

Таблица 2

Расчетные параметры цитотоксического взаимодействия между МПК человека и клетками линии K562, полученные в нелинейной регрессионной модели $y=A(x-B)^C$.

Количество клеток-мишеней на лунку	Расчетные параметры		
	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>
1×10^4	15,23782	2,5	0,35067
2×10^4	6,23772	1,25	0,77701
4×10^4	9,58552	0,625	0,53514

В завершение мы изучили стабильность МТТ в присутствии противолейкозных лекарственных препаратов. На протяжении стандартного периода постановки теста (4-е часа) МТТ стабилен в растворе, содержащем 0,001–100 мкг/мл бусульфана, 0,001–1000 мкг/мл цитарабина и 0,001–10 мкг/мл *N*-гидроксикарбамида. Стабильность МТТ при указанных концентрациях цитостатиков позволяет успешно использовать МТТ тест для оценки дозо- и время-зависимого эффекта противолейкозных препаратов на выживаемость клеток линии K562. В случае же с *N*-гидроксикарбамидом при концентрации этого препарата выше 10 мкг/мл МТТ начинает спонтанно окисляться до формазана, что не позволяет использовать данный тест для оценки специфической гибели лейкозных клеток, индуцированной *N*-гидроксикарбамидом.

Литература

1. *Haugland R. P.* Handbook of fluorescent probes and research products. Ninth Edition / Leiden, 2002.
2. *Kemenade E. W., Ligtenberg M. J. L., Boer A. J.* et al. Episialin (MUC1) inhibits cytotoxic lymphocyte-target cell interaction // J. Immunol. 1993. № 2. P. 767–776.
3. *Liu J. W., Tang Y., Shen Y., Zhong X. Y.* Synergistic effect of cell differential agent-II and arsenic trioxide on induction of cell cycle arrest and apoptosis in hepatoma cells // World J. Gastroenterol. 2003. № 1. P. 65–68.
4. *Niks M., Otto M.* Towards an optimized MTT assay // J. Immunol. Methods. 1990. № 1. P. 149–151.

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АНАЛОГОВ ПРОСТАГЛАНДИНОВ Е С МОДИФИЦИРОВАННОЙ Ω -ЦЕПЬЮ

О. И. Губич

Простагландины (ПГ) – специфические биорегуляторы, представляющие собой низкомолекулярные продукты биотрансформации полиненасыщенных жирных кислот [1]. Физиолого-биохимический эффект ПГ обеспечивается несколькими системами сигнальной трансдукции; преобладающим путем является аденилатциклазный (АЦ) каскад [2].

Относительная неустойчивость данных соединений *in vivo*, а также их низкая биологическая селективность ограничили использование нативных ПГ структур в современной фармакотерапии и послужило мотивом проведения работы по направленному изменению структуры природного ПГ с целью создания соединений, устойчивых к ферментативному разрушению и оказывающих пролонгированное и селективное биологическое действие [1]. Между тем, число используемых в настоящее время препаратов ПГ типа, а также простаноидов с четко идентифицированными молекулярно-биохимическими свойствами весьма ограничено.

В связи с этим, целью настоящей работы явилось установление структурно-функциональной взаимосвязи в ряду метиловых эфиров 11-дезоксипПГЕ₁, модифицированных по ω -цепи.

Работа выполнена на очищенной фракции плазматических мембран гепатоцитов печени крыс. Гепатоциты выделяли путем нерециркуляционной, неэнзиматической перфузии по Berry, Friend [3]. Плазматические мембраны гепатоцитов получены дифференциальным центрифугированием в градиенте плотности сахарозы [4]. Измерение белка в мембранном препарате проводили по [5]. Активность простаноидов оценивали по их способности изменять функциональное состояние АЦ системы, определяемое по количеству цАМФ, накопленному в среде инкубации и измеренному методом радиоиммунного анализа [6]. Статистическую обработку результатов выполняли с помощью пакета программ Stadia 6.0.

Первым этапом работы по изучению функциональной активности 11-дезоксипАналогов ПГЕ₁ явилась количественная оценка их влияния на базальную и ГТФ-стимулированную активность АЦ. Установлено, что в системе, исключающей ГТФ, влияние большинства аналогов на уровень синтеза цАМФ недостоверно (данные не приводятся). Исключение составляют соединения ТЯ-239, ТЯ-227 и ТЯ-280, вызывающие снижение активности АЦ на 38, 62 и 47 % соответственно, причем наиболее выраженный эффект проявляет соединение, содержащее 15-фенильную группу, соединенную в ω -цепи с ядром изоксазола.

При добавлении в среду инкубации насыщающей концентрации ГТФ, обеспечивающего запуск всего АЦ каскада, 11-дезоксипАналоги образуют 3 функциональные группы (таблица):

1. Соединения, активирующие АЦ систему (ТЯ-280, ТЯ-227;
2. Аналоги, не оказывающие достоверного влияния на анализируемую ферментную систему (ТЯ-287, ТЯ-30, ТЯ-263, ТЯ-239, ТЯ-246);
3. Простаноиды, снижающие синтез цАМФ (ТЯ-246).

Известно, что 11-дезоксипПГЕ₁ является лучшим агонистом для сопряженных с Gs-белком рецепторов EP₂/EP₄-типа [2]; таким образом, наблюдаемый для аналогов ТЯ-280 и ТЯ-227 эффект усиления синтеза

цАМФ объясняется реализацией их сигнала через EP₂/EP₄-рецепторы. В то же время, отсутствие гидроксила по 11-ому положению молекул исследуемых простаноидов не может рассматриваться в качестве возможной причины потери активационных свойств большинством исследуемых простаноидов.

Известно, что для связывания ПГ с рецепторами EP-типа особую значимость имеет C₁- карбоксильный радикал, обеспечивающий образование водородной связи с остатком Arg в VII трансмембранном домене EP-рецептора [7]. В связи с этим, потеря свойств агониста исследуемыми аналогами может быть результатом этерификации C₁-карбоксила α-цепи. Анализ данных литературы свидетельствует также о возможности компенсации активности, утраченной в ходе преобразования α-карбоксильной группы, путем введения в молекулу различных циклических радикалов по ω-цепи [7]. Механизм подобной компенсации в настоящее время неизвестен, тем не менее, наличие среди соединений, этерифицированных по C₁, аналогов, способных проявлять достоверный активационный эффект, может быть вызвано особенностями химической организации ω-цепи: наличием циклогександионной группы по C₁₃ (ТЯ-280) и фенильного радикала, соединенного по C₁₅ с изоксазольным кольцом (ТЯ-227).

Напротив, введение в простагландиную молекулу аминогруппы по C₁₃ и оксогруппы по C₁₅ (ТЯ-246), по-видимому, приводит к появлению у 11-дезоксипростагландина сродства к сопряженному с Gi-белком рецептору EP₃-типа, что определяет его способность к ингибированию АЦ в присутствии ГТФ.

Таблица

Влияние 11-дезоксипростагландинов ПГЕ₁ на активность ГТФ-стимулированную активность АЦ

Соединение	Активность АЦ, пМоль цАМФ/мг белка/мин. X±Sx	% к контролю
контроль	1,16±0,09	100
ПГЕ ₁	3,32±0,12	314 *
ПГЕ ₂	2,68±0,06	253*
ТЯ-287	1,15±0,17	91
ТЯ-30	0,99±0,06	85
ТЯ-263	0,98±0,06	85
ТЯ-246	0,82±0,03	71*
ТЯ-239-1	1,11±0,12	96
ТЯ-280	1,63±0,17	141 *
ТЯ-227	1,40±0,10	121*
ТЯ-240	1,32±0,07	113

Иные модификации природной ПГ структуры (введение в состав ω -цепи N-пирролидоновой и изоксазольной групп), приводят к потере полученными дезоксианалогами способности к реализации эффекта через рецепторы EP-типа. Вместе с тем, эти соединения нельзя однозначно причислить к биологически индифферентным. Так, установлено, что аналог ТЯ-240 достоверно снижает синтез цАМФ, индуцированный природными ПГЕ₁ и ПГЕ₂, причем эффект ПГЕ₁ подавляется им более эффективно. Таким образом, наличие изоксазола в 13 положении неразветвленной, насыщенной ω -цепи гетеропростаноида обеспечивает ему возможность к конкурентному связыванию с EP₂/EP₄-рецепторами и частичной нейтрализации эффектов природных агонистов. Результаты совместного действия аналогов ТЯ-287, ТЯ-30, ТЯ-246 и ПГЕ₁ показали, что данные соединения способны достоверно усиливать действие природного ПГ, причем максимальная аддитивность характерна для соединения ТЯ-246, обладающего 13-амино,15-оксозамещенной моновенасыщенной ω -цепью (рисунок). Наблюдаемое явление аддитивности может рассматриваться как результат активации природным ПГ и его 11-дезоксианалогом как минимум двух различных систем сигнальной трансдукции, конкурирующих за Gs-белок и обеспечивающих независимый синтез цАМФ.

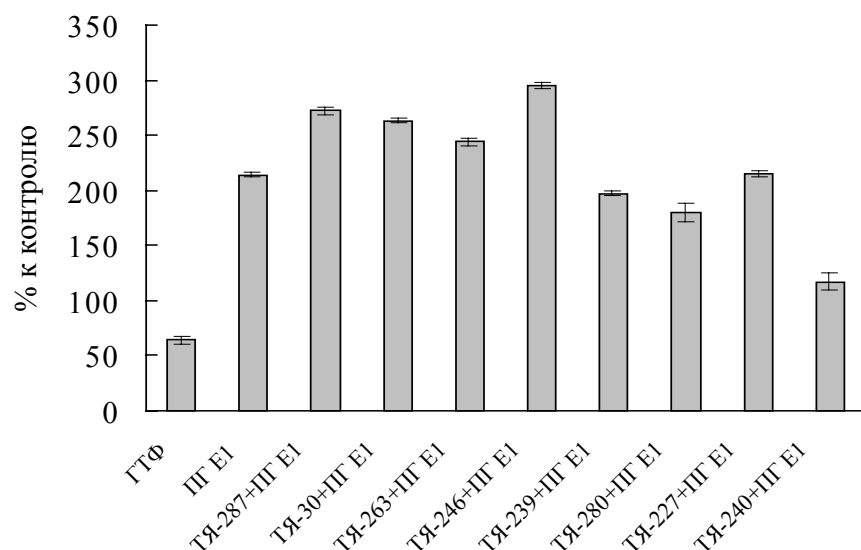


Рисунок. Влияние аналогов 11-дезокси-ПГЕ₁ на ПГЕ₁-стимулированную активность АЦ плазматических мембран гепатоцитов

В качестве контроля принята базальная активность АЦ. Достоверность совместного действия рассчитана по отношению к активности АЦ, стимулированной ПГЕ₁

*- результаты достоверны при $p \leq 0,05$ ($n=6$)

Полученные результаты могут оказаться полезными при планировании направленного органического синтеза высокоселективных по отношению к рецепторам аналогов ПГ в фармако-биохимических целях.

Литература

1. Толстиков Г.А., Мифтахов М.С., Лазарева Д.Н. и др. Простагландины и их аналоги в репродукции животных и человека. Уфа: Изд-во БНЦ УрО АН СССР, 1987. 416 с.
2. Coleman R.A., Smith W.L., Narumiya S. // Pharmac. Reviews. 1999. V.46. №2. P.205–229.
3. Berry M. N., Friend D.S. // J. of Cell Biol. 1969. V.43. №3. P.506-520.
4. Kelly K.L., Kiechle F.L., Jarett L. // Proc. Natl. Sci. USA. 1987. V.81. P.1089–1092.
5. Peterson G.L. // Methods Enzymol. 1983. V.91. №1. P.95-119.
6. Губич О.И., Шолух М.В. // Вестник БГУ. 2003. Сер.2. №2. С.11–14.
7. Ungrin M., Carriere M. C., Denis D. et. al. // Mol. Pharmacol. 2001. V.59. №6. P.1446–1456.

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СЕРОГО СОРОКОПУТА (*LANIUS EXCUBITOR* L., 1758) В БЕЛАРУСИ

М. Ю. Немчинов

Во многих странах мира четко наметились тенденции сокращения ареалов и снижения численности популяций серого сорокопута вплоть до полного исчезновения (Cade, 1995). В нашей стране вид также относится к категории редких и включён во второе издание Красной книги. Вместе с тем, он крайне слабо изучен в Беларуси.

Целью работы является обогащение сведений о биологии серого сорокопута в различные периоды, оценка состояния популяций на территории Республики Беларусь, в том числе выяснение их подвидовой принадлежности, особенно на Юго-западе республики, а также выявление возможных причин сокращения численности вида.

Материал по экологии серого сорокопута собирался в ходе многократных выездов в Ляховичском, Ивацевичском и Пружанском районах Брестской области, в Копыльском и Борисовском районах Минской, а также в Житковичском районе Гомельской области. В негнездовой период проводились маршрутные учёты, а также продолжительные наблюдения за активностью отдельных птиц.

Необходимо оговорится, что для увеличения объема выборок были привлечены и обработаны данные картотеки Эколого-фаунистического орнитологического банка данных. В связи с этим хочется выразить благодарность М. Е. Никифорову, Г. Гулевскому, В. В. Ивановскому, А. К. Тишечкину, И. Э. Самусенко, С. И. Шокало, В. Домбровскому, И. И. Бышневу, Д. В. Журавлёву, а также В. В. Гричику, чьи данные ис-