

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ  
ՄՈՒԵԿՈՒԼԱՅԻՆ ԿԵՆՍԱԲԱՆՈՒԹՅԱՆ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ

ԳԱԼՈՅԱՆ ԳԱՅԱՆԵ ՄԱՍԻԿՈՆՆԻ

ՑԻԱՆ ԽՈՒՄԲ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՂ ԼԱԿՏՈՆԻ ՀԱԿԱՕՔՍԻԴԱՆՍԱՅԻՆ ԵՎ  
ԹԱՂԱՆԹԱԿԱՅՈՒՆԱՅՆՈՂ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ  
ՀԵՊԱՏՈՑԻՏՆԵՐՈՒՄ ԵՎ ԱՐՅԱՆ ԷՐԻԹՐՈՑԻՏՆԵՐՈՒՄ  
ՍԱՐԿՈՄԱ-45-Ի ԺԱՄԱՆԱԿ

Գ.00.04 - «Կենսաքիմիա» մասնագիտությամբ կենսաբանական  
գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի  
հայցման ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

Երևան - 2014

---

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ  
ИНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

ГАЛОЯН ГАЯНЭ МАМИКОНОВНА

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ И МЕМБРАНОСТАБИЛИЗИРУЮЩЕЙ  
АКТИВНОСТИ ЦИАНСОДЕРЖАЩЕГО ЛАКТОНА В ГЕПАТОЦИТАХ И  
ЭРИТРОЦИТАХ КРОВИ ПРИ САРКОМЕ-45

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата  
биологических наук по специальности 03.00.04 – “Биохимия”

Ереван – 2014

Ատենախոսության թեման հաստատվել է ՀՀ ԳԱԱ Հ. Բունիաթյանի անվան կենսաքիմիայի ինստիտուտի գիտական խորհրդում:

Գիտական ղեկավար՝ կ.գ.դ., պրոֆ. Պ.Ա. Ղազարյան  
Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝ կ.գ.դ., պրոֆ. ՀՀ ԳԱԱ թղթ.-անդամ Ա.Հ. Թոշունյան  
կ.գ.դ., պրոֆ. Գ.Գ. Գևորգյան

Առաջատար կազմակերպություն՝ Մ. Հերացու անվան Երևանի պետական բժշկական համալսարան

Պաշպանությունը կայանալու է 2014թ. դեկտեմբերի 10-ին, ժամը 14:00-ին ՀՀ ԳԱԱ Մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտում, Փոքրձարարական կենսաբանության 042 մասնագիտական խորհրդի նիստում (Երևան, 0014, Հասարակության փ., 7):

Ատենախոսությունը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ԳԱԱ Մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտի գրադարանում և [www.molbiol.sci.am](http://www.molbiol.sci.am) կայքում:

Սեղմագիրն առաքվել է 2014թ. նոյեմբերի 10-ին:

042 մասնագիտական խորհրդի գիտական քարտուղար, կ.գ.թ.



Գ.Ս.Սկրոյյան

---

Тема диссертации утверждена на заседании ученого совета Института биохимии им. Г.Х. Бунятына НАН РА

Научный руководитель: д.б.н., проф. П.А. Казарян  
Официальные оппоненты: д.б.н., проф., член-корр. НАН РА А.А. Трчунян  
д.б.н., проф. Г.А. Геворгян

Ведущая организация: Ереванский государственный медицинский университет им. М. Гераци

Защита состоится 10 декабря 2014г. в 14:00 часов на заседании специализированного совета 042 по Экспериментальной биологии, в Институте молекулярной биологии НАН РА (РА, 0014, г. Ереван, ул. Асратяна 7).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института молекулярной биологии НАН РА и на сайте [www.molbiol.sci.am](http://www.molbiol.sci.am).

Автореферат разослан 10 ноября 2014 г.

Ученый секретарь специализированного совета 042,  
кандидат биол. наук

Г.М. Мкртчян



## Աշխատանքի ընդհանուր բնութագիրը

**Թեմայի արդիականությունը.** Ժամանակակից բժշկագիտության, մասնավորապես ուռուցքաբանության առաջնահերթ լուծում պահանջող խնդիրներից մեկը հիվանդության կանխարգելման և բուժման առավել արդյունավետ մեթոդների մշակումն է: Իրականացվող բազմազան աշխատանքներում առանձնահատուկ տեղ են գրավում հակաուռուցքային ակտիվությամբ օժտված նոր դեղամիջոցների առաջնային ընտրությունը (սկրինինգը) և փորձարկումը:

Մահացության տեսանկյունից ներկայումս ուռուցքային հիվանդությունները ամբողջ աշխարհում զբաղեցնում են առաջատար տեղ, ընդ որում չարորակ նորագոյացությունների հետևանքով մահացողների 30%-ը 60 տարեկանից երիտասարդ անձինք են [Каприн А.Д., Старинский В.В. и др. 2013]: Դա, անկասկած, վկայում է ուռուցքային հիվանդությունների վաղ ախտորոշման, կանխարգելման և բուժման արդյունավետ մեթոդների մշակման խիստ բարձր սոցիալական նշանակության մասին: Ռուսաստանի Դաշնությունում, օրինակ, 2000թ.-ի տվյալներով «չարորակ նորագոյացություն» ախտորոշումը հաստատվել է 448602 դեպքում, իսկ հիվանդացության ցուցանիշը կազմել է 309 դեպք 100 հազար բնակչի հաշվով [Чисов В.И. и соавт., 2002]: Ընդհանուր ուռուցքային հիվանդացության ցուցանիշները վերջին տարիներին համեմատաբար քիչ են փոխվել, բացառությամբ կրծքագեղձի քաղցկեղի: Այսպես, 2012 թ.-ին Ռուսաստանի Դաշնությունում հայտնաբերվել է չարորակ նորագոյացությունների 525938 դեպք, այդ թվում 240938 տղամարդ և 284993 կին համապատասխանաբար: Տվյալ ցուցանիշի աճը, 2011թ.-ի համեմատ, կազմել է 0,7 % (100.000 բնակչին բաժին է ընկնում 367,9 դեպք) և 18 %-ով բարձր է 2002 թ.-ի նույն ցուցանիշից [Каприн А.Д., Старинский В.В. и др. 2013]:

Հայաստանում ևս 90-ական թթ. դիտվել է չարորակ նորագոյացություններով հիվանդացության որոշակի աճ: Այսպես, 1988թ. համեմատությամբ 1992-2004թթ. նկատվել է նոր գրանցված հիվանդների 39% աճ [Базикян Г.К., 2006], որը պայմանավորված է 1988թ. ավերիչ երկրաշարժի հետևանքով ժողովրդի վրա քրոնիկ պթերեսի բացասական ազդեցությամբ, սոցիալ-տնտեսական, համեմատաբար ծանր իրավիճակով, երկրում առկա ճգնաժամով պայմանավորված բուժձառայությունների հասանելիության մակարդակի կտրուկ իջեցմամբ [Базикян Г.К., 2006]:

Սակայն վերջին տարիներին դիտվել է քաղցկեղից մահացության որոշակի նվազում, որը հետազոտողների կարծիքով պայմանավորված է ինչպես կանխարգելիչ միջոցառումներով (թոքերի քաղցկեղ), սկրինինգային ծրագրերի ներդրմամբ (կրծքագեղձի քաղցկեղ, արգանդի վզիկի քաղցկեղ), այնպես էլ բուժման արդյունավետության բարձրացմամբ (լիմֆոմաներ, հորմոնակախյալ ուռուցքներ և այլն) [Levi F. et al., 2002; Толкушин А.Г. и др., 2006; Переводчикова Н.И., 2011]:

Փափուկ հյուսվածքների սարկոմաները կազմում են բոլոր չարորակ նորագոյացությունների 0,7-1,0% մեծահասակների մոտ, իսկ երեխաների և դեռահասների մոտ՝ 6,5% [Переводчикова Н.И., 2011]: Նպատակաւալց հետազոտություններ են իրականացվում վիրաբուժական մեթոդի կիրառմամբ և համակցված/կոմբինացված բուժման արդյունքում փափուկ հյուսվածքների սարկոմաներով հիվանդների կյանքի որակը բարելավելու նպատակով [Ибрагимов Э.Э., Кулиева Т.С., 2004; Маисеев В.Н., 2005]: Վերջին տարիներին իրականացված

բազմակողմանի հետազոտությունների արդյունքում, փափուկ հյուսվածքների սարկոմաների ախտորոշման և բուժման հետ կապված աշխատանքները դարձել են ավելի արդյունավետ, որի արդյունքում զգալիորեն բարձրացել է այդպիսի հիվանդների կյանքի որակը և տևողությունը [Базаров Н.И., Саидов Х.М. и др., 2004; Переводчикова Н.И., 2011]:

Կենսաբանորեն պոտենցիալ ակտիվ միացությունների հակաուռուցքային հատկությունների բացահայտման համար նախընտրելի մոդելներից է համարվում սարկոմա-45 ուռուցքային մոդելը:

Փորձարարական ուռուցքաբանության ոլորտում կատարվող հետազոտությունների շարքում հատուկ տեղ են զբաղեցնում հակաուռուցքային ազդեցություն ցուցաբերող լակտոնային օղակ պարունակող միացությունների նոր ածանցյալների սինթեզը և նրանց փորձարկումը [Аветисян А.А. и др., 1993; Gerhard Rucker, Klemens Heiden et al., 2001; Nersesyan A.K., Melikyan G.S., Muradyan R.E. et al., 2003; Changqing Wu, Feng Chen et al., 2006; Мусулманбеков К.Ж., Сирота В.Б. и др., 2007]: Նրանց մեծ մասը օժտված լինելով ցածր տոքսիկությամբ, դրսևորում է արտահայտված հակաուռուցքային ակտիվություն: Լակտոնների բազմաթիվ ածանցյալներ ցուցաբերելով հակավիրուսային, հակաբորբոքային, հակաուռուցքային և ցիտոտոքսիկ ակտիվություն, աշխարհի տարբեր երկրներում լայնորեն կիրառվում են ինչպես ավանդական բժշկության, այնպես էլ ժամանակակից դեղագործության տարբեր բնագավառներում [Konaklieva M.I., Plotkin B.J., 2005; Mi-Ran Cha, Chun Whan Choi et al., 2012; Lohberger B., Kretschmer N. et. al., 2013]:

**Աշխատանքի նպատակը և հիմնական խնդիրները.** Աշխատանքի հիմնական նպատակն է ուսումնասիրել ցիան խումբ պարունակող չհագեցած լակտոնների նոր սինթեզված ածանցյալի՝ 2-ցիան-3,4,4-եռմեթիլ-2-բուլբեն-4-օլիդ (ՑԵԲՕ) միացության հակաօքսիդանտային և թաղանթակայունացնող հատկությունները ուռուցքակիր կենդանիների հեպատոցիտներում և էրիթրոցիտներում՝ սարկոմա-45-ի ժամանակ:

Այդ նպատակի իրականացման համար առաջադրվել են հետևյալ խնդիրները.

1. Ուսումնասիրել թաղանթային ֆոսֆոլիպիդների (ՖԼ) որակական և քանակական կազմի տեղաշարժերը սպիտակ առնետների հեպատոցիտների և էրիթրոցիտների թաղանթներում սարկոմա-45-ի ժամանակ և ՑԵԲՕ-ի օգտագործումից հետո,
2. Գնահատել ֆոսֆոլիպազա Ա<sub>2</sub>-ի ակտիվության փոփոխությունները հեպատոցիտների և էրիթրոցիտների թաղանթներում սարկոմա-45-ի ժամանակ և ՑԵԲՕ-ի օգտագործումից հետո,
3. Հետազոտել լիպիդային գերօքսիդացման գործընթացների փոփոխությունները հեպատոցիտների և էրիթրոցիտների թաղանթներում սարկոմա-45-ի ժամանակ և ՑԵԲՕ-ի օգտագործումից հետո,
4. Որոշել պրո- և հակաօքսիդանտային ակտիվությամբ օժտված մետաղապրոտեինների էնդոզեն քանակների տեղաշարժերը սարկոմա-45-ի ժամանակ և ՑԵԲՕ-ի օգտագործումից հետո,
5. Հետազոտել աղենիլային համակարգի բաղադրամասերի քանակական փոփոխությունները սարկոմա-45-ի ժամանակ և ՑԵԲՕ-ի օգտագործումից հետո,

6. Ուսումնասիրել իոնփոխադրիչ ԱԵՖազային համակարգի ակտիվության փոփոխությունները սարկոմա-45-ի ժամանակ և ՅԵԲՕ-ի օգտագործումից հետո,

7. Ուսումնասիրել ՅԵԲՕ-ի ազդեցությունը էրիթրոցիտներում մեթԻԵ-ի և ցիտոքրոմ b558-ի (Nox-ի իզոմների) կոմպլեքսագոյացման վրա:

**Հետազոտության արարկան:** Հետազոտությունները կատարվել են 120-160 գրամ զանգվածով 130 արու սպիտակ առնետների վրա: Ուսումնասիրվել են լյարդային հյուսվածքը, հեպատոցիտների միկրոսոմային թաղանթները, էրիթրոցիտների թաղանթները, ինչպես նաև արյան շիճուկը:

**Աշխատանքի գիտական նորոյթը:** Կատարված հետազոտությունների ընթացքում սարկոմա-45 ուռուցքային շտամով պատվաստված փորձարարական կենդանիների մոտ առաջին անգամ գնահատվել են.

- ՅԵԲՕ-ի հակաօքսիդանտային և թաղանթակայունացնող հատկությունները, նրա ազդեցությունը փորձարարական կենդանիների հեպատոցիտների և էրիթրոցիտների առանձին ֆոսֆոլիպիդների որակական և քանակական կազմի, լիպիդային գերօքսիդացման ինտենսիվության, ինչպես նաև ֆոսֆոլիպազա Ա<sub>2</sub>-ի ակտիվության վրա՝ հետազոտվող չհագեցած լակտոնների նոր ածանցյալի օգտագործումից հետո:
- Հակա- (ՍՕԴ, կատալազա) և պրոօքսիդանտային (ցիտոքրոմ C, ցիտոքրոմ b558) համակարգերի ակտիվությունների փոփոխությունները,
- Ադենիլային նուկլեոտիդների (ԱԵՖ, ԱԴՖ, ԱՄՖ) քանակական տեղաշարժերը ՅԵԲՕ-ի օգտագործումից հետո:
- Արձանագրվել է, որ հետազոտվող միացությունը թողնում է որոշակի կարգավորող ազդեցություն իոնփոխադրիչ ԱԵՖազների ակտիվության և մետաղապրոտեինների քանակական տեղաշարժերի վրա,
- Հաստատվել է, որ հետազոտվող չհագեցած լակտոնային օղակ պարունակող միացությունը ճնշում է որոշ հյուսվածքային բջիջներից և էրիթրոցիտար թաղանթներից Nox-ի իզոմների արտազատումը, որը հավանաբար պայմանավորված է այդ միացության թաղանթակայունացնող հատկություններով:

**Աշխատանքի գործնական նշանակությունը.** Խանգարված նյութափոխանակային գործընթացների կանոնավորման նպատակով սարկոմա-45 ուռուցքի մոդելի վրա մշակվել է փորձարարական պայմաններում հետազոտվող չհագեցած լակտոնների նոր ածանցյալի (ՅԵԲՕ) արդյունավետ չափաբաժին, որի օգտագործումից հետո դիտվում է խանգարված նյութափոխանակային պրոցեսների որոշակի կանոնավորում: Վերջինս անկասկած ՅԵԲՕ-ի հակաօքսիդանտային և թաղանթակայունացնող հատկությունների ապացույց է հանդիսանում:

Հետազոտությունների արդյունքում պարզվել է, որ ցիան խումբ պարունակող լակտոնների նշված ածանցյալի օգտագործումը բերում է ուռուցքի զանգվածի մոտ 45% նվազեցման, հեպատոցիտների և էրիթրոցիտների թաղանթների ֆոսֆոլիպիդների հիմնական ֆրակցիաների, լիպիդային գերօքսիդացման գործընթացների և ԱԵՖազների, ինչպես նաև ֆոսֆոլիպազա Ա<sub>2</sub>-ի ակտիվության

որոշակի կարգավորման, հակա- և պրոօքսիդանտային ակտիվությամբ օժտված միացությունների մակարդակների որոշակի նորմավորման:

Ստացված տվյալները նոր հեռանկարներ են բացում չարորակ նորագոյացությունների բուժման համալիրում ցիան խումբ պարունակող լակտոնների նոր ածանցյալի ներգրավման նպատակով խոր և բազմակողմանի նպատակալաց հետազոտությունների իրականացման համար:

**Ատենախոսության փորձարկումը.** Աշխատանքի հիմնական դրույթները ներկայացվել և զեկուցվել են «Գենասատեխնոլոգիայի հաջողությունները, Հայաստանում զարգացման հեռանկարները» միջազգային կոնֆերանսում (Ծաղկաձոր, 2006), «Մարդու առողջությունը» V ազգային գիտաբժշկական կոնգրեսում (Երևան, 2006), Հայաստանի II միջազգային բժշկական համագումարում (Երևան, 2007), Երիտասարդ գիտնականների կոնֆերանսում (Երևան, 2007), Հունգարիայում կայացած Արյունաբանական միջազգային համագումարում (Բուդապեշտ, 2007), Պրոֆ. Ռ.Օ.Յոլյանի անվան արյունաբանական կենտրոնի հիմնադրման 75-ամյակին նվիրված միջազգային գիտա-գործնական կոնֆերանսում (Երևան, 2008):

**Աշխատանքի վերաբերյալ տպագրված նյութերը:** Ատենախոսության նյութերի հիման վրա հանրապետական և միջազգային հրատարակություններում տպագրված են 11 գիտական աշխատանքներ:

**Ատենախոսության կառուցվածքը և ծավալը:** Ատենախոսությունը բաղկացած է ներածությունից, գրական ակնարկից, հետազոտության նյութը և մեթոդները բաժնից, սեփական հետազոտությունների արդյունքները և դրանց քննարկումը բաժնից, ամփոփումից, եզրակացություններից և օգտագործված գրականության ցանկից, որը ընդգրկում է 93 հայրենական և 195 արտասահմանյան աղբյուրներ: Աշխատանքը շարադրված է 121 տպագիր էջերի վրա և ներառում է 5 աղյուսակ և 16 նկար:

### ***Հետազոտության նյութերը և մեթոդները***

Հետազոտություններում օգտագործվել են 120-160գ զանգվածով Վիստար ցեղի 130 արու սպիտակ առնետներ: Ուռուցքի մոդելավորումը կատարվել է սարկոմա-45 (Մ-45) ուռուցքային շտամի պատվաստման եղանակով: Սարկոմա-45-ն իրենից ներկայացնում է փորձարարական իլիկաբջջային ուռուցք, որը ստացվում է դիմեթիլբենզանտրացենի ենթամաշկային ներարկմամբ ըստ Ե.Ե.Պողոսյանցի հայտնի մեթոդի (Поросянц Е.Е., 1957): Մ-45 ուռուցքային շտամի բջիջները 1մմ տրամագծով 0.5-1մլ Հենքսի լուծույթում ներարկվում են փորձարարական կենդանիների ստորին վերջույթի ազդրի հատվածում (ենթամաշկային շերտում):

Հետազոտությունների համար փորձարարական կենդանիները բաժանվել են հետևյալ խմբերի.

1. Բնտակտ կենդանիներ (50 առնետ), որոնք չեն ենթարկվել որևէ գործոնի ազդեցության և պահվել են նորմալ պայմաններում, կազմելով ստուգիչ խումբը,

2. Հիվանդ կենդանիներ (40 առնետ), որոնք պատվաստվել են U-45 շտամով, չեն ենթարկվել որևէ գործոնի ազդեցության և պահվել են նորմալ պայմաններում մինչև նրանց գլխատումը,
3. Բուժվող կենդանիներ (40 առնետ), որոնք պատվաստվել են U-45 շտամով և ստացել են հետազոտվող միացության 8 ներարկում:

Կենսաքիմիական հետազոտությունների համար օգտագործվել են լյարդային հյուսվածքի միկրոտոմային ֆրակցիան, արյան շիճուկը և էրիթրոցիտների թաղանթները, որոնք ստացվել են դիֆերենցիալ ցենտրիֆուգման եղանակով:

Հետազոտվող միացության ներորովայնային ներարկումները իրականացվել են սկսած փորձերի 5-րդ օրվանից, 8 օր շարունակ օրվա նույն ժամին, օրական 1 անգամ 17.5մգ/կգ դեղաչափով՝ ըստ կենդանու զանգվածի: Ցիան խումբ պարունակող չհագեցած լակտոնների նոր սինթեզված ածանցյալը փորձարարական կենդանիներին ներարկվել է 0.2%-ոց օսլայի լուծույթի ձևով: Հետազոտության 15-րդ օրը՝ վերջին ներարկումից 24 ժամ անց, կենդանիները գլխատվել են, հետագա ուսումնասիրությունների համար վերցվել է արյուն և առանձնացվել են անհրաժեշտ հյուսվածքները:

Ֆոսֆոլիպիդների առանձին ֆրակցիաների բաժանումը կատարվել է Շտալի նրբաշերտային քրոմատոգրաֆիայի եղանակով [Шталъ Э., 1965] Պ.Ա. Ղազարյանի ձևափոխությամբ [Казарян П.А., Элоян Д.В., 1982] ԼՍ 5/40 մկ (Սլովակիա) ադսորբենտի վրա:

Լիպիդային գերօքսիդացման ակտիվությունը որոշվել է մալոնային դիալդեհիդի էլքով (ՄԴԱ): Մեթոդի հիմքում ընկած է թիոբարբիտուրային թթվի հետ ռեակցիան, որի արդյունքում, բարձր ջերմաստիճանում թթվային (pH-5.9) միջավայրում առաջանում է գունավոր եռմեթինային կոմպլեքս, որը պարունակում է 1 մոլեկուլ մալոնային դիալդեհիդ և 2 մոլեկուլ թիոբարբիտուրային թթու [Владимиров Ю.А., Арчаков А.И., 1972; Владимирюв Ю.А., 2001]: Օպտիկական խտությունը որոշվել է 535նմ ալիքի երկարության տակ [Ланкин В.З., Гуревич С.М., Бурлакова Е.В., 1975]: ՖԼԱ-ի ակտիվությունը որոշվել է սպեկտրոֆոտոմետրիկ եղանակով [Grassl M., Moellering H., 1969] Պ.Ա.Ղազարյանի ձևափոխությամբ ՄՖ-46 սպեկտրոֆոտոմետրի վրա 578նմ ալիքի երկարության տակ:

ԱԵՖ-ազայի ակտիվության որոշումը կատարվել է Ֆիսկեյի և Սուբառոույի մոդիֆիկացված մեթոդով [Семенчук Д.Д., Шклярская Л.Я., Юрченко О.В., 1981], որը հիմնված է ԱԵՖ-ազային ռեակցիայի ընթացքում անօրգանական ֆոսֆորի աճի գրանցման վրա:

Ադենինային նուկլեոտիդների ֆրակցիաների բաժանումը կատարվել է նրբաշերտային քրոմատոգրաֆիայի մեթոդով [Казарян П.А., Элоян Д.В., 1982]: Սառեցված փորձանոթներից որոշվել է անօրգանական ֆոսֆորի քանակությունը [Светашев В.И., 1973]: Մետաղապրոտեինները անջատվել և մաքրվել են Մ.Ա.Սիմոնյանի և համահեղինակների [Симоная М.А., Симоная Г.М., 1997] մեթոդով՝ կենսաթաղանթներից սպիտակուցների լուծման համար դետերգենտի օգտագործմամբ:

Սպիտակուցային ֆրակցիաների սուպերօքսիդի սուտազի (ՍՕԴ) ակտիվությունը որոշվել է նիտրոտետրազոլային կապույտի հետ ռեակցիայի մեթոդով: Այդ մեթոդի էությունը կայանում է նրանում, որ  $O_2^-$ -ները վերականգնում են նիտրո-

տետրազոլային կապույտը մինչև ֆորմազան (ֆորմազանի մաքսիմալ օպտիկական կլանումը 560-580 նմ): ՍՕԴ-ը, կլանելով  $O_2$  - ռադիկալները արգելակում են ֆորմազանի առաջացումը, ինչի վրա էլ հիմնվում է ՍՕԴ-ի ակտիվության որոշումը [Nishikimi M. et al., 1972]:

Կատալազայի ակտիվությունը որոշվել է պերմանգանատոմետրիկ տիտրման մեթոդով: Որպես կատալազային ակտիվության միավոր ընդունվում է ֆրակցիայի այն քանակությունը (մկ), որը բերում է  $20^{\circ}C$  1 րոպեում 0.1 M  $H_2O_2$ -ի ձեռքման: Կատալազայի տեսակարար ակտիվությունը որոշվում է 1 մկ էրիթրոցիտների հաշվարկով [Симонян Р.М. и др., 2004]:

Պրոօքսիդանտային (ցիտ b558III, սուպրոլ) և հակաօքսիդանտային ակտիվությամբ օժտված մետաղապրոտեինների (ՍՕԴ, կատալազա, ցերուլոպլազմին, տրանսֆերին) քանակությունը որոշվել է օպտիկական ալեկտրալ եղանակով (ցիտC-520 նմ, b558III-530 նմ, սուպրոլ-430 նմ (շատ թույլ կլանում), ցերուլոպլազմին – 610 նմ, տրանսֆերին – 470 նմ): ՍՕԴ-ի և կատալազայի ֆրակցիաների որոշումը առնետների հյուսվածքներից և էրիթրոցիտների ցիտոզոլից ծառայել են որպես այդ ֆերմենտների քանակական ցուցանիշներ:

Ստացված տվյալների վիճակագրական մշակումները կատարվել են Ֆիշեր-Ստյուդենտի մեթոդով հավաստիության չափանիշի որոշմամբ:

***Մեփական հետազոտությունների արդյունքները  
և դրանց քննարկումը***

Ներկայումս ուռուցքաբանության պրակտիկայում օգտագործվում են բազմաթիվ հակաուռուցքային միացություններ, այդ թվում լակտոնային օղակ պարունակող դեղամիջոցներ, սակայն դրանք բնութագրվում են ոչ բավարար արդյունավետությամբ [Переводчикова Н.И. 2011]: Դրա հետ կապված չարորակ նորագոյացությունների կանխարգելման և բուժման նպատակով առավել արդյունավետ, պոտենցիալ ակտիվ միացությունների ստեղծումը շարունակում է մնալ արդի բժշկագիտության առաջնահերթ լուծում պահանջող հիմնախնդիրներից մեկը:

Գիտնականների մեծ մասի կարծիքով [Трещалина Е.М., Жукова О.С. и др., 2005] լայնորեն կիրառվող փորձարարական մոդելներից նպատակահարմար է սարկոմա-45 ուռուցքային մոդելը [Першин Г.Н., 1972], որը բնութագրվում է հակաուռուցքային դեղամիջոցների ազդեցության նկատմամբ բարձր զգայունությամբ:

Մեր կողմից ստացված տվյալների համաձայն ուռուցքի աճի ճնշումը (ըստ քաշի) կազմել է 45,4 %, որը հիմք հանդիսացավ ցիան խումբ պարունակող չհագեցած լակտոնների նոր ածանցյալի հետագա բազմակողմանի հետազոտությունների իրականացման համար:

Ժամանակակից պատկերացումների և մեր կողմից նախկինում ստացված տվյալների [Казарян П.А., Саакян Л.С. и др., 2007; Пепанян А.А., Казарян П.А., Галоян Г.М. и др. 2007] համաձայն տարբեր ախտաբանական պրոցեսների հիմքում ընկած նյութափոխանակային գործընթացների խանգարումները անմիջականորեն պայմանավորված են կենսաթաղանթների բաղադրամասերի կառուցվածքային և ֆունկցիոնալ ակտիվությունների փոփոխություններով:



Տվյալ հետազոտությունների արդյունքների համաձայն սարկոմա-45-ը բնութագրվում է էրիթրոցիտների և հեպատոցիտների թաղանթային ՖԼ առանձին ֆրակցիաների հարաբերական պարունակությունների զգալի խանգարումներով (աղյուսակ 1 և 2): Այսպես, էրիթրոցիտներում արձանագրվել է ՖԼ-ի, ՍՖՄ-ի, ՖԷ-ի տոկոսային պարունակությունների զգալի նվազում (համապատասխանաբար մոտ 59%; 52% և 26%-ով,  $P < 0,01$ ):

Այդ օրինաչափությունները հիմնականում պահպանվում են նաև հեպատոցիտների թաղանթներում:

**Աղյուսակ 1**

Թաղանթային ՖԼ-ի հարաբերական փոփոխությունները փորձարարական կենդանիների էրիթրոցիտներում սարկոմա-45-ի ժամանակ և ՑԵԲՕ-ի օգտագործումից հետո (ընդհանուրից % -ով)

ՖԼ	Ստուգիչ n = 6	Սարկոմա-45 n = 11	Բուժում n = 11
ԼՖԽ	4,3±0,4	14,65±0,85; $P_1 < 0,001$	6,03±0,4 $P_2 < 0,001$ ; $P_3 < 0,05$
ՖԻ	5,8±0,43	12,22±0,74; $P_1 < 0,001$	5,76±0,13 $P_2 < 0,05$ ; $P_3 > 0,5$
ՍՖՄ	11,2±0,81	5,39±0,43; $P_1 < 0,001$	13,4±0,9 $P_2 < 0,05$ ; $P_3 > 0,5$
ՖԽ	44,1±2,20	18,18±0,8; $P_1 < 0,001$	31,76 ±1,78 $P_2 < 0,01$ ; $P_3 < 0,05$
ՖԷ	16,8±1,03	12,40±0,7; $P_1 < 0,01$	25,23±0,9 $P_2 < 0,01$ ; $P_3 < 0,05$
ՖՍ	8,2±0,5	16,64±0,9; $P_1 < 0,001$	6,45±0,44 $P_2 < 0,01$ ; $P_3 < 0,05$
ՖԹ	2,5±0,18	16,72±0,7; $P_1 < 0,001$	2,38±0,2 $P_2 < 0,001$ ; $P_3 > 0,5$
ԴՖԳ	7,2±0,6	3,77±0,24; $P_1 < 0,01$	7,07±0,3 $P_2 < 0,05$ ; $P_3 > 0,5$

**Ծանոթություն.**

- $P_1$  – Սարկոմա-45-ի տվյալների համեմատությունը ստուգիչի հետ
- $P_2$  – Բուժումից հետո տվյալների համեմատությունը սարկոմա-45-ի հետ
- $P_3$  – Բուժումից հետո տվյալների համեմատությունը ստուգիչի հետ

Նշված պայմաններում լյարդի բջիջների թաղանթներում դիտարկվում է (աղյուսակ 2) ՖԽ-ի, ՖԷ-ի, ՖՍ-ի, ՍՖՄ-ի հարաբերական պարունակությունների վիճակագրորեն հավաստի ( $P < 0,01$ ) նվազում (համապատասխանաբար 65.5%; 46.9%; 26.1%; 25.5%): Արձանագրվում է նաև ՖԹ-ի և ԼՖԽ-ի կտրուկ, ինչպես նաև ԴՖԳ-ի և ՖԻ-ի (համապատասխանաբար 7, 5, 4 և 2 անգամ) մակարդակների ավելացում: Հատկանշական է ՖԹ-ի, ԼՖԽ-ի, ՖԻ-ի (համապատասխանաբար 6, 3 և 2 անգամ)

պարունակությունների ավելացումը ( $P < 0,001$ ): Այդ պայմաններում, ի տարբերություն հեպատոցիտների, էրիթրոցիտներում կտրուկ (47.6%) նվազել է ԴՖԳ-ի մակարդակը և աճել՝ ՖՄ-ի պարունակությունը (աղյուսակ 1 և 2):

***Աղյուսակ 2***

Թաղանթային ՖԼ-ի հարաբերական փոփոխությունները փորձարարական կենդանիների հեպատոցիտներում սարկոմա-45-ի ժամանակ և 2-ցիան-3,4,4-տոմեթիլ-2-բութեն-4-օլիդի (ՑԵԲՕ) օգտագործումից հետո (ընդհանուրից %-ով)

ՖԼ	Ստուգիչ n = 6	Սարկոմա-45 n = 11	Բուժում n = 11
ԼՖՆ	2,35±0,39	13,13±0,84; $P_1 < 0,001$	4,48±0,53 $P_2 < 0,01$ ; $P_3 < 0,05$
ՖԻ	5,75±0,41	13,37±0,86; $P_1 < 0,001$	9,88±0,73 $P_2 < 0,01$ ; $P_3 < 0,05$
ՍՏՍ	9,7±0,64	7,23±0,5; $P_1 < 0,05$	13,23±0,76 $P_2 < 0,01$ ; $P_3 < 0,05$
ՖՆ	46,3±2,03	15,99±0,9; $P_1 < 0,001$	29,01±1,7 $P_2 < 0,01$ ; $P_3 < 0,05$
ՖԷ	24,2±0,69	12,84±0,7; $P_1 < 0,01$	18,04±1,4 $P_2 < 0,01$ ; $P_3 < 0,05$
ՖՍ	6,35±0,49	4,69±0,55; $P_1 < 0,02$	14,37±0,93 $P_2 < 0,001$ ; $P_3 < 0,01$
ՖԹ	1,8±0,19	14,25±1,11; $P_1 < 0,001$	3,56±0,24 $P_2 < 0,001$ ; $P_3 < 0,05$
ԴՖԳ	3,55±0,62	14,54±0,95; $P_1 < 0,001$	6,52±0,48 $P_2 < 0,01$ ; $P_3 < 0,05$

**Ծանոթություն.**

- $P_1$  – Սարկոմա-45-ի տվյալների համեմատությունը ստուգիչի հետ
- $P_2$  – Բուժումից հետո տվյալների համեմատությունը սարկոմա-45-ի հետ
- $P_3$  – Բուժումից հետո տվյալների համեմատությունը ստուգիչի հետ

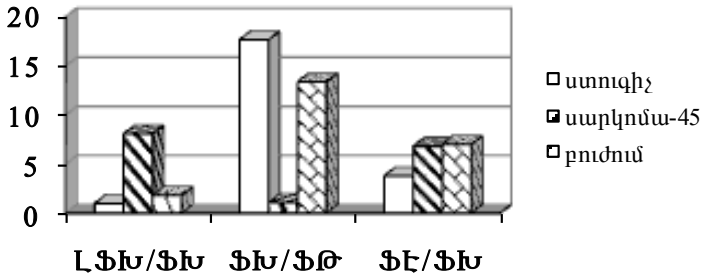
Այսպիսով, սարկոմա-45-ը ուղեկցվում է թաղանթային երկշերտի ինչպես արտաքին, այնպես էլ ներքին շերտում տեղայնացված ՖԼ-ի մակարդակների խանգարումներով, ինչն անշուշտ վկայում է կենսաթաղանթներում ՖԼ-ի որակական և քանակական խորը փոփոխությունների մասին:

Մեր տվյալների համաձայն ՖԼ-ային բաղադրամասերի մակարդակների նշված տեղաշարժերը պայմանավորված են ֆոսֆատիդոգենեզի գործընթացների ճնշմամբ, որի վառ ապացույց է հանդիսանում հետագոտվող բջիջներում ՖԹ-ի կուտակումը (աղյուսակ 1 և 2): Միաժամանակ տեղի է ունենում ՖՆ-ի, ՖԷ-ի և ԴՖԳ-ի քայքայման պրոցեսների ինտենսիվացում:

Թաղանթային ՖԼ-ի տեղաշարժերը ուղեկցվում են ՖԼ/ՖԼ հարաբերակցությունների ցուցանիշների փոփոխություններով:

Ելնելով վերոհիշյալից՝ մեր կողմից ուսումնասիրվել են առանձին ՖԼ-ների հարաբերակցության գործակիցների (ԼՖԽ/ՖԽ, ՖԽ/ՖԹ և ՖԷ/ՖԽ) փոփոխությունները սարկոմա-45-ի ժամանակ և 2-ցիան-3,4,4-եռմեթիլ-2-բութեն-4-օլիդ միացության օգտագործումից հետո: Հայտնի է, որ ԼՖԽ/ՖԽ հարաբերակցության գործակիցի մեծացումը վկայում է թաղանթային ՖԼ-ների քայքայման գործընթացների ինտենսիվացման մասին: ՖԽ/ՖԹ գործակիցի փոփոխությունը բնութագրում է ՖԼ-ի սինթեզի արագության փոփոխությունը, իսկ ՖԷ/ՖԽ գործակիցի տեղաշարժերը թաղանթների միկրոմածուցիկության փոփոխության ապացույց են հանդիսանում [Дятловицкая Э.В., 1995]:

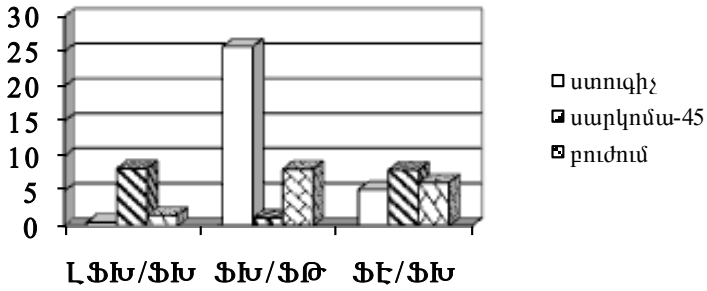
Մեր կողմից ստացված տվյալների համաձայն (նկար 1 և 2) սարկոմա-45-ի ժամանակ դիտվում է էրիթրոցիտների թաղանթային ՖԼ-ների փոխանակության զգալի խանգարումներ, որոնք բերում են ՖԼ-ների հարաբերակցության գործակիցների վիճակագրորեն հավաստի փոփոխությունների:



**Նկար 1.** ՖԼ/ՖԼ հարաբերակցությունների փոփոխությունները փորձարարական կենդանիների էրիթրոցիտներում սարկոմա-45-ի ժամանակ և ՑԵԲՕ-ի օգտագործումից հետո

Այսպես, օրինակ, ուռուցքի զարգացման փուլում դիտվում է թաղանթային ՖԼ-ների դեգրադացիայի գործընթացների կտրուկ արագացում էրիթրոցիտներում, որի մասին է վկայում ԼՖԽ/ՖԽ հարաբերակցության գործակիցի մոտ 8 անգամ աճը: Հասկանալի է, ֆոսֆատիդներ-գլիցերիդների սինթեզի արագությունը բնութագրող ՖԽ/ՖԹ հարաբերակցության ցուցանիշի մոտ 16 անգամ նվազումը այն դեպքում, երբ ՖԷ/ՖԽ հարաբերակցության ցուցանիշը շարունակում է աճել, որը հավանաբար կապված է ֆոսֆատիդներ-գլիցերիդների միջֆրակցիոն փոփոխությունների հետ: Նմանատիպ փոփոխություններ են դիտվում նաև ուռուցքակիր կենդանիների հեպատոցիտներում:

Ցիան խումբ պարունակող լակտոնի նոր ածանցյալի օգտագործումից հետո դիտվող փոփոխությունները վիճակագրորեն հավաստի են և ունեն արտահայտված նորմավորման միտում: Այսպես, ՑԵԲՕ-ի օգտագործումը բերում է ԼՖԽ/ՖԽ հարաբերակցության գործակիցի նվազեցման, ՖԷ/ՖԽ և ՖԽ/ՖԹ հարաբերակցությունների գործակիցների որոշակի նորմավորման:

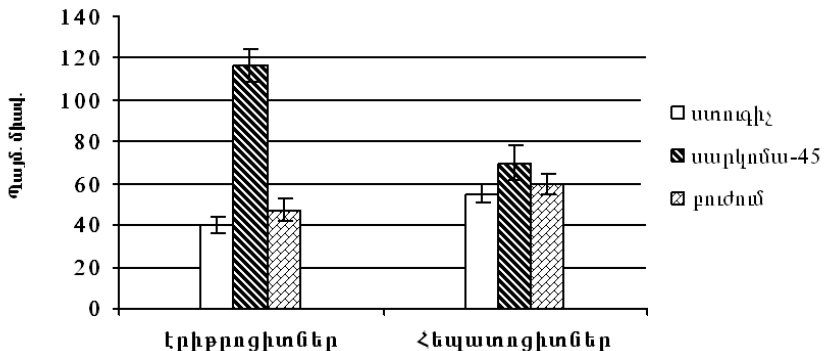


**Նկար 2.** ՖԼ/ՖԼ հարաբերակցության ցուցանիշների փոփոխությունները փորձարարական կենդանիների հեպատոցիտներում սարկոնա-45-ի ժամանակ և ՑԵԲՕ-ի օգտագործումից հետո

Հայտնի է, որ կենսաթաղանթները ախտահարող բազմաթիվ գործոնների շարքում բջջաթաղանթների վնասման մեխանիզմներից մեկը համարվում է ԼԳՕ-ի ակտիվացումը [Владимиров Ю.А., 2000], որի հիմնական սուբստրատ են համարվում թաղանթային ֆոսֆոլիպիդների չհագեցած ճարպաթթուները [Никитин Е.В., Верба Н.В., 2013]: Մյուս կողմից ապացուցված է, որ ԼԳՕ-ի ակտիվության որոշումը հանդիսանում է տարբեր ախտաբանական պրոցեսների ծանրության աստիճանի, ինչպես նաև որոշ բուժական մեթոդների արդյունավետության և անվտանգության գնահատման կարևոր ցուցանիշ [Перетягин С.П., Большухин С.Ю. и др., 2012; Луканина С.Н., Сахаров А.В. и др., 2013; Ишутина Н.А., 2013]:

Վերջին տարիների գրականական տվյալների [Нестеров Ю.В., 2003; Шалашная Е.В., Непомнящая Е.М. и др, 2007; Павлова Е.А., 2009; Козак Д.В., 2014] համաձայն, տարբեր հիվանդությունների, այդ թվում նաև չարորակ նորագոյացությունների ժամանակ, օրգաններում և հյուսվածքներում դիտվում է ԼԳՕ-ի ինտենսիվացում:

Մեր կողմից ստացված տվյալների համաձայն (նկար 3) սարկոնա-45-ը ևս ուղեկցվում է ԼԳՕ-ի զգալի ակտիվացմամբ էրիթրոցիտներում և հեպատոցիտներում:



**Նկար 3.** ԼԳՕ-ի ակտիվության փոփոխությունները փորձարարական կենդանիների էրիթրոցիտներում և հեպատոցիտներում սարկոնա-45-ի ժամանակ և ՑԵԲՕ-ի օգտագործումից հետո (պայմ. միավ.)

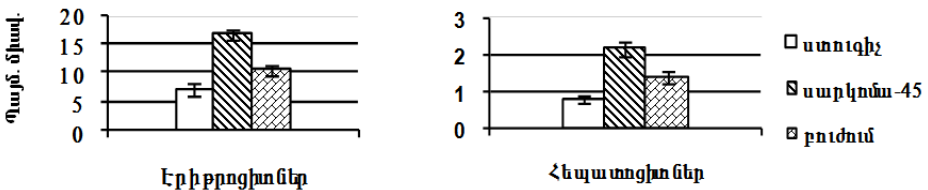
Հատկանշական է, որ հետազոտվող միացության օգտագործումից հետո ինչպես էրիթրոցիտներում, այնպես էլ լյարդի բջիջներում տեղի է ունենում  $LDH$ -ի կանոնավորման արտահայտված միտում, որը հետազոտվող ցիան խումբ պարունակող չհագեցած լակտոնների նոր սինթեզված անանյայի թաղանթակայունացնող հատկությունների դրսևորման լավագույն ապացույց է հանդիսանում: Ժամանակակից պատկերացումների համաձայն կենսաթաղանթների կառուցվածքային և ֆունկցիոնալ բաղադրամասերի փոփոխություններով որոշվում է բջջի թաղանթային կառուցվածքների ֆունկցիոնալ ակտիվությունը:

Վերջիններիս նորմալ կենսագործունեության համար առաջնահերթ նշանակություն ունեն ֆոսֆոլիպազները, որոնց ակտիվացումը ուղեկցվում է ֆոսֆոլիպիդների կատաբոլիզմի ինտենսիվացմամբ [Брокерхоф X., Джексон P. 1978; Казарян П.А., Элоян Д.В., 1985; Литвиенко Н.М., Кисель М.А., 1991]: Ֆոսֆոլիպազների գործունեությամբ է պայմանավորված ազդանշանային համակարգի ակտիվությունը, ռեցեպտորների գործունեությունը, թաղանթների թափանցելիությունը, արյան մակարդման արագությունը և թաղանթ կախյալ համակարգերի վիճակը:

Հայտնի է, որ թաղանթային ֆոսֆատիդներ-գլիցերիդների քայքայումը (բարդ էթերային կապերի ճեղքումը մինչև գլիցերոֆոսֆատի, ճարպաթթուների և ազոտային հիմքերի) իրականացվում է  $PLA_1$ ,  $PLA_2$ , C և D ֆոսֆոլիպազների ազդեցությամբ: Հաստատված է, որ տարբեր հիվանդությունների ժամանակ չհագեցած ճարպաթթուներ պարունակող թաղանթի կայունությունը ապահովող  $PL$ -ի նվազումը պայմանավորված է նաև  $PLA_2$ -ի ակտիվացմամբ, որը հանգեցնում է բջջում ցիտոտոքսիկ  $LDH$ -ի մակարդակի կտրուկ ավելացման [Рахматов А.Б., Муратова У.З., 2004; Казарян П.А., Егизарян К.В., 2007; Ghazaryan P.A., Mkrtchyan H.G., 2012]: Որոշ հիվանդությունների դեպքում այս ֆերմենտների ակտիվությունը ունի պրոգնոստիկ և ախտորոշիչ նշանակություն [Рахматов А.Б., Муратова У.З., 2004; Ишугина Н.А., 2013]:

Մեր կողմից ստացված տվյալների համաձայն (աղյուսակ 1 և 2) սարկոմա-45-ի ժամանակ փորձարարական կենդանիների էրիթրոցիտային թաղանթներում արձանագրվել է  $LDH$ -ի քանակի առավել քան երեք անգամ աճ՝  $PL$ -ի քանակության վիճակագրորեն հավաստի ( $P < 0,01$ ) նվազման պայմաններում:

Կատարված հետազոտությունները ցույց են տվել, որ սարկոմա-45-ի ժամանակ կենդանիների էրիթրոցիտային թաղանթներում արձանագրվում է  $PLA_2$ -ի առավել քան երկու անգամ ակտիվացում (նկար 4):



**Նկար 4.** Ֆոսֆոլիպազա  $U_2$ -ի ակտիվության փոփոխությունները փորձարարական կենդանիների էրիթրոցիտներում և հեպատոցիտներում սարկոմա-45-ի ժամանակ և ՑԵԲՕ-ի ներարկումից հետո (պայմ. միավ.)

Մեր կողմից կատարվող հետազոտություններով բացահայտվել է, որ հեպատոցիտների թաղանթներում ևս տեղի է ունենում ցիտոտոքսիկ և մեմբրանոլիտիկ  $L\text{ՖՆ}$ -ի մակարդակի կտրուկ՝ առավել քան հինգ անգամ ավելացում ( $P<0,001$ ) և  $\text{ՖՆ}$ -ի պարունակության վիճակագրորեն հավաստի նվազում (մոտ երեք անգամ,  $P<0,001$ ) (աղյուսակ 2): Ցույց է տրվել նաև, որ հեպատոցիտներում ևս կտրուկ (մոտ երեք անգամ,  $P<0,001$ ) աճում է  $\text{ՖLՍ}_2$ -ի ակտիվությունը (նկար 4):

Հատկանշական է, որ հետազոտվող միացության 2-ցիան-3,4,4-տուերթիլ-2-բութեն-4-օլիդի կիրառումից հետո ինչպես էրիթրոցիտներում, այնպես էլ հեպատոցիտներում դիտարկվում է  $\text{ՖLՍ}_2$ -ի ակտիվության վիճակագրորեն հավաստի ( $P<0,01$ ) փոփոխություն, որի արդյունքում դիտվում է ֆերմենտի գործունեության կանոնավորում, ինչի արդյունքում որոշակիորեն կանոնավորվում են նաև  $L\text{ՖՆ}$ -ի և  $\text{ՖՆ}$ -ի մակարդակները:

Մեր լաբորատորիայում նախկինում կատարված հետազոտությունների [Ghazaryan P.A., Sahakyan L.S.; 2007; Казарян П.А., Паносян Т.Р.; 2011] համաձայն թաղանթային  $\text{ՖL}$ -ների քանակական և որակական փոփոխությունները, ինչպես նաև  $\text{ՖLՍ}_2$ -ի ակտիվության կտրուկ աճը իրենց հերթին կարող են հանգեցնել թաղանթային ինտեգրալ սպիտակուցների, մասնավորապես ԱԵՖ-ազաների ակտիվությունների զգալի խանգարումների:

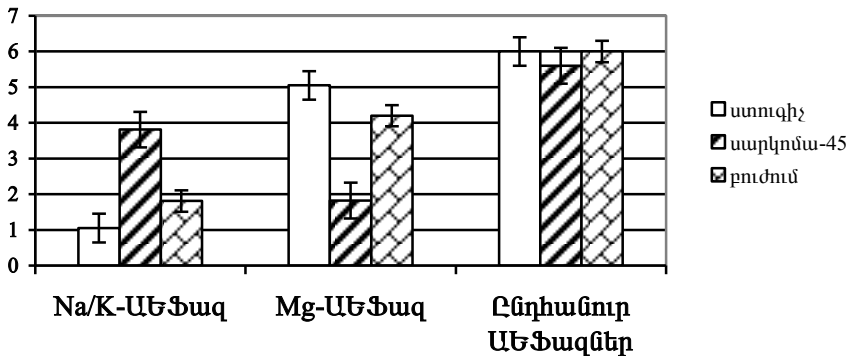
Գրական տվյալների համաձայն հյուսվածքային բջիջների մեկ ֆունկցիոնալ վիճակից մյուսին անցման, ինչպես նաև տարբեր ախտաբանական երևույթների, այդ թվում չարորակ նորագոյացությունների զարգացման ժամանակ դիտվում են նյութերի և իոնների թափանցելիությունը կարգավորող ֆերմենտային համակարգերի գործունեության զգալի փոփոխություններ [Boldyrev A.A., 1993; Казарян П.А., Паносян Т.Р., 2011]:

Ինչպես նշվեց վերևում, նյութերի փոխադրման թաղանթային մեխանիզմը պահանջում է որոշակի էներգետիկ ծախսեր: Հնարավոր են էներգիայի «փոխանակման» 2 տարբերակ՝ կապված շնչառության և ֆոսֆորիլացման հետ: Մյուս կողմից բջիջը « վերցնում է » անհրաժեշտ էներգիան ԱԵՖ-ի հիդրոլիտիկ ճեղքումից, որտեղ գլխավոր դերը պատկանում է  $\text{Na/K}$ -ԱԵՖազային [Թոշունյան Ա.Ա., 2001]:

Մյուս կողմից, գոյություն ունի որոշակի կախվածություն թաղանթային  $\text{ՖL}$ -ների որակական և քանակական կազմի տեղաշարժերի և իոնփոխադրիչ համակարգերի ֆունկցիոնալ ակտիվությունների միջև: Այսպես, գրական տվյալների [Ghazaryan P.A., Sahakyan L.S.; 2007] համաձայն թաղանթային  $\text{ՖՆ}$ -ների,  $\text{ՖU}$ -ների և  $\text{ՖԲ}$ -ների պարունակության փոփոխությունները ազդում են  $\text{Na/K}$ -ԱԵՖազայի ակտիվության վրա:

Մեր կողմից ստացված տվյալների համաձայն սարկոմա-45-ը բնութագրվում է էրիթրոցիտների թաղանթներում ԱԵՖ-ազային համակարգի խոր փոփոխություններով (նկար 5): Այդ պայմաններում  $\text{Na/K}$ -ԱԵՖազայի ակտիվությունը կտրուկ (մոտ 4 անգամ) ավելանում է, իսկ  $\text{Mg}$ -ԱԵՖազան, ընդհակառակը, վիճակագրորեն հավաստի նվազում է:

Ըստ մեր կողմից ստացված տվյալների կենդանիների հեպատոցիտներում դիտվում է միանգամայն հակառակ պատկեր:



**Նկար 5.** ԱՇՖազների ակտիվության փոփոխությունները փորձարարական կենդանիների էրիթրոցիտներում սարկոմա-45-ի ժամանակ և ՑԵՖՕ-ի օգտագործումից հետո (մկմոլ/մգ սպիտակուց)

Այսպես, ստացված տվյալները վկայում են, որ սարկոմա-45-ի ժամանակ լյարդի բջիջներում դիտվում է Na/K-ԱՇՖազայի ակտիվության նվազման միտում, այն դեպքում, երբ Mg-ԱՇՖազայի ակտիվությունը, ընդհակառակը, աննշան աճում է:

Այսպիսով, մեր կողմից ստացված տվյալների (նկար 5) համաձայն սարկոմա-45-ը ուղեկցվում է էրիթրոցիտների թաղանթներում ինչպես Na/K-, այնպես էլ Mg-ԱՇՖազների գործունեության զգալի խանգարումներով: Այդ պայմաններում դիտվում է Na/K-ԱՇՖազայի ակտիվության մոտ 4 անգամ ավելացում ( $P < 0,001$ ), իսկ Mg-ԱՇՖազայի ակտիվությունը վիճակագրորեն հավաստի ( $P < 0,01$ ) նվազում է մոտ 3 անգամ: Սարկոմա-45-ի ժամանակ իոն-փոխադրիչ համակարգի բաղադրամասերի փոփոխությունները հեպատոցիտներում ավելի թույլ են արտահայտված, այսպես, լյարդի բջիջներում դիտվում է Na/K-ԱՇՖազային ակտիվության ճնշում և Mg-ԱՇՖազային ակտիվության աննշան աճ:

Մեր կողմից ստացված տվյալների (նկար 5) համաձայն ՑԵՖՕ-ի օգտագործումից հետո լիպիդային երկշերտի հիմնական ֆոսֆոլիպիդային բաղադրամասերի նորմավորման ֆոնի վրա դիտվում է ԱՇՖ-ազաների գործունեության որոշակի կանոնավորում, որը հիմնականում դրսևորվում է էրիթրոցիտներում և հեպատոցիտներում Na/K-ԱՇՖազայի գործունեության նորմավորմամբ: Հետազոտվող միացության ազդեցությամբ Mg-ԱՇՖազայի ակտիվությունը էրիթրոցիտներում մոտենում է նորմային, իսկ հեպատոցիտներում տատանվում է նորմայի սահմաններում: Այդ պայմաններում էրիթրոցիտների թաղանթներում դիտվում է ԱՇՖ-ազայի ընդհանուր ակտիվության նորմավորում:

Այսպիսով, ստացված տվյալները թույլ են տալիս եզրակացնել, որ սարկոմա-45-ը բնութագրվում է ՖԼ-ների փոխանակության, թաղանթների թափանցելիության, և դրա հետ մեկտեղ նատրիումական պոմպի գործունեության զգալի խանգարումներով: Ցիան խումբ պարունակող լակտոնների նոր ածանցյալի օգտագործումից հետո դիտվում է հետազոտվող խանգարված նյութափոխանակային ուղիների որոշակի նորմավորում:

Վերոհիշյալից հետևում է, որ ուսումնասիրվող (2-ցիան-3,4,4-տումթիլ-2-րութեն-4-օլիդ) միացությունը բնութագրվում է որոշակի թաղանթակայունացնող հատկությամբ, որը դրսևորվում է կենսաթաղանթների նշված ինտեգրալ սպիտակուցների գործունեության, լիպիդ-լիպիդային, ինչպես նաև լիպիդ-սպիտակուցային հարաբերակցությունների որոշակի նորմավորմամբ:

Ժամանակակից պատկերացումների համաձայն [Казарян П.А., Аветисян А.А., Саакян Л.С., и др. 2006.; Ефремов А.В., Молоков К.В. и др. 2013] չարորակ նորագոյացությունները ուղեկցվում են նյութափոխանակային գործընթացների (ինֆոխադրիչ համակարգերի, էներգետիկ փոխանակության, օքսիդատիվ ֆոսֆորիլացման պրոցեսների) էական փոփոխություններով և հումեոստազի խորխանգարումներով [Шапот В.С. 1975; Казарян П.А., Паносян Т.Р., и др. 2011]:

Վերոհիշյալը հիմք հանդիսացավ ուսումնասիրելու բջջի էներգետիկ գործընթացներում կարևորվող ադենիլային համակարգի ցուցանիշների փոփոխությունները սարկոմա-45-ի ժամանակ և ՑԵՖՕ-ի օգտագործումից հետո:

Մեր կողմից ստացված տվյալների համաձայն սարկոմա-45-ի ժամանակ փորձարարական կենդանիների հեպատոցիտներում և երիթրոցիտներում նկատվում են ադենիլային նուկլեոտիդների որակական և քանական զգալի տեղաշարժեր: Այսպես, արձանագրվում է ԱԵՖ-ի մակարդակի զգալի նվազում երիթրոցիտներում և հեպատոցիտներում (համապատասխանաբար 43.2% և 40.7%-ով):

Միաժամանակ տեղի է ունեցել ադենոզինմոնոֆոսֆատի մակարդակի կտրուկ բարձրացում երիթրոցիտներում և հեպատոցիտներում (համապատասխանաբար 3.9 և 2.3 անգամ): Նշված փոփոխությունները ավելի ակնառու են արյան երիթրոցիտներում: Այդ պայմաններում դիտվում է նաև ԱԴՖ-ի մակարդակի զգալի ( $P < 0,01$ ) փոփոխություններ:

Հիմք ընդունելով այն փաստը, որ էներգետիկ համակարգերի փոփոխությունները բերում են ԱԵՖ-ի պարունակության կայունացման, մեր կողմից հաշվարկվել է նաև ադենիննուկլեոտիդների հարաբերական պարունակությունը, որը էկվիվալենտ է Ատկինսոնի կողմից առաջարկված էներգետիկ լիցքի (ԷԼ) մեծությանը (աղյուսակ 3):

Մեր տվյալների համաձայն (աղյուսակ 3) ադենիլային համակարգի բաղադրամասերի փոփոխությունները բերում են ԷԼ-ի, ԱԵՖ/ԱԴՖ, ԱԵՖ/ԱՄՖ հարաբերակցությունների գործակիցների նվազման, որն անկասկած վկայում է այդ պայմաններում մակրոէրգիկ կապերի նվազեցման մասին:

Մեծ հետաքրքրություն են ներկայացնում ԱԵՖ/ԱԴՖ հարաբերակցության գործակցի ցուցանիշների նվազումը, որով ընդունված է գնահատել բջջի կենսաէներգետիկ վիճակը: Հայտնի է, որ ԱԵՖ/ԱՄՖ հարաբերակցության գործակիցը ցույց է տալիս էներգետիկ բալանսի փոփոխությունների աստիճանը՝ կապված ԱԵՖ-ի սինթեզի և յուրացման հետ: Կասկած չկա, որ սարկոմա-45-ի ժամանակ նշված գործակցի նվազումը պայմանավորված է թթվածնային քաղցի պայմաններում ԱԵՖ-ի սինթեզի ճնշմամբ և օրգան-համակարգերի էներգետիկ պահանջների զգալի ավելացմամբ:

Այսպիսով, սարկոմա-45-ին բնութագրական է երիթրոցիտներում և լյարդի բջիջներում ԱԵՖ-ի պարունակության կտրուկ նվազում և ադենոզինմոնոֆոսֆատի մակարդակի կտրուկ բարձրացում:



Ադենիլալին համակարգի կոմպոնենտների հարաբերակցությունները սարկոմա-45-ի ժամանակ և ՑԵԲՕ-ի օգտագործումից հետո

Հյուսվ. բջիջների անվ.	Նուկլեոտիդների հարաբերակցություններ	Ստուգիչ n = 10	Սարկոմա-45 n = 11	Բուժում n = 11
<b>Էրիթրոցիտներ</b>	ԱԵՖ/ԱԴՖ	2,24±0,3	0,9±0,08 P<0,001	1,9±0,2 P <sub>1</sub> <0,01 P <sub>2</sub> >0,05
	ԱԵՖ/ԱՄՖ	8,92±1,7	1,3±0,07 P<0,001	2,1±1,3 P <sub>1</sub> <0,05 P <sub>2</sub> <0,001
	Էներգետիկ լիցք	0,79±0,06	0,54±0,05 P<0,05	0,63±1,0 P <sub>1</sub> <0,05 P <sub>2</sub> >0,05
<b>Հնպատոցիտներ</b>	ԱԵՖ/ԱԴՖ	2,12±0,2	0,97±0,1 P<0,01	2,04±0,09 P <sub>1</sub> <0,01 P <sub>2</sub> >0,5
	ԱԵՖ/ԱՄՖ	6,08±1,5	1,57±0,5 P<0,001	3,1±1,9 P <sub>1</sub> <0,01 P <sub>2</sub> <0,001
	Էներգետիկ լիցք	0,75±0,07	0,57±0,03 P<0,05	0,69±0,3 P <sub>1</sub> <0,05 P <sub>2</sub> >0,5

**Ծանոթություն.**

P – Սարկոմա-45-ի տվյալների համեմատությունը ստուգիչի հետ

P1 – Բուժումից հետո տվյալների համեմատությունը սարկոմա-45-ի հետ

P2 – Բուժումից հետո տվյալների համեմատությունը ստուգիչի հետ

Վերջինս առաջին հերթին կապված է հյուսվածքային շնչառության ֆերմենտային համակարգերի գործունեության ընկճման և օքսիդացիոն ֆոսֆորիլացման գործընթացների ճնշման հետ, ինչպես նաև միտոքոնդրիումների Ca<sup>2+</sup>-ով ծանրաբեռնման, նրանց թաղանթների ՖԼ-մատրիքսի վերադասավորման, ԼԳՕ-ի գործընթացների ակտիվացման, լիզոՖԼ-ի և չհագեցած ՃԹ-ի կուտակման հետ:

Մեր կողմից ստացված տվյալների համաձայն հետազոտվող միացության օգտագործումից հետո էրիթրոցիտներում և հեպատոցիտներում դիտվում է ադենիլալին համակարգի բաղադրամասերի նորմավորման արտահայտված միտում: Սարկոմայով ախտահարված կենդանիների ուսումնասիրված հյուսվածքներում հետազոտվող միացությունը բերում է ԱԵՖ-ի մակարդակի բարձրացում, որի հետևանքով ԱԵՖ/ԱԴՖ և ԱԵՖ/ԱՄՖ հարաբերակցության գործակիցները որոշակիորեն նորմավորվում են, որը վկայում է ԱԵՖ-ի սինթեզի գործընթացների ինտենսիվացման մասին:

Վերոհիշյալը թույլ է տալիս եզրակացնելու, որ սարկոմա-45-ի ժամանակ ցիան խումբ պարունակող չհագեցած լակտոնների նոր ածանցյալի օգտագործումը

բնութագրվում է էրիթրոցիտներում և լյարդում ադենիլային նուկլեոտիդների փոխանակության որոշակի կանոնավորմամբ, որն անկասկած իր հերթին վկայում է այդ միացության ազդեցության արդյունավետության մասին:

ՅԵԲՕ-ի վտանգավորության (թունայնության) աստիճանի և արդյունավետության որոշման համար որոշակի հետաքրքրություն է ներկայացնում արյան և հյուսվածքային բջիջներում հետազոտել այդ միացության ազդեցությունը թթվածնի ակտիվ ձևերի փոխանակության հիմնական կարգավորիչ համակարգերի վիճակի վրա [Симонян М.А. и др., 1995, 1996]:

Հետազոտությունների այս փուլի հիմնական նպատակն է ուսումնասիրել ՅԵԲՕ-ի ազդեցությունը (in vitro և ex vivo) հայտնի հակաօքսիդանտային ակտիվությամբ օժտված մետաղապրոտեինների (Cu,Zn-ՍՕԴ, կատալազա, ցերուլոպլազմին և տրանսֆերին և Mn-ՍՕԴ) մակարդակների և ակտիվությունների և պրոօքսիդանտային ակտիվությամբ օժտված մետաղապրոտեինների (ցիտոքրոմ b558-ի նոր իզոմերի, սուպերօքսիդ գոյացնող լիպոպրոտեին սուպրոլի, ցիտոքրոմ b5 և ցիտոքրոմ C) ակտիվությունների և մակարդակների փոփոխությունների վրա: Դրա հետ կապված հետազոտությունների այդ փուլում հակաօքսիդանտային և պրոօքսիդանտային ակտիվությամբ օժտված մետաղապրոտեինները ինկուբացվել են ՅԵԲՕ-ի հետ (10 մգ/մլ) աերոբ պայմաններում (4<sup>0</sup> C-ում, 48 ժամ): Այնուհետև որոշվել է մետաղապրոտեինների ակտիվությունը և մակարդակը ՅԵԲՕ-ի առկայության և բացակայության պայմաններում in vitro:

Փորձերի երկրորդ փուլում արյունը և լյարդի հոմոգենատը ինկուբացվել է ՅԵԲՕ-ի հետ չորս օրվա ընթացքում 4<sup>0</sup>C-ի պայմաններում (ex vivo) և իրականացվել է հետազոտվող նմուշներից մետաղապրոտեինների ստացում, ինչպես նաև ցիտոքրոմ b558-ի ակտիվության որոշում:

Հատկանշական է, որ ՅԵԲՕ-ն in vitro պայմաններում չի ցուցաբերում կատալազային ակտիվություն, բայց ընդունակ է զգալիորեն իջեցնել կոմասի ադամանդային կապույտի գունազրկման արագությունը, որը հարուցվում է սուպերօքսիդ ռադիկալների միջոցով, դրանով իսկ դրսևորելով սուպերօքսիդ կլանող ակտիվություն:

Մեր կողմից ստացված տվյալների համաձայն ՅԵԲՕ-ն in vitro պայմաններում չի դրսևորում պրոօքսիդանտային ակտիվությամբ օժտված մետաղապրոտեինները քայքայող ազդեցություն, սակայն այն որոշ չափով կանխում է նաև սուպրոլի ինքնաազդեցացումը: Սուպերօքսիդ ռադիկալները առաջացնում են սուպրոլի ֆոսֆոլիպիդային մնացորդների գերօքսիդացում, իսկ սուպրոլը հանդիսանում է կարևոր գործոն շիճուկի և ամբողջական արյան մածուցիկության պահպանման համար: Այդ պայմաններում հետազոտվող միացության ազդեցությամբ էրիթրոցիտային և լյարդի բջիջների թաղանթների ցիտոքրոմ b558-ի NADPH կախյալ սուպերօքսիդ գոյացնող ակտիվությունը զգալիորեն նվազում է:

Հատկանշական է, որ ex vivo փորձերում արյան և լյարդի հոմոգենատը ՅԵԲՕ-ի հետ ինկուբացման արդյունքում նշանակալիորեն մեծանում է դիտվող փոփոխությունների ամպլիտուդան և գրանցվում է ցիտոքրոմ b558-ի (Nox) մակարդակի կտրուկ իջեցում [Abe K. Et al., 1979], որը հավանաբար կոմպենսացվում է էրիթրոցիտային և լյարդի բջիջների թաղանթների ցիտոքրոմ b558-ի մեթեմոզոլին վերականգնող ակտիվության բարձրացմամբ: Արդյունքում էրիթրոցիտային և լյարդի

բջիջների թաղանթների ցիտոքրոմ b558-ի մակարդակը բարձրանում է: Այդ փաստը խոսում է այն մասին, որ ՑԵԲՕ-ն ունի էրիթրոցիտային և լյարդի բջիջների թաղանթներով թափանցելու հատկություն և ինտենսիվացնում է այդ բջիջներից ցիտոքրոմ b558-ի արտազատման գործընթացը:

Մեր կողմից բացահայտված ՍՕԴ ակտիվության որոշակի բարձրացումը էրիթրոցիտային և լյարդի բջիջների թաղանթներում կարելի է բացատրել սուպերօքսիդների մակարդակի իջեցմամբ [Stroke P.E., et al, 1985]: Հատկանշական է կատալազային ակտիվության զգալի բարձրացումը ինչպես հեպատոցիտներում այնպես էլ էրիթրոցիտներում: Հնարավոր է, որ ՑԵԲՕ-ն այդ պայմաններում առաջացնում է կատալազային գենի էքսպրեսիա, որը ևս կարելի է համարել ՑԵԲՕ-ի ազդեցության դրական էֆեկտ:

Հետազոտվող միացության դրական ազդեցության փաստ է հանդիսանում նաև էրիթրոցիտային և լյարդի բջիջների թաղանթներում ցիտոքրոմ b558-ի մեթեմոգլոբին վերականգնող ակտիվության բարձրացումը, քանի որ վերջինս կարող է բերել հեմոգլոբինի քանակության նվազման: Նման երևույթ նկարագրված է տարբեր ախտաբանական պրոցեսների և առաջին հերթին չարորակ նորագոյացությունների ժամանակ [Казарян П.А., Аветисян А.А., Саакян Л.С., Галоян Г.М., 2006]: Հատկանշական է, որ վերջերս [Фесчан С.М., Симосян Р.М. и др. 2013] բացահայտվել է բջջաթաղանթներից և ենթաբջջային գոյացություններից սուպերօքսիդ ռադիկալներ գոյացնող NADPH օքսիդազի իզոնի ցիտոքրոմ b558-ի արտազատման խթանման երևույթը [Симосян Р.М., Галоян К.А. и др.2013]: Ընդ որում ցիտոքրոմ b558-ի արտազատման ինտենսիվացումը համարվում է ախտաբանական երևույթ, որը պայմանավորված է բջջաթաղանթների կայունության խանգարմամբ, քանի որ այդ ֆերմենտը համարվում է կարևոր կառուցվածքային և ֆունկցիոնալ բաղադրամաս [Simonyan G.M., Simonyan R.M. et al, 2006]:

Հաշվի առնելով վերջերս էրիթրոցիտային թաղանթներից և արյան շիճուկից ստացված Nox-ի իզոնների հետ ֆերրիհեմոգլոբինի կոմպլեքսագոյացման երևույթը՝ անշատել ենք ցիտոքրոմ b558-ի բջջային և արտաբջջային իզոնները (Nox և eNox) [Симосян Р.А., Симосян М.А. и др., 2014]: Այնուհետև այդ համակարգերը հետազոտվող միացության որոշակի քանակի ներկայությամբ և բացակայությամբ ինկուբացվել է ֆերրիհեմոգլոբինի հետ: Մեր կողմից ստացված տվյալների համաձայն, հետազոտվող ցիան խումբ պարունակող լակտոնների նոր ածանցյալը նշված պայմաններում ճնշում է Nox-ի իզոնների արտազատումը բջջաթաղանթից դեպի հոմոգեն ֆազ: Այդ երևույթը բացատրվում է նրանով, որ ՑԵԲՕ-ն օժտված լինելով ՍՕԴ նմանակային ազդեցությամբ, ճնշում է բջջաթաղանթների լիպիդային գերօքսիդացումը՝ կանխելով հեմոգլոբինի թափանցումը այդ թաղանթներով և Nox-ի իզոնների հետ կոմպլեքսագոյացումը:

Այսպիսով, ՑԵԲՕ-ն սուպերօքսիդ կլանող հատկության՝ ԼԳՕ-ի ակտիվության ճնշման միջոցով նվազեցնում է հեմոգլոբինի թափանցումը այդ կենսասիանակարգերով, և որպես հետևանք ճնշում է կենսաթաղանթներում տեղայնացված Nox-ի իզոնների և հեմոգլոբինի միջև կոմպլեքսագոյացումը և վերջիններիս արտազատումը, դրանով իսկ ցուցաբերելով թաղանթակայունացնող ազդեցություն:

Ստացված տվյալները համոզիչ ապացույց են, որ լակտոնների նոր ածանցյալը ցուցաբերում է արտահայտված դրական ազդեցություն՝ մի կողմից էրիթրոցիտների և

յարդի կատալազային ակտիվության բարձրացման ճանապարհով և մյուս կողմից՝ էրիթրոցիտային և յարդի բջիջների թաղանթներում ցիտոքրոմ b558-ի մեթեմոգլոբին վերականգնող ակտիվության աճով, ինչպես նաև in vitro և ex vivo պայմաններում բարձր խտության շիճուկային լիպոպրոտեինի՝ սուպրոլի ինքնաազդեցման մակարդակի իջեցմամբ: Հայտնի է, որ [Wu W.S., 2006; Paradiuk S., et al., 2006] թթվածնի ակտիվ ձևերը (ԹԱՁ) հանդիսանում են չարորակ նորագոյացությունների զարգացման հիմնական գործոններից մեկը: ԹԱՁ-ի կուտակումը հարուցում է չարորակ բջիջների ԴՆԹ-ի օքսիդատիվ վնասում, ճնշում նրանց աճը և խթանում ապոպտոզը [Kawanishi S. et al, 1997, Moto M., et al., 2006, Lee Y.S., 2005]:

Սարկոմա-45-ը և էրլիխի սարկոման բնութագրվում են նաև յարդի և արյան հակաօքսիդանտային և պրոօքսիդանտային համակարգերի զգալի փոփոխություններով [Kipiani V.A., et al., 2000]: Դրա հետ կապված առանձնահատուկ հետաքրքրություն է ներկայացնում ՑԵԲՕ-ի ազդեցության որոշ մոլեկուլյար-կենսաքիմիական մեխանիզմների բացահայտումը կանցերոգենեզի ժամանակ:

Տվյալ աշխատանքի հիմնական նպատակն է (աղյուսակ 4) հեպատոցիտներից անջատված հակաօքսիդանտային և պրոօքսիդանտային ակտիվությամբ օժտված մետաղապրոտեինների էնոզգեն մակարդակներին և ակտիվություններին բնորոշ փոփոխությունների բացահայտումը սարկոմա-45-ի ժամանակ և ՑԵԲՕ-ի ազդեցության ներքո:

Ստացված տվյալների (աղյուսակ 4) համաձայն սարկոմա-45-ով պատվաստված կենդանիների մոտ դիտվում է յարդի բջիջներից անջատված ցիտոքրոմ b558-ի մակարդակի աճ: Դա զուգորդվում է յարդի բջիջների թաղանթների հումոզեն և հետերոզեն ֆազերում NADPH կախյալ սուպերօքսիդ գոյացնող ակտիվության վիճակագրորեն հավաստի բարձրացմամբ:

Սակայն սարկոմա-45-ի ժամանակ ցիտոքրոմ b558-ի մեթԻբ վերականգնող ակտիվությունը զգալիորեն նվազում է, ինչն առավել արտահատված է հետերոզեն ֆազում: Ցիտոքրոմ b558-ի մեթԻբ վերականգնող ակտիվության իջեցումը կարող է բացասաբար անդրադառնալ թթվածնային հումեոստազի վրա: Սակայն յարդի բջիջների թաղանթների ցիտոքրոմ b558-ի NADPH-կախյալ սուպերօքսիդ գոյացնող ակտիվության բարձրացումը մի կողմից կարող է առաջացնել իմունային համակարգի դրդում, որի համար NADPH օքսիդազան համարվում է սուպերօքսիդ ռադիկալների գոյացման հիմնական աղբյուր [Vignais P.V., 2002], մյուս կողմից սուպերօքսիդ ռադիկալների մակարդակների աճը կարող է առաջացնել շրջապատող կենսահամակարգերի օքսիդատիվ վնասում [Владимиров Ю.А., 2000]:

Սարկոմա-45-ի ժամանակ առնետների յարդի բջիջների միտոքոնդրիումներում ցիտոքրոմ C-ի մակարդակի իջեցումը խոսում է միտոքոնդրիումներում շնչառական շղթայի գործընթացների ընկճման մասին, որը մասամբ կոմպենսացվում է յարդի բջիջներում ցիտոքրոմ b558-ի մակարդակի բարձրացմամբ: Ինչպես ցույց է տրված մեր կողմից կատարված աշխատանքներում, էրիթրոցիտներում և հեպատոցիտներում սարկոմա-45-ի ժամանակ դիտարկվող մալոնային դիալդեհիդի մակարդակի աճը կարող է պայմանավորված լինել ցիտոքրոմ b558-ի քանակական աճով, որը խթանում է կենսաթաղանթների ֆոսֆոլիպիդների չհազեցած ճարպաթթուների լիպիդային գերօքսիդացումը [Fridovich I., 1995]:

**Աղյուսակ 4**

Հակաօքսիդանտային և պրոօքսիդանտային մետաղապրոտեինների ակտիվությունների և մակարդակների հարաբերական փոփոխությունները (առնետների լյարդից անջատված) սարկոմա-45-ի ժամանակ և ՑԷԲՕ-ի ազդեցությունից հետո (համեմատված է ստուգիչի (100%) հետ)

Մետաղապրոտեիններ	Սարկոմա-45 n =8	Բուժում n =8
Լյարդի բջիջների թաղանթների ցիտոքրոմ b558-ի ֆրակցիայի մակարդակը	+ 28,7 ± 4,1**	+ 16,1 ± 2,2*
Լյարդի բջիջների թաղանթների ցիտոքրոմ b558-ի NADPH -կախյալ O <sub>2</sub> <sup>-</sup> - գոյացնող ակտիվությունը հոմոգեն ֆազում	+24,8±2,3**	+ 11,3 ± 2,0*
Լյարդի բջիջների թաղանթների ցիտոքրոմ b558-ի NADPH -կախյալ O <sub>2</sub> <sup>-</sup> - գոյացնող ակտիվությունը հետերոգեն ֆազում	+ 41,3± 3,3***	+ 34,8 ± 4,9**
Լյարդի բջիջների թաղանթների ցիտոքրոմ b558-ի մեթԷմ-վերականգնող ակտիվությունը հոմոգեն ֆազում	- 35,7± 3,6**	- 10,3 ± 1,8*
Լյարդի բջիջների թաղանթների ցիտոքրոմ b558-ի մեթԷմ-վերականգնող ակտիվությունը հետերոգեն ֆազում	- 51,4± 4,3***	- 20,2 ± 3,1**
Ցիտոքրոմ C	-36,7± 4,1**	-24,9 ± 3,0**
Cu,Zn-COՃ-ի և Mn-COՃ-ի գումարային ֆրակցիան	-31,5± 2,1**	-18,4 ± 3,0*
Կատալազա	-22,9 ± 2,7**	-8,4 ± 0,8

**Օստություն.\* ( P<0,05), \*\* ( P<0,01), \*\*\* ( P<0,001)**

Ստացված տվյալների համաձայն դիտվում է հակաօքսիդանտային համակարգի ընկճում (իջնում են հակաօքսիդանտային ակտիվությամբ օժտված մետաղապրոտեինների մակարդակները):

Այսպիսով, ցիան խումբ պարունակող չհագեցած լակտոնների հետազոտվող նոր ածանցյալը սուպերօքսիդ ռադիկալների կլանման ճանապարհով ցուցաբերում է որոշակի դրական, կարգավորիչ ազդեցություն հակաօքսիդանտային և պրոօքսիդանտային ակտիվությամբ օժտված մետաղապրոտեինների վրա, որը իր հերթին ճնշում է լյարդի բջիջների օքսիդատիվ վնասումը, որոշակիորեն կարգավորում թթվածնային հոմեոստազը և իջեցնում անեմիայի մակարդակը:

Այսպիսով, մեր կողմից ստացված տվյալներից հետևում է, որ ցիան խումբ պարունակող չհագեցած լակտոնների նոր ածանցյալը սարկոմա-45-ի ժամանակ ցուցաբերում է հակաթթեսային, հակաքաղցկեղային ազդեցություն:

Ստացված տվյալները նոր հեռանկարներ են բացում սարկոմա-45-ի ժամանակ ուսումնասիրվող միացության ազդեցության խոր և բազմակողմանի թիրախային հետազոտությունների համար:

## ԵԶՐԱԿԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

1. Սարկումա-45-ը բնութագրվում է փորձարարական կենդանիների հեպատոցիտների և արյան էրիթրոցիտների թաղանթներում ֆոսֆոլիպիդների փոխանակության զգալի տեղաշարժերով, որը դրսևորվում է.
  - ա/ թաղանթային ֆոսֆոլիպիդների առանձին բաղադրամասերի քանակական և որակական կազմի զգալի փոփոխություններով. ցիտոտոքսիկ ԼՖՄ-ների, ՖԻ-ների և ՖԹ-ների մակարոնների բարձրացմամբ և ՖՄ-ների ու ՄՖՄ-ների պարունակության զգալի նվազմամբ,
  - բ/ ֆոսֆոլիպիդ/ֆոսֆոլիպիդային հարաբերակցության գործակիցների վիճակագրորեն հավաստի փոփոխություններով,
  - գ/ էրիթրոցիտների և լյարդի բջիջների թաղանթներում լիպիդային գերօքսիդացման գործընթացի զգալի ինտենսիվացմամբ:
2. Սարկումա-45-ը ուղեկցվում է հետազոտվող բջիջների թաղանթներում ՖԼԱ<sub>2</sub>-ի գործունեության զգալի ակտիվացմամբ:
3. Հիվանդության զարգացումը հանգեցնում է կենսաթաղանթներում ԱԵՖազային համակարգի գործունեության զգալի փոփոխությունների:
4. Սարկումա-45-ը բնութագրվում է ադենիլային նուկլեոտիդների փոխանակության զգալի խանգարումներով, որը դրսևորվում է ԱԵՖ-ի մակարոնակի նվազմամբ և ԱՄՖ-ի և ԱԴՖ-ի պարունակությունների վիճակագրորեն հավաստի ավելացմամբ:
5. Փորձարարական ուռուցքը բնութագրվում է հակաօքսիդանտային և պրոօքսիդանտային ակտիվությամբ օժտված մետաղապրոտեինների մակարոնների զգալի փոփոխություններով, որն արտահայտվում է հակաօքսիդանտային համակարգի ճնշմամբ, մասնավորապես զումարային ՍՕԴ (Cu,Zn-ՍՕԴ և Mn-ՍՕԴ) և կատալազի ակտիվությունների նվազմամբ և պրոօքսիդանտային մետաղապրոտեիններից ցիտոքրոմ b558-ի մակարոնակի բարձրացմամբ:
6. Ցիան խումբ պարունակող չհագեցած լակտոնների հետազոտվող նոր ածանցյալի օգտագործումից հետո դիտվում է ուռուցքի աճի նվազում մոտ 45 %-ով (ըստ զանգվածի):
7. ՑԵԲՕ-ի օգտագործումից հետո էրիթրոցիտների և լյարդի բջիջների թաղանթներում դիտվում է թաղանթային ՖԼ-ի փոխանակության վիճակագրորեն հավաստի նորմավորում, որն արտահայտվում է.
  - ա/ թաղանթային ֆոսֆոլիպիդների առանձին բաղադրամասերի պարունակության նորմավորմամբ,
  - բ/ լիպիդային գերօքսիդացման պրոցեսների և ՖԼԱ<sub>2</sub>-ի ակտիվության արտահայտված կանոնավորմամբ,
  - գ/ հակաօքսիդանտային և պրոօքսիդանտային համակարգերի մետաղապրոտեինների ակտիվությունների որոշակի նորմավորմամբ:
8. Այդ պայմաններում դիտվում է ԱԵՖազային ակտիվության որոշակի նորմավորում, ԱԵՖ-ի, ԱԴՖ-ի և ԱՄՖ-ի մակարոնների կարգավորում:
9. Սարկումա-45-ի ժամանակ ՑԵԲՕ-ի օգտագործումից հետո թաղանթային ՖԼ-ների որակական և քանակական կազմի, թաղանթկախյալ որոշ ֆերմենտների,

պրո- և հակաօքսիդանտային մետաղապրոտեինների, ինչպես նաև լիպիդային գերօքսիդացման ակտիվության կանոնավորումը ապացույց են հետազոտվող միացության որոշակի հակաուռուցքային, հակաօքսիդանտային և թաղանթակայունացնող հատկությունների մասին:

### ***Առենախոսության թեմայով տպագրված գիտական աշխատանքների ցանկ***

1. Казарян П.А., Аветисян А.А., Саакян Л.С., **Галоян Г.**, Асоян А.У., Саркисян К.Э. Мембранные аспекты терапии саркомы-45. // Мат. межд. конф. “Успехи биотехнологии:перспективы развития в Армении”, Цахкадзор, 12-14 июля, 2006:200.
2. **Галоян Г.М.**, Казарян П.А., Мурадян Р.Е., Арсенян Ф.Г. Изучение противоопухолевых свойств циансодержащего производного лактона при саркоме-45. // Научно-медицинский конгресс “Здоровье человека”, Ереван, 2006:288-289.
3. Казарян П.А. **Галоян Г.М.**, Аветисян А.А., Казарян А.П., Мурадян Р.Е. Регуляция процессов распада фосфатидов-глицеридов под действием ненасыщенного лактона (2-циан-3,4,4-триметил-2-бутен-4-олида) при саркоме-45. // Вестник МАНЭБ (Санкт-Петербург), 2006; 11(8), Вып. 2:261-264.
4. Ghazaryan P. A., Karagulyan A. S., **Galoyan G.M.** Metabolism of membrane lipids arter using a cyan-containing derivative of lactone associated with sarcoma-45. // Abst. book of second int. med. Congr. of Armenia, Yerevan, 2007:171.
5. Пепанян А.А., Казарян П.А., Аветисян А.А., **Галоян Г. М.**, Карагулян А.С. Уровень адениннуклеотидов в некоторых тканях и эритроцитах крови при саркоме-45 до и после применения циансодержащего лактона в эксперименте. // Новое в гематологии и трансфузиологии (Киев), 2007;(6):112-120.
6. Ghazaryan P. A., **Galoyan G.M.**, Karagulyan A.S. The regulation of metabolism of cellular lipids after using a cyan-containing derivative of lactone associated with sarcoma-45. // Int. Soc. of Haematology Congr., Hungary, Budapest, 2007:S95-S96.
7. **Галоян Г.М.** Влияние 2-циан-3,4,4-триметил-2-бутен-4-олида на эндогенный уровень металлопротеинов и малонового диальдегида в печени крыс на начальной стадии развития саркомы-45. // Мед. наука Армении, 2007;(3):18-22.
8. **Галоян Г.М.**, Казарян П.А., Аветисян А.А., Симонян М.А. Влияние соединения 2-циан-3,4,4-триметил-2-бутен-4-олида на уровень и активность металло-протеинов тканей *in vitro* и *ex vivo*. // Биол. журн. Армении, 2007; 1-2 (59):8-12.
9. **Галоян Г.М.**, Казарян П.А., Саакян Л.С., Аветисян А.А., Мурадян Р.Е., Казарян А.П. Эффективность применения производного циансодержащих лактонов при саркоме-45. // Кровь, 2008; 8(2):53.
10. Казарян П.А., **Галоян Г.М.** Изучение транспортных атфазных систем плазматических мембран эритроцитов и гепатоцитов при саркоме-45 и после применения нового производного циансодержащих лактонов. // Доклады НАН РА, 2014; 114(1):58-63.
11. **Галоян Г.М.**, Казарян П.А. Уровень мембранных фосфолипидов и активность перекисления липидов при саркоме-45 и после применения нового производного циансодержащих лактонов. // Биол. журнал Армении, 2014; 66 (Приложение 1): 24-29.

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ И МЕМБРАНОСТАБИЛИЗИРУЮЩЕЙ  
АКТИВНОСТИ ЦИАНОСОДЕРЖАЩЕГО ЛАКТОНА В ГЕПАТОЦИТАХ И  
ЭРИТРОЦИТАХ КРОВИ ПРИ САРКОМЕ-45

**РЕЗЮМЕ**

*Ключевые слова.* цианосодержащий лактон, саркома-45, эритроциты, гепатоциты, фосфолипиды, липидная пероксидация, металлопротеины

Исследованы антиоксидантные и мембраностабилизирующие свойства нового производного цианосодержащих лактонов (2-циан-3,4,4-триметил-2-бутен-4-олида) в мембранах гепатоцитов и эритроцитов при саркоме-45.

Выявлено, что в микросомальных мембранах эритроцитов и гепатоцитов у привитых штаммом саркомы-45 экспериментальных животных наблюдаются значительные сдвиги метаболизма фосфолипидов (ФЛ), проявляемые качественными и количественными изменениями отдельных фракций мембранных ФЛ; повышением уровня ФИ, ФК и цитотоксичных ЛФХ; значительным снижением содержания ФХ и СФМ; существенными сдвигами коэффициентов ФЛ/ФЛ соотношений; интенсификацией процессов липидной пероксидации; резким повышением активности ФЛА<sub>2</sub>; качественными и количественными изменениями адениловых нуклеотидов, а также нарушением деятельности АТФ-азной системы.

Развитие заболевания сопровождается значительными изменениями уровня анти- и прооксидантных металлопротеинов, проявляемых ингибированием антиоксидантной системы, в частности активности СОД (Cu,Zn-СОД, Mn-СОД) и каталазы; повышением уровня прооксидантного цитохрома b558.

При саркоме-45 в эритроцитарных мембранах наблюдается интенсификация процессов комплексообразования мет-Нb и цитохрома b558 (Noh-изоформ).

Применение нового производного ненасыщенных цианосодержащих лактонов сопровождается уменьшением роста опухоли ~ 45%.

Согласно полученным нами данным, применение указанного соединения в мембранах гепатоцитов и эритроцитов экспериментальных животных приводит к определенной нормализации качественного и количественного состава отдельных фракций ФЛ липидного бислоя, активности фосфолипазы А<sub>2</sub> и процессов липидной пероксидации.

Исследование качественных и количественных сдвигов адениловых нуклеотидов (АТФ, АДФ и АМФ) и металлопротеинов после применения



производного цианосодержащих лактонов характеризуется нормализующим влиянием на анти- и прооксидантные системы. В этих условиях наблюдается также определенная нормализация АТФазной системы и уровня АТФ, АДФ и АМФ.

Доказано, что указанное соединение ингибирует выделение Нох-изоформ, что возможно обусловлено его определенными мембраностабилизирующими свойствами.

Таким образом торможение роста опухоли после применения нового производного цианосодержащих лактонов (2-циан-3,4,4-триметил-2-бутен-4-олида) в мембранах гепатоцитов и эритроцитов при саркоме-45, нормализация качественного и количественного состава мембранных ФЛ, активности мембраносвязанных АТФазных систем и процессов липидной пероксидации, а также уровня про- и антиоксидантных металлопротеинов свидетельствуют о его определенных противоопухолевых, антиоксидантных и мембраностабилизирующих свойствах.

Результаты и выводы проведенной работы имеют определенное теоретическое и практическое значение, они раскрывают новые предпосылки для проведения дальнейших и целенаправленных исследований по выявлению его эффективности.

### ***GAYANE MAMIKON GALOYAN***

#### **STUDY OF ANTIOXIDANT AND MEMBRANE RESISTANT PECULIARITIES OF CYAN CONTAINING LACTONE IN HEPATOCYTES AND BLOOD ERYTHROCYTES WITH SARCOMA-45**

#### **SUMMARY**

***Key words.*** *cyan containing lactone, sarcoma-45, erythrocytes, hepatocytes, phospholipids, lipid peroxidation, metalloproteins*

The antioxidant and membrane resistant peculiarities of a new derivative (2-cyan-3,4,4-trymethyl-2-buten-4-olyd) of cyan containing unsaturated lactones have been studied in membranes of hepatocytes and erythrocytes with Sarcoma-45.

The results showed significant changes of phospholipid exchange in hepatocytes and erythrocytes of microsomal membranes at experimental animals vaccinated with Sarcoma-45 tumor strain. It is manifested in significant changes of quantitative and qualitative contents of membrane phospholipids separate fractions, increase of cytotoxic LPCs, PIs and PAs levels, significant decrease of PCs and SPs contents, statistically significant changes of PL/PL ratio, peroxidation ratio intensity, dramatic increase of PLA<sub>2</sub>

activity, quantitative and qualitative changes of adenylyl nucleotides, as well as disorders of ATPase system activity.

This disease is addressed by certain changes of the level of metalloproteins with antioxidant and pro-oxidant activation, which is manifested by inhibition of antioxidant system, particularly by decrease of total SOD (Cu,Zn-SOD and Mn-SOD) and catalase activation, as well as increase of pro-oxidant metalloproteins level, particularly cytochrome b558.

The intensity of Met-Hb and cytochrome b558 (Nox isoforms) complex formation in erythrocyte membranes are observed at Sarcoma-45.

The tumor growth decrease for 45% (in mass) is observed after using the studied new derivative of cyan containing unsaturated lactones.

The results of our studies indicate that use of a new derivative of the unsaturated lactones regulates the quantitative and qualitative structure of certain phospholipids in lipid bilayer of hepatocytes and erythrocytes membranes, the intensity of lipid peroxidation, as well as the activity of phospholipase A<sub>2</sub> in experimental animals.

The investigation of changes in anti-(SOD, catalase) and pro-oxidant (cytochrome C, cytochrome b558) systems activation, as well as in quantitative changes of adenylyl nucleotides (ATP, ADP, AMP) after CTBO application have showed that the studied compound is characterized by normalization of anti- and pro-oxidant metalloproteins certain activation. Under this condition it is observed some normalization of ATPase activation, as well as ATP, ADP, and AMP levels regulation.

It is proved that the studied compound inhibits the release of Nox isoforms from erythrocyte membranes, which probably depends on the membrane-resistant peculiarities of it.

After CTBO application at Sarcoma-45 the inhibition of tumor growth, the regulation of as membrane PLs quantitative and qualitative contents, as well as of certain enzymes of membrane-dependent ATPase system, pro- and antioxidant metalloproteins, and lipid peroxidation activity are the proofs for certain antitumor, antioxidant and membrane-regulated properties of the studied compound.

The experimental data and conclusions based on them, represented in the dissertation, are of basic and practical significance and pave new perspectives for further efficient and purposeful realization of CTBO studies.