроз) исследовано не было.

Целью настоящей работы стало детальное исследование влияния AgTOEtPyP на пролиферативную активность и жизнеспособность клеток *in vitro* с применением морфологических и биохимических методов.

Исследуемый порфирин тетранитрат мезо-тетра(4-N-оксиэтилпиридил)порфинато Ag(II) (AgTOEtPyP) представляет собой водорастворимое

металлопроизводное ТОЕтРур, молекулярная масса которого составляет 1,152 Да. Была использована клеточная линия KCL22 (суспензионная клеточная линия хронической миелоидной лейкемии человека на стадии бластного кризиса). Клетки культивировали в питательной среде RPMI–1640 с 10% эмбриональной бычьей сыворотки (Sigma-Aldrich and Biochrom AG, Германия) и с 50 мкг/мл гентамицина (Белмедпрепараты, Беларусь) при 37<sup>0</sup>С. Растворенный в воде AgТОЕтРур добавляли к клеточной суспензии в конечной концентрации 20 мкмоль/мл. Данная концентрация была ранее определена как IC50 (концентрация агента, вызывающая гибель 50% клеток *in vitro*) для суспензионной клеточной линии K562 хронической миелоидной лейкемии человека [7]. В течение 24 ч с интервалом в 3 ч анализировали жизнеспособность клеток (по тесту исключения витального красителя трипанового синего), их морфологические изменения (с помощью окраски красителями акридиновым оранжевым и Гимза определяли скорость апоптозной гибели клеток и пролиферативную активность культур соответственно путем подсчета клеток с апоптозными тельцами и митотических клеток) и фрагментацию ДНК (гель-электрофорезом ДНК).

Клеточная линия KCL22 оказалась высокочувствительной к токсическому действию AgТОЕтРур – в течение 24 ч инкубации с агентом погибало 75–90% клеток. Результаты наших наблюдений свидетельствуют о том, что эффект AgТОЕтРур состоит в одновременном подавлении клеточной пролиферации и активации гибели клеток, причем около 40% клеток погибает по апоптозному пути. Таким образом, исследованный порфирин можно отнести к индукторам и некротических, и апоптозных процессов. Полученные ранее [7] и представленные в настоящей работе результаты дополняют друг друга и позволяют разъяснить механизм цитотоксического действия AgТОЕтРур. Результаты исследований также подтверждают наше прежнее утверждение о том, что этот порфирин может рассматриваться как потенциальный хемотерапевтический агент.

Кафедра генетики и цитологии

Поступило 27.02.2008

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Vzorov A.N., Dixon D.W., Trommel J.S., Marzilli L.G., Compans R.W. – Antimicrob. Agents Chemother., 2002, v. 46, p. 3917–3925.
2. Berg K., Selbo P.K., Weyergang A., Dietze A., Prasmickaite L., Bonsted A., Engesaeter B.O., Angell-Petersen E., Warloe T., Frandsen N., Hogset A. – J. Microsc., 2005, v. 218, № 2, p. 133–147.
3. Jori G. – J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol., 2006, v. 25, p. 505–519.
4. Ohse T., Nagaoka S., Arakawa Y., Kawakami H., Nakamura K. – J. Inorg. Biochem., 2001, v. 85, № 2, p. 201–208.
5. Vicente M.G.H. – Curr. Med. Chem. Anticancer Agents, 2001, v. 1, p. 175–194.
6. Ghazaryan R.K., Sahakyan L.A., Tovmasyan A.G. Patent of the Republic of Armenia № 1716 A2, 2006.
7. Gasparyan G., Hovhannisyan G., Ghazaryan R., Sahakyan L., Tovmasyan A., Grigoryan R., Sarkissyan N., Margaryan K., Haroutiunian S., Arutyunyan R. – Int. J. Toxicol., 2007, v. 26, p. 479–502.

Ն. Ս. ԲԱԲԱՅԱՆ, Ա. Լ. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ, Ա. Գ. ԹՈՎՄԱՍՅԱՆ

ՆՈՐ ՋՐԱԼՈՒԾ Ag-ՊՈՐՖԻՐԻՆԻ (AgTOEtPyP) *IN VITRO*  
ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ամփոփում

Ներկա աշխատանքում ուսումնասիրվել է *in vitro* AgTOEtPyP-ի ազդեցությունը բջջային պոպուլյացիայի կինետիկայի վրա մորֆոլոգիական և բիոքիմիական մեթոդների օգտագործմամբ: Արդյունքները վկայում են այն մասին, որ AgTOEtPyP-ն ճնշում է բջջի բաժանումը՝ միաժամանակ առաջ բերելով նրա մահը: Բջջերի ~40%-ը մահանում է ապոպտոզի ուղիով, որից հետևում է, որ ուսումնասիրվող պորֆիրինը ակտիվացնում է ինչպես նեկրոտիկ, այնպես էլ ապոպտոտիկ պրոցեսները: Ստացված արդյունքները հաստատում են նախկինում առաջադրված միտքը այն մասին, որ AgTOEtPyP-ն իրենից ներկայացնում է պոտենցիալ քիմիաթերապևտիկ միացություն:

N. S. BABAYAN, A. L. GEVORGYAN, A. G. TOVMASYAN

*IN VITRO* INVESTIGATION OF NEW WATER-SOLUBLE  
Ag-PORPHYRIN (AgTOEtPyP)

Summary

In this work the effect of porphyrines, AgTOEtPyP, on the cell population kinetics was studied *in vitro* using morphological and biochemical techniques. The results suggested that AgTOEtPyP action consisted in the simultaneous suppression of the cell growth and activation of the cell death. About 40% of the cells were shown to die via apoptotic pathway. So, the porphyrin studied may be attributed to inducers of both necrotic and apoptotic processes. The results obtained support our previous assertion that AgTOEtPyP may be considered as a potential chemotherapeutic agent.