

УДК 666.233:541.126.011.2

И. В. Шугалей¹, докт. хим. наук; **Н. П. Дубяго¹**, аспирант; **С. Н. Львов²**, **И. Н. Красногорский²**; **Л. Д. Балашов²**, кандидаты мед. наук; **А. Г. Васильев²**, докт. мед. наук; **Д. А. Шагова¹**, студент; **В. Ю. Долматов³**, канд хим. наук

¹Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет), г. Санкт-Петербург, Россия

²Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия, г. Санкт-Петербург, Россия

³ЗАО «Алмазный центр», г. Санкт-Петербург, Россия

УЛЬТРАДИСПЕРСНЫЕ АЛМАЗЫ ДЕТОНАЦИОННОГО СИНТЕЗА КАК СРЕДСТВО КОРРЕКЦИИ ПРОЦЕССОВ ПЕРОКСИДАЦИИ БЕЛКОВ И ЛИПИДОВ ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОМ РОСТЕ

Comparative investigation of nanodiamonds of detonation synthesis (NDs), ionole, being one of the most popular antioxidants, and doxorubicine traditionally used in antitumor therapy, upon some biochemical processes in red cells has been investigated. As the result of the performed investigations NDs may be treated as potential new antitumor medicine, stimulating antioxidant defence of the organism seriously destroyed by the tumor.

Известно, что канцерогенез сопровождается нарушениями в соотношении анти- и прооксидантов в организме, изменением уровня активных форм кислорода (АФК), а также изменениями в протекании радикальных процессов в организме–опухоленосителе [1]. Резкие изменения интенсивности реакций с участием АФК при росте опухоли позволяют отнести канцерогенез к так называемым «свободнорадикальным» патологиям. Указанные изменения наблюдаются для многих типов опухолей, однако для каждого вида опухоли, а также в зависимости от стадии процесса выявляются свои особенности. В настоящее время отмечается устойчивый интерес к применению антиоксидантных препаратов в терапии опухолей различных типов.

Нами экспериментально установлены значительные изменения в уровне процессов перекисидации липидов и белков у животных при развитии лимфосаркомы Плисса. На терминальной стадии развития опухоли наблюдается значительная интенсификация перекисного окисления липидов (ПОЛ) эритроцитов (табл.1), что может привести к усилению их гемолиза.

Таблица 1. **Изменение уровня перекисидации белков и липидов эритроцитов при росте лимфосаркомы Плисса**

| Показатель | Интактная группа | Животные, больные лимфосаркомой |
|--|------------------|---------------------------------|
| Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ), мкмоль * | 1.3 ± 0.2 | 2.9 ± 0.3 |
| Уровень иницированного перекисного окисления белков (ПОБ _{иниц.}), мкмоль * | 9.1 ± 0.2 | 16.4 ± 0.7 |
| Уровень спонтанного перекисного окисления белков (ПОБ _{спонт.}), мкмоль* | 8.9 ± 0.5 | 15.2 ± 0.3 |

* Расчет проводили на 1 мг гемоглобина

Интенсификация перекисного окисления белков в процессе злокачественного роста может вызвать изменение активности ферментов, что приведет к дезорганизации клеточного метаболизма.

В процессе роста лимфосаркомы Плисса также имеет место резкое нарастание интенсивности как спонтанного, так и инициированного перекисного окисления белков (ПОБ) в эритроцитах лабораторных животных (белых крыс), зараженных данным типом опухоли, по сравнению с интактной группой.

Таким образом, развитие опухоли приводит к активации перекисной деструкции клеток красной крови. Интенсификация перекисной деструкции белков может вызвать существенное нарушение функционирования ферментов и глубокое изменение метаболических процессов на уровне всего организма. Действительно в эритроцитах группы животных, зараженных лимфосаркомой Плисса, наблюдалось резкое падение активности ключевого фермента антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы (СОД) до значений 0.36 у.е. на 1 мг гемоглобина по сравнению с интактной группой (1.24 у.е. на 1 мг гемоглобина). Полученный результат по изменению активности супероксиддисмутазы хорошо согласуется с интенсификацией перекисных процессов с участием биомолекул при развитии опухоли, так как именно ферменты антиоксидантной защиты и прежде всего супероксиддисмутазы, блокируют развитие цепных радикальных реакций перекисации. При указанных нарушениях показана терапия антиоксидантами. Известно, что пространственно затрудненные фенолы эффективно тормозят рост злокачественных новообразований [1]. Наиболее хорошо изученным препаратом фенольного ряда, применяемым в терапии новообразований, является ионол. Классические антиоксиданты обычно имеют в своей структуре фрагменты $-\text{OH}$ и $-\text{NH}_2$. Штатный противоопухолевый препарат – доксорубин – также обладает указанными структурными особенностями.

Ультрадисперсные алмазы детонационного синтеза (УДА) представляют собой наноразмерный материал, зерно которого имеет высокофункционализированную поверхность, обеспечивающую разнообразие химических свойств. На поверхности частиц УДА присутствуют гетероциклические фрагменты, функциональные группы: $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{OH}$ и $-\text{NH}_2$ [2]. Таким образом, можно было ожидать аналогичного действия указанных препаратов.

Антиоксидантная активность ионола хорошо известна [1]. Что касается антиоксидантного эффекта УДА, то он оценивался по способности подавлять инициированную хемилюминесценцию в суспензии липосом. Действительно, в опытах *in vitro* нами показано, что УДА проявляют значительный ингибирующий эффект в реакции перекисного окисления липидов [2]. Таким образом, можно было ожидать корректирующего действия со стороны УДА по отношению к существенно измененным перекисным процессам при злокачественном росте.

Особое преимущество УДА состоит в том, что они нетоксичны ($\text{LD}_{50} > 7000$ мг/кг, *per os*), а также они обладают уникальным сочетанием функциональных групп на поверхности наночастиц, получить которое не представляется возможным в индивидуальном химическом соединении [3]. Кроме того, для УДА в предварительных ограниченных клинических испытаниях на больных, страдающих различными формами рака IV стадии, был отмечен положительный эффект при их применении [3].

Учитывая потенциальную способность ионола, доксорубина и УДА влиять на свободнорадикальные реакции, было проведено исследование изменений перекисных процессов в крови здоровых животных под влиянием перечисленных препаратов. Установлено, что ионол практически не влияет на активность ключевого фермента антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы (табл.2).

Таблица 2. Влияние препаратов на активность супероксиддисмутазы (СОД) эритроцитов здоровых животных

| Группа животных | Активность СОД, у.е.* |
|---|-----------------------|
| Интактные животные | 1.24±0.09 |
| Животные, получавшие внутрижелудочно препарат УДА в виде водной суспензии с массовой концентрацией 0.015% | 1.86±0.07 |
| Животные, получавшие внутрибрюшинно препарат ионол | 1.03±0.05 |
| Животные, получавшие внутрибрюшинно препарат доксорубицин | 0.73±0.05 |

*Расчет активности проводили в условных единицах на 1 мг гемоглобина по торможению реакции восстановления тетразолия паранитросинего в формазан.

Введение доксорубицина слабо снижает ферментативную активность, а введение УДА приводит к росту активности супероксиддисмутазы. Последнее наблюдение делает использование УДА при злокачественном росте весьма перспективным, так как в процессе развития заболевания активность супероксиддисмутазы существенно снижается (табл.2).

Введение животным–опухоленосителям антиоксидантов (ионола, цитостатика – доксорубицина и УДА) существенно изменяло картину пероксидации белков. Введение всех этих препаратов приводило к умеренному падению уровня спонтанного перекисного окисления белков эритроцитов. Однако в случае введения цитостатика доксорубицина наблюдался рост уровня иницированного перекисного окисления белков в сравнении с интактной группой и группой животных – опухоленосителей, не получавшей никакого лечения. В случае применения ионола и УДА уровень иницированного перекисного окисления белков также значительно снижался по сравнению с группой животных–опухоленосителей, не получавших никакого лечения, и приближался в случае использования УДА к показателям, наблюдаемым в группе интактных животных (табл. 3).

Таблица 3. Изменение уровня пероксидации белков и липидов, а также активности супероксиддисмутазы эритроцитов в группе животных–опухоленосителей, получавших различные виды лечения

| Группа животных | СОД, у.е.* | ПОЛ, мкмоль* | ПОБ спонт., мкмоль* | ПОБ иниц., мкмоль* |
|---|------------|--------------|---------------------|--------------------|
| Опухоленосители | 0.36±0.04 | 2.9±0.3 | 15.2±0.3 | 16.4±0.7 |
| Интактные | 1.24±0.09 | 1.3±0.2 | 8.9±0.5 | 9.1±0.2 |
| Опухоленосители, получавшие доксорубицин | 0.32±0.04 | 2.0±0.5 | 9.1± | 18.5±0.5 |
| Опухоленосители, получавшие ионол | 0.27±0.03 | 2.9±0.3 | 10.6±0.5 | 6.6±0.3 |
| Опухоленосители, получавшие суспензию УДА | 0.82±0.05 | 3.5±0.4 | 10.8±0.2 | 11.3±0.4 |

* Расчет проводили на 1 мг гемоглобина.

Что касается спонтанной пероксидации белков, то при развитии лимфосаркомы наблюдается резкий рост уровня пероксидации белков в эритроцитах. На фоне лечения УДА, ионолом и доксорубицином происходит снижение уровня спонтанного перекисного окисления белков в эритроцитах по сравнению с группой животных–опухоленосителей, не полу-

чавших никакого лечения. При лечении доксорубицином не выявлено достоверных изменений инициированного перекисного окисления белков в эритроцитах по сравнению с группой, не получавшей лечения.

Одновременно в процессе злокачественного роста наблюдается значительный рост перекисного окисления липидов в эритроцитах.

Следует отметить, что влияние препаратов на перекисидацию липидов и белков существенно различается. Из всех опробованных соединений лишь доксорубицин способен существенно снизить перекисное окисление липидов в эритроцитах. Введение ионола практически не влияет на уровень перекисного окисления липидов в красных кровяных клетках, а использование УДА даже приводит к умеренной интенсификации липоперекисидации в эритроцитах по сравнению с группой животных–опухоленосителей, не получавших лечения. Такой эффект на фоне и без того резко повышенного уровня перекисидации липидов при злокачественном росте является существенным недостатком препарата УДА. Следует отметить, что введение препаратов животным – опухоленосителям существенно изменяет активность ключевого фермента антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы. Из всех использованных в работе препаратов лишь УДА способны в значительной степени восстанавливать резко сниженную в процессе роста опухоли активность супероксиддисмутазы, что выгодно отличает УДА от других, использованных в работе антиоксидантных препаратов. Можно заключить, что введение животным–опухоленосителям УДА активизирует антиоксидантную защиту организма, пораженного злокачественной опухолью.

На основании проведенных исследований можно заключить, что УДА могут рассматриваться как перспективный нетоксичный препарат, который может быть использован в терапии новообразований для нормализации глубоко нарушенных свободнорадикальных процессов.

Выводы

1. Сравнительное исследование ультрадисперсных алмазов детонационного синтеза (УДА), ингибитора радикальных реакций – ионола и штатного противоракового препарата – доксорубицина в терапии лимфосаркомы Плисса показало, что УДА способны восстанавливать активность супероксиддисмутазы эритроцитов, угнетенную развитием опухоли.
2. Показано, что УДА также существенно снижают повышенный уровень перекисного окисления белков в эритроцитах животных, зараженных лимфосаркомой Плисса.
3. Установлено, что УДА увеличивают и без того повышенный уровень перекисного окисления липидов в эритроцитах лабораторных животных, страдающих лимфосаркомой Плисса, что является их существенным недостатком.
4. УДА можно рассматривать как перспективную субстанцию для создания противораковых лекарственных средств нового поколения.

Литература

1. Эмануэль Н. М. Кинетика экспериментальных опухолевых процессов. – М.: Наука, 1977 – 375 с.
2. Шугалей И. В., Дубяго Н. П., Илюшин М. А., Львов С. Н., и др. Сравнительное влияние ультрадисперсных алмазов детонационного синтеза, ионола и доксорубицина на перекисное окисление липидов при злокачественном росте/ IV Международная конф. «Углерод: фундаментальные проблемы науки, материаловедение, технология», Москва, 26–28 окт. 2005 г.: Тезисы докл. – Москва, 2005. – С. 216.
3. Долматов В. Ю. Ультрадисперсные алмазы детонационного синтеза. Получение, свойства, применение. СПб.: СПбГПИ, 2003. – 344 с.

Поступила 06.07.2006 г.