

УДК: 616.36-002: 616-092.9:576.385

Цитопротективна дія блокатора полі(АДФ-рибозо)полімерази 4-гідроксиквіназоліну при експериментальному імунному гепатиті: дозозалежність, механізми та перспективи терапевтичного застосування

Н.В. Макогон, Н.Г. Грушка, В.О. Срібна, Т.М. Бризгіна, Т.В. Мартинова, С.І. Павлович, В.С. Сухіна, Р.І. Янчій

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАНУ, відділ імунофізіології, Київ; grushkanata@gmail.com

Дослідження останніх років свідчать, що ядерний фермент полі (АДФ-рибоза) полімераза (ПАРП) залучений у пошкодження тканин, аутоімунні та запальні процеси. Протективний ефект інгібіторів ПАРП показаний на моделях деяких імуноопосередкованих захворювань. Ми досліджували дію різних доз інгібітора ПАРП 4-гідроксиквіназоліна (4-ГК) при конканавалін А (КонаА)-індукованому пошкодженні печінки у мишей – моделі аутоімунного гепатиту. Було встановлено, що введення 4-ГК (50, 100, 150 мг/кг, за 2 год до КонаА) призводило до істотного поліпшення гістоструктури печінки. Інгібування ПАРП значно знижувало активність аланінамінотрансферази у сироватці та рівень малонового діальдегіду в печінці, які були підвищені при введенні КонаА. Усі використані дози 4-ГК значною мірою захищали від індукованої КонаА клітинної загибелі. Життєздатність клітин тимуса, лімфовузлів і селезінки при введенні 4-ГК підвищувалася, головним чином, в результаті зниження некрозу, без істотних змін апоптозу. Максимальний гепато- і цитопротективний ефект виявлено при найменшій дозі 4-ГК (50 мг / кг). Запобігання клітинної загибелі за прозапальним та імуногенним некротичним шляхом може бути важливим механізмом гепатопротективної дії інгібіторів ПАРП при індукованому КонаА гепатиті.

Отримані дані свідчать про перспективність терапевтичного застосування інгібіторів ПАРП при лікуванні аутоімунних захворювань печінки.

Ключові слова: конканавалін А-індукований гепатит, полі(АДФ-рибозо)полімераза, некроз, апоптоз.

ЦИТОПРОТЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ БЛОКАТОРА ПОЛИ(АДФ-РИБОЗО) ПОЛИМЕРАЗЫ 4-ГИДРОКСИКВИНАЗОЛИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИММУННОМ ГЕПАТИТЕ: ДОЗОЗАВИСИМОСТЬ, МЕХАНИЗМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Н.В. Макогон, Н.Г. Грушка, В.О. Срібна, Т.М. Бризгіна, Т.В. Мартинова, С.І. Павлович, В.С. Сухіна, Р.І. Янчій

Інститут фізіології ім. А.А. Богомольця НАНУ, отдел иммунофизиологии, Киев

Исследования последних лет свидетельствуют, что ядерный фермент поли(АДФ-рибозо) полимеразы (ПАРП) вовлечен в повреждение тканей, аутоиммунные и воспалительные процессы. Протективный эффект ингибиторов ПАРП показан на моделях некоторых иммуноопосредованных заболеваний. Мы исследовали действие разных доз ингибитора ПАРП 4-гидроксиквиназолина (4-ГК) при конканавалин А (КонаА)-индуцированном повреждении печени у мышей – модели аутоиммунного гепатита. Было установлено, что введение 4-ГК (50, 100, 150 мг/кг, за 2 часа до КонаА) приводило к существенному улучшению гистоструктуры печени. Ингибирование ПАРП значительно снижало активность аланинаминотрансферазы в сыворотке и уровень малонового диальдегида в печени, повышенные при введении КонаА. Все использованные дозы 4-ГК в большой мере защищали от индуцированной КонаА клеточной гибели. Жизнеспособность клеток тимуса, лимфоузлов и селезенки при введении 4-ГК повышалась, главным образом, в результате снижения некроза,

без существенных изменений апоптоза. Максимальный гепато- и цитопротективный эффект выявлен при наименьшей дозе 4-ГК (50 мг/кг). Предотвращение клеточной гибели по провоспалительному и иммуногенному некротическому пути может быть важным механизмом гепатопротективного действия ингибиторов ПАРП при индуцированном ConA гепатите.

Полученные данные свидетельствуют о перспективности терапевтического применения ингибиторов ПАРП при лечении аутоиммунных заболеваний печени.

Ключевые слова: конканавалин А-индуцированный гепатит, поли(АДФ-рибозо) полимеразы, некроз, апоптоз.

CYTOPROTECTIVE EFFECT OF POLY (ADP-RIBOSE) POLIMERASE INHIBITOR 4-HYDROXYQUINAZOLINE IN EXPERIMENTAL IMMUNE-MEDIATED HEPATITIS: DOSE DEPENDENCE, MECHANISMS AND THERAPEUTIC PERSPECTIVE

N.V. Makogon, N.G. Grushka, V.O. Sribna, T.M. Bryzgina, T.V. Martynova, S.I. Pavlovich, V.S. Sukhina, R.I. Yanchiy.

Bogomoletz Institute of Physiology NAS of Ukraine, Department of Immunophysiology, Kyiv

Recent findings have suggested that nuclear enzyme poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) is involved in tissue injury, autoimmune and inflammatory diseases. Inhibition of PARP provides significant protection in some animal models of immune-mediated disturbances. Here, we studied the influence of different doses of PARP inhibitor 4-hydroxyquinazoline (4-HQN) on concanavalin A (ConA) - induced liver injury, a mouse model of immune-mediated hepatitis in humans. Experiments showed that pretreatment with 4-HQN (50, 100, 150 mg/kg, 2h before ConA) resulted in marked improvement in liver histology. PARP inhibition significantly decreased serum alanine aminotransferase activity and hepatic malondialdehyde level elevated by ConA administration. All used doses of 4-HQN protected against ConA-induced cell death. The viability of thymus, lymph node and spleen cells under pretreatment with 4-HQN was increased mainly due to reduced level of necrosis, without significant changes in apoptosis. Maximal hepato- and cytoprotective effects occurred at a lowest dose of 4-HQN (50 mg/kg). Prevention of pro-inflammatory and immunogenic necrotic cell death may be an important mechanism of hepatoprotective action of PARP inhibitors on ConA-induced liver injury.

Altogether, these data suggest potential therapeutic application of PARP inhibitors in the treatment of autoimmune liver disorders.

Keywords: concanavalin A-hepatitis, poly(ADP-ribose) polymerase, necrosis, apoptosis.

Вступ

Полі(АДФ-рибозо)полімерази (ПАРП) – родина із 18 ферментів, наявних практично у всіх еукаріот. ПАРП-1, найбільш розповсюджена ізоформа, відіграє значну фізіологічну роль, здійснюючи посттрансляційну модифікацію білків. Фермент активується при ушкодженні ДНК, синтезує ланцюги полімеру АДФ-рибози із нікотинамідаденіндинуклеотиду (НАД⁺) та приєднує їх до гістонів, білків репарації ДНК, транскрипційних факторів тощо. Відомо, що ПАРП-1 приймає участь у таких важливих клітинних процесах, як ремоделювання структури хроматину, репарація ДНК, регулювання експресії генів, у поділі клітин, клітинній загибелі тощо [3]. За надмірної активації ферменту проявляється його патологічна роль. Останнім часом

встановлено, що ПАРП задіяний в патогенезі багатьох захворювань (враховуючи аутоімунні), а застосування інгібіторів ферменту мало виражену протективну дію [5, 12]. Значна кількість доклінічного матеріалу дозволила розпочати клінічні випробування інгібіторів ПАРП при критичних станах, таких як інсульт, нейротравми, циркуляторний шок та гострий інфаркт міокарду [9]. На багатьох моделях патології серцево-судинної системи, нейродегенеративних, запальних і аутоімунних захворювань також доведено перспективність застосування різних класів інгібіторів ПАРП і при хронічних хворобах [7, 9, 12]. Нещодавно отримані дані свідчать про участь даного ферменту в розвитку уражень печінки різного генезу - токсичного, алкогольного тощо [11, 13, 14, 15], однак патогенетична роль ПАРП при аутоімунних захворюваннях названого органу досліджена недостатньо. Є окремі

Н.В. Макогон, Н.Г. Грушка, В.О. Срібна, Т.М. Бризгіна та ін.

Цитопротективна дія блокатора...

роботи, що вказують на ПАРП-1 як терапевтичну мішень при лікуванні ураженої печінки, тим не менш широка база преклінічних даних щодо застосування інгібіторів даного ферменту при аутоімунному гепатиті ще має бути створена. З цією метою в даному дослідженні використовували достатньо охарактеризовану і розповсюджену модель аутоімунного гепатиту, який відтворюється введенням мишам поліклонального активатора Т-клітин мітогена конканаваліну А (Кона) [17].

Патологічна роль ферменту ПАРП-1 може бути опосередкована двома основними механізмами: 1) через коактивацію прозапальних транскрипційних факторів NF- κ B та AP-1, що сприяє посиленому утворенню медіаторів запалення; 2) через вплив на життєздатність та шляхи загибелі клітин. За умов надмірної активації ферменту відбувається виснаження клітинних ресурсів НАД⁺ та АТФ, що може призводити до некрозу або переключати шлях загибелі з апоптотичного (який потребує значного енергетичного забезпечення) на некротичний. Крім того, активація ПАРП-1 викликає вивільнення апоптоз-індукуючого фактора (AIF) із мітохондрій, що спричиняє загибель клітин з порушенням цілісності плазматичної мембрани - так званий AIF-опосередкований програмований некроз [5, 8, 11]. Отже, однією з ключових ланок протективної дії інгібіторів ПАРП є їх здатність позитивно впливати на виживання/загибель клітин. Встановлення цитопротективного ефекту за умов аутоімунного гепатиту може бути підґрунтям для терапевтичного застосування інгібіторів ПАРП. В даному дослідженні ми використовували інгібітор 4-гідроксиквіназолін (4-ГК), який діє більш специфічно на ПАРП-1 [16].

Метою роботи було на моделі аутоімунного гепатиту Т-клітинного генезу у мишей встановити можливу гепатопротективну дію різних доз 4-ГК та дослідити клітинну загибель за апоптотичним і некротичним шляхами.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження проведені на 40 статевозрілих самцях мишей лінії СВА масою 20-24 г, яких утримували в стандартних умовах віварію з вільним доступом до води та корму. При роботі дотримувались положень Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною

метою (Страсбург, 1986). Модель імунного гепатиту відтворювали шляхом введення в хвостову вену мишей Кона в дозі 25 мг/кг. Через 20 год тварин виводили з експерименту під ефірним наркозом, вилучали печінку, селезінку, тимус, лімфовузли та отримували сироватку крові. 4-ГК (100 мг/кг) вводили внутрішньоочеревинно за 2 год до Кона. Контрольними були миші, яким вводили фізіологічний розчин замість Кона та 4-ГК у відповідному об'ємі.

Активність аланінамінотрансферази (АЛТ) у сироватці крові визначали колориметричним методом [4]. Рівень ПОЛ оцінювали за концентрацією в печінці одного з кінцевих його продуктів – маленового діальдегіду (МДА) - стандартним методом в реакції з тіобарбітуровою кислотою [4].

Клітини тимуса, селезінки та лімфовузлів виділяли за загальноприйнятою методикою механічної дисоціації з наступним гіпотонічним лізисом еритроцитів. Більшість клітин (біля 90 %) в отриманих суспензіях становили лімфоцити, як було встановлено при їх забарвленні за Папенгеймом. Апоптоз і некроз визначали за морфологічними ознаками при прижиттєвому подвійному забарвленні свіжоізолюваних клітин флуоресцентними барвниками нуклеїнових кислот Хехст 33342 і йодид пропідіума [18]. Зв'язані з хроматином барвники дають змогу оцінити риси ядерного матеріалу, притаманні апоптозу: виражену конденсацію хроматину та його периферичне розташування, ущільнення та фрагментацію ядер. Хехст 33342 може проникати в клітини через неушкоджені мембрани (забарвлюючи їх ядра в синій колір), тоді як йодид пропідіума проникає тільки в клітини з ушкодженими мембранами й забарвлює їх в червоний колір, що (за умов відсутності морфологічних ознак апоптозу), дає можливість визначити некротичну загибель. Клітини без ушкодження плазматичної мембрани та без апоптотичних змін ядер враховувалися як живі. Забарвлення проводили в забуференому фосфатами фізіологічному розчині (ЗФР) при кінцевій концентрації барвників 10 мкмоль/л у темряві протягом 25 хв. Клітини відмивали в ЗФР центрифугуванням (2000 об хв⁻¹, 7 хв) та фіксували 5%-м формаліном в ЗФР протягом 2 хв. Після відмивання в ЗФР клітини ресуспендували та робили мазки. Використовували відеосистему передачі зображення з люмінесцентного мікроскопа "Люам І-1" (водно-імерсійний об'єктив х 85) на комп'ютер. Визначали відсоток живих, некротичних та апоптотичних клітин при підрахунку не менш як 200 клітин.

В роботі використовували КонА, 4-ГК, Хехст 33342 і йодид пропідіума фірми Sigma-Aldrich (США), решта реактивів були вітчизняного виробництва кваліфікації "хч" та "чда".

Статистичну обробку даних проводили за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA з подальшим порівнянням середніх значень між групами за тестом Ньюмена-Кейлса з використанням програми STATISTICA-6. Дані представлені як $M \pm SD$ (середнє значення \pm стандартне відхилення). Відмінності вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Введення мишам поліклонального активатора Т-клітин КонА моделює імунний гепатит Т-клітинного генезу, як за даними літератури, так і за нашими попередніми гістологічними та біохімічними дослідженнями [6, 11, 17]. Через 20 год після ін'єкції КонА спостерігалися гістологічна картина імунного ураження печінки, зміни лейкограми крові й активності лейкоцитів, характерні для імунозапальних процесів [6], підвищення рівня АЛТ в сироватці та посилення процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) в печінці (табл. 1). Фармакологічне інгібування ПАРП мало виражений гепатопротективний та

протизапальний ефект, що проявлялось в покращенні гістоструктури печінки, зменшенні активності АЛТ в сироватці, вмісту МДА (кінцевого продукту ПОЛ) в печінці, нормалізації лейкограми крові. Позитивний ефект 4-ГК залежав від його дози і був найбільш вираженим при введенні 50 і 100 мг/кг маси миші (див. табл. 1). Застосування дози 4-ГК 150 мг/кг хоча й сприяло деякій нормалізації показників, однак не було виявлено статистично значущих змін активності АЛТ та вмісту МДА в печінці в порівнянні з тваринами із КонА - гепатитом. Отже, максимальний ефект інгібітора ПАРП спостерігався при застосуванні найменшої із досліджених доз (50 мг/кг), із її збільшенням протективна дія послаблювалася. Це може бути пов'язано з фізіологічною роллю даного ферменту. Відомо, що ПАРП володіє широким спектром функцій, серед яких найважливішими є участь в репарації ДНК, в регуляції експресії генів, в клітинній загибелі, проліферації і диференціації клітин, організації їх цитоскелету та хроматину [3, 8]. Ймовірно, значне пригнічення даного ферменту при застосуванні більших доз блокаторів, хоча й має деяку протективну дію, призводить до певних наслідків, опосередкованих виключенням ПАРП із регуляції вищеназваних фізіологічних процесів.

Таблиця 1. Гепатопротективна дія 4-ГК при КонА-індукованому ушкодженні печінки за показниками активності АЛТ в сироватці крові, вмісту МДА в печінці та лейкограмою крові (% паличкоядерних нейтрофілів)

		Контроль	КонА	4-ГК 50 мг/кг	4-ГК 100 мг/кг	4-ГК 150 мг/кг
АЛТ, мМ/л за год	$M \pm SD$ Р, з контролем Р, з дією КонА	1,7 \pm 0,5	59,7 \pm 9,1 <0,001	27,2 \pm 17,5 <0,01 <0,01	36,3 \pm 21,3 <0,001 <0,05	47,5 \pm 20,0 <0,001 --
МДА, нМ/мг	$M \pm SD$ Р, з контролем Р, з дією КонА	6,80 \pm 1,30	13,18 \pm 3,15 <0,001	9,80 \pm 2,07 <0,01 <0,05	10,52 \pm 1,04 <0,01 <0,05	11,49 \pm 1,11 <0,001 --
% п/я нейтрофілів	$M \pm SD$ Р, з контролем Р, з дією КонА	3,5 \pm 1,3	28,4 \pm 6,6 <0,001	15,1 \pm 6,3 <0,001 <0,001	16,6 \pm 5,2 <0,001 <0,001	19,3 \pm 6,1 <0,001 <0,001

Зменшення в сироватці ферменту АЛТ, який при некрозі виходить назовні через ушкоджені плазматичні мембрани, вказує на цитопротективну дію 4-ГК по відношенню до гепатоцитів. Про послаблення цитолітичного компоненту в КонА - опосередкованому ушкодженні печінки при введенні 4-ГК свідчать і наші морфологічні дослідження [10]. Представляло також суттєвий інтерес оцінити за даних експериментальних умов виживання та загибель імунітетів. Імунне ушкодження

печінки супроводжується значним посиленням інфільтрації даного органу активованими клітинами (нейтрофілами, лімфоцитами, моноцитами і т.д.) [6, 17]. Їх загибель за некротичним шляхом може посилювати вихід в тканини клітинного вмісту (в тому числі, аутоантигенів) і, таким чином, провокувати й поглиблювати імунні й запальні процеси. З іншого боку, загибель імунокомпетентних клітин (ІКК), якщо вона відбувається фізіологічним шляхом (активаційний апоптоз)

є найважливішим гомеостатичним механізмом гальмування і припинення запалення та імунної відповіді.

Ми встановили, що інгібування ПАРП за умов КонА-індукованого ушкодження печінки мало

виражену цитопротективну дію по відношенню до імуніцитів, підвищуючи відсоток живих тимоцитів, спленоцитів та клітин лімфовузлів при введенні 4-ГК в дозах 50 та 100 мг/кг маси миші (табл. 2, А).

Таблиця 2. Життєздатність та апоптотична загибель клітин, виділених з імунокомпетентних органів, при введенні мишам інгібітора ПАРП 4-ГК за умов КонА-індукованого гепатиту. Дані представлені у відсотках живих та апоптотичних клітин до їх загальної кількості.

	Вплив	Контроль	КонА	4-ГК, 50 мг/кг	4-ГК, 100 мг/кг	4-ГК, 150 мг/кг
А. Відсоток неушкоджених клітин						
тимус	M±SD P, з контролем P, з дією КонА	92,0±3,9	80,3±6,1 P<0,001	88,2±3,3 -- P<0,05	87,4±4,7 -- P<0,05	85,2±6,0 -- --
лімфовузли	M±SD P, з контролем P, з дією КонА	92,6±2,2	81,4±3,0 P<0,001	84,3±3,7 -- P<0,05	86,3±2,6 -- P<0,05	85,6±4,8 -- --
селезінка	M±SD P, з контролем P, з дією КонА	92,0±2,0	82,1±3,1 P<0,001	87,4±1,6 P<0,01 P<0,01	85,7±3,3 P<0,001 P<0,05	84,8±3,2 P<0,001 --
Б. Відсоток апоптотичних клітин						
тимус	M±SD P, з контролем P, з дією КонА	2,5±1,9	9,1±3,5 P<0,01	6,8±3,2 P<0,05 --	6,0±2,5 P<0,05 --	9,4±3,8 P<0,01 --
лімфовузли	M±SD P, з контролем P, з дією КонА	2,6±1,6	7,3±2,2 **	9,5±2,4 *** --	7,1±1,9 ** --	7,4±3,9 ** --
селезінка	M±SD P, з контролем P, з дією КонА	4,1±2,6	7,2±2,9 --	7,4±2,3 -- --	6,8±2,7 * --	7,9±1,1 * --

При моделюванні аутоімунного гепатиту введенням поліклонального активатора Т-клітин КонА відбувається запуск процесів обмеження імунізапальних процесів, що проявляється в закономірному посиленні апоптозу імунокомпетентних клітин - ІКК (табл. 2, Б). Введення інгібітора ПАРП ні в одній із застосованих доз не викликало статистично значущого пригнічення апоптозу в клітинах, виділених із первинного і вторинних органів імунної системи (див. табл 2, Б).

Дослідженнями методом прижиттєвого подвійного забарвлення встановлено, що введення КонА спричиняло значне зростання некрозу ІКК тимуса, лімфовузлів та селезінки (Рис.1). На відміну від апоптозу, 4-ГК в усіх застосованих дозах викликав зменшення некротичної загибелі клітин як первинного, так і вторинних імунокомпетентних органів. Введення 50 мг/мл сприяло дещо більшому ефекту. При множинному порівнянні між групами за тестом Ньюмена-Кейлса було встановлено, що 4-ГК в дозі 50 мг/кг сильніше зменшував некроз клітин селезінки, ніж в дозі 100 та 150 мг/кг (P<0,05 в обох випадках).

Представлені дані, отримані за умов КонА-опосередкованого запального ураження печінки Т-клітинного генезу, свідчать, що інгібування ПАРП за допомогою 4-ГК мало подібний за направленістю і вираженістю протективний ефект на клітини первинного і вторинних органів імунної системи, збільшуючи відсоток живих імуніцитів і суттєво послаблюючи їх загибель за некротичним шляхом. Цитопротективна дія виявлялася і при дослідженні інших інгібіторів ПАРП [8,11,13].

Застосування 4-ГК призводило до послаблення прозапальної та імуногенної некротичної загибелі і не впливало на апоптоз периферійних лейкоцитів. Це важливо, оскільки достатній рівень апоптозу сприяє вилученню активованих імуніцитів, в тому числі аутореактивних лімфоцитів, що є необхідним для обмеження й термінації імунного запалення. За сучасними уявленнями, існує два основні механізми цитопротективної антинекротичної дії інгібіторів ПАРП. Перший - пов'язаний із здатністю ПАРП за умов надмірної активації пригнічувати життєздатність клітин, зменшувати їх

енергетичні ресурси, переключати загибель з некрозу на апоптоз або безпосередньо ініціювати АІФ-опосередкований програмований некроз [5,8,11]. Другий механізм може здійснюватись через пригнічення інгібіторами ПАРП експресії цитокінів, які впливають на виживання/загибель клітин, зокрема фактору некрозу пухлин. Це пов'язано з тим, що даний фермент є коактиватором транскрипційних факторів родин NF- κ B, AP-1 і HIF α , які відіграють ключову роль в запальній відповіді та розвитку імунних реакцій і є визначальними в патогенезі багатьох захворювань [3,16].

Раніше методом імуноблотингу нами виявлено збільшення транслокації NF- κ B з цитоплазми в ядра клітин печінки та імунокомпетентних органів при введенні КонА, що вказує на активацію даного фактору в тканинах [1]. За цих умов 4-ГК зменшував транслокацію NF- κ B в ядра. Це свідчить, що гепато- та цитопротективний ефект інгібування ПАРП, встановлений в наших дослідженнях на моделі КонА-індукованого гепатиту, принаймні частково пов'язаний із здатністю 4-ГК зменшувати NF- κ B-опосередковані деструктивні запальні процеси.

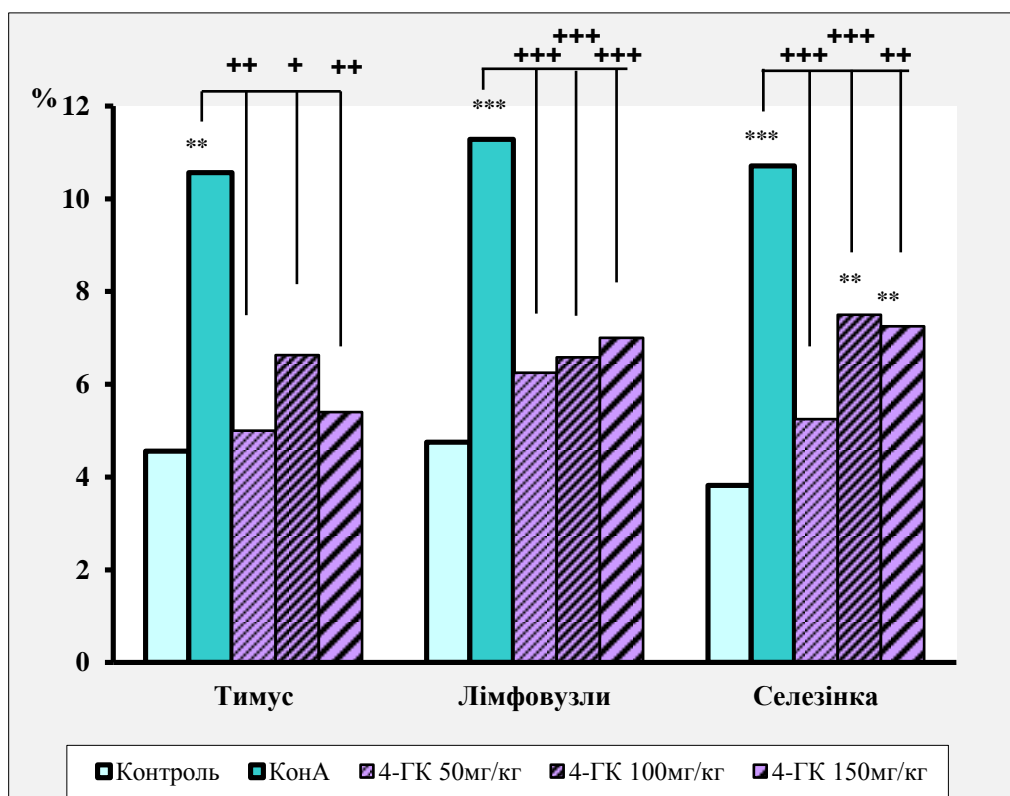


Рисунок 1. Зміни некрозу клітин тимуса, лімфовузлів та селезінки при дії КонА та введенні 4-ГК (50,100 та 150 мг/кг маси миші) на тлі КонА. Дані представлені у відсотках некротичних клітин до їх загальної кількості.

* - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$; ***- $P < 0,001$ по відношенню до контролю.

+ - $P < 0,05$; ++ - $P < 0,01$; +++- $P < 0,001$ по відношенню до дії КонА.

Необхідно акцентувати, що для лікування аутоімунних уражень надзвичайно важливою є розробка препаратів, які диференційовано впливали б на клітинну загибель за різними шляхами. Вони повинні зменшувати прозапальний та імуногенний некроз клітин, в той же час не пригнічуючи апоптоз ІКК. За наведеними вище результатами, такими специфічними модуляторами клітинної загибелі є інгібітори ПАРП, зокрема застосований нами 4-ГК. Ефективність терапії, пов'язаної з інгібуванням ПАРП, була

доведена на моделях таких запальних та аутоімунних захворювань, як септичний шок, ревматоїдний артрит, хвороба Крона, системний червоний вовчак, нейродегенеративні захворювання, серцева недостатність тощо [5,8,12]. Встановлена нами виражена гепатопротективна, цитопротективна та антинекротична дія 4-ГК за умов імунного КонА-опосередкованого гепатиту у мишей дає експериментальне обґрунтування застосування інгібіторів ПАРП при патології печінки імунного генезу у людей. На часі створення

таких інгібіторів, які мали б поліпшену біодоступність, можливість введення таблетованих форм тощо, для профілактики, терапії та реабілітації при хронічно-запальних процесах [9]. Існує думка, що з огляду на фізіологічну роль ПАРП-1, часткове інгібування ферменту буде більш безпечним лікувальним підходом [8,12]. В зв'язку з цим слід зазначити, що ПАРП-інгібуючі властивості мають численні ендогенні та екзогенні природні фактори, включаючи флавоноїди, активні форми вітаміну Д, похідні кофеїну, поліфеноли червоного вина, різні кінази, тиреоїдні гормони, поліаміни, пурини тощо [2,7]. Застосування таких натуральних модуляторів активності ПАРП могло б бути ефективним довготривалим безпечним засобом попередження та послаблення хронічних запальних хвороб через дієтотерапію [Banasić Kirkland]. Цей підхід до лікування та реабілітації хворих потребує подальших детальних досліджень.

Висновки

- 1.Інгібування ПАРП за умов моделювання імунного ушкодження печінки введенням КоНА спричиняло виражену гепатопротективну та цитопротективну дію на клітини печінки, тимуса, селезінки та лімфовузлів.
- 2.Посилення життєздатності клітин при дії інгібітора ПАРП залежало від дози 4-ГК та відбувалося за рахунок зменшення некротичної загибелі без суттєвих змін апоптозу, що важливо для послаблення та обмеження аутоімунних та запальних процесів.
- 3.Проведені дослідження дають експериментальне обґрунтування розробки та доклінічного тестування фармакологічних препаратів на основі інгібіторів ПАРП для лікування гепатитів імунного генезу у людей.

Література

1. Алексеева ИН, Макогон НВ, Алексюк ЛИ, Брызгина ТМ, Мартынова ТВ, Павлович СИ, Сухина ВС. Роль транскрипционного фактора Nf-KB и ядерного фермента поли(АДФ-рибоза) –полимеразы (ПАРП) в механизмах развития экспериментального иммунного воспаления печени. Научные труды III съезда физиологов СНГ. Под ред. АИ Григорьева, ОА Крышталя, ЮВ Наточина, РИ Сепиашвили. Москва: Медицина–Здоровье; 2011.

2. Дрель ВР, Сибірна НО. Нефропротекторна дія виноградних вин у тварин із експериментальним цукровим діабетом. Біол студії. 2009;3(3):59-68.

3. Дрель ВР, Шиманський ЮО, Сибірна НО, Великий ММ. Роль PARP та процесу полі-ADP-рибозилування протеїнів у регулюванні клітинних функцій. Укр біохім журн. 2011;83(6):5-34.

4. Камышников ВС. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. Москва: МЕДпресс-информ; 2004.

5. Макогон НВ, Алексеева І.М. Полі(АДФ-рибозо) полімераза-1: фізіологічна і патофізіологічна роль. Фізіол журн. 2012;58(3):95-112.

6. Павлович СИ, Брызгина ТМ, Макогон НВ, Алексюк ЛИ, Мартынова ТВ, Янчий РИ, Алексеева ИН. Инфильтрация печени клетками естественного и адаптивного иммунитета и их гибель в динамике экспериментального иммунного конканавалин-А индуцированного гепатита. Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол. 2011;21(6):42-9.

7. Banasik M, Stedeford T, Strosznajder RP. Natural inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase-1. Mol Neurobiol. 2012 Aug;46(1):55-63.

8. Besson VC. Drug targets for traumatic brain injury from poly(ADP-ribose)polymerase pathway modulation. Br J Pharmacol. 2009 Jul;157(5):695-704.

9. Curtin NJ, Szabo C. Therapeutic applications of PARP inhibitors: anticancer therapy and beyond. Mol Aspects Med. 2013 Dec;34(6):1217-56.

10. Grushka N, Makogon N, Pavlovich S, Bryzgina T, Martynova T, Sukhina V, Yanchii R.

Poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor 4-hydroxyquinazoline exerts a protective effect against concanavalin A-induced hepatitis in mice. J Health Sci. 2013;3(11):463-8.

11. Jouan-Lanhouet S1, Arshad MI, Piquet-Pellorce C, Martin-Chouly C, Le Moigne-Muller G, Van Herreweghe F, Takahashi N, Sergent O, Lagadic-Gossmann D, Vandenabeele P, Samson M, Dimanche-Boitrel MT. TRAIL induces necroptosis involving RIPK1/RIPK3-dependent PARP-1 activation. Cell Death Differ. 2012 Dec;19(12):2003-14.

12. Kirkland JB. Poly ADP-ribose polymerase-1 and health. Exp Biol Med (Maywood). 2010 May;235(5):561-8.

13. McCluskey JD1, Sava D, Harbison SC, Muro-Cacho CA, Giffe JT, Ping X, Harbison RD. Hepatoprotective effects of select water-soluble PARP inhibitors in a carbon tetrachloride model. Int J Crit Illn Inj Sci. 2011 Jul;1(2):97-103.

14. Mukhopadhyay P1, Rajesh M, Cao Z, Horváth B, Park O, Wang H, Erdelyi K, Holovac E, Wang Y, Liaudet L, Hamdaoui N, Lafdil F, Haskó G, Szabo C, Boulares AH, Gao B, Pacher P. Poly (ADP-ribose) polymerase-1 is a key mediator of liver inflammation and fibrosis. Hepatology. 2014 May;59(5):1998-2009.

15. Tas Hekimoglu A1, Toprak G, Akkoc H, Evliyaoglu O, Tas T, Kelle I, Colpan L. Protective effect of 3-aminobenzamide, an inhibitor of poly (ADP-ribose) polymerase in distant liver injury induced by renal ischemia-reperfusion in rats. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2014;18(1):34-8.

16. Veres B1, Radnai B, Gallyas F Jr, Varbiro G, Berente Z, Osz E, Sumegi B. Regulation of kinase cascades and transcription factors by a poly(ADP-ribose) polymerase-1 inhibitor, 4-hydroxyquinazoline, in lipopolysaccharide-induced inflammation in mice. J Pharmacol Exp Ther. 2004 Jul;310(1):247-55.

17. Wang HX1, Liu M, Weng SY, Li JJ, Xie C, He HL, Guan W, Yuan YS, Gao J. Immune mechanisms of Concanavalin A model of autoimmune hepatitis. World J Gastroenterol. 2012 Jan 14;18(2):119-25.

18. Wrede CE, Dickson LM, Lingohr MK, Briaud I, Rhodes CJ. Protein kinase B/Akt prevents fatty acid-induced apoptosis in pancreatic beta-cells (INS-1). J Biol Chem. 2002 Dec 20;277(51):49676-84.

References

1. Alekseeva IN, Makogon NV, Alekseyuk LI, Bryzgina TM, Martynova TV, Pavlovich SI, Sukhina VS. Role of transcription factor Nf-KB

and nuclear enzyme poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) in mechanisms of development of experimental immune

inflammation of liver. Proc. the III Congress of CIS physiologists. Ed. AI Grigorieva, OA Kryshchal, YuV Natochin, RI Sepiashvili. Moscow: Medical-Health; 2011.

2. Drel VR, Sybirna NO. Nephroprotective effect of wine in animals with experimental diabetes. *Biol studies*. 2009;3(3):59-68.

3. Drel VR, Shymanskyi IO, Sybirna NO, Velykyi MM. The role of PARP and process of poly-ADP-ribosylation of proteins in the regulation of cellular functions. *Ukr Biochem J*. 2011;83(6):5-34.

4. Kamyshnikov VS. Handbook on clinical and biochemical studies, and laboratory diagnostics. Moscow: MEDpress-Inform; 2004.

5. Makogon NV, Alekseieva IM. Poly(ADP-ribose) polymerase-1: Physiological and pathophysiological role. *Fiziol Zhurn (Kiev)*. 2012; 58 (3): 95-112.

6. Pavlovich SI, Bryzgina TM, Makogon NV, Alekseyuk LI, Martynova TV, Yanchii RI, Alekseieva IN. The infiltration of the liver by cells of the natural and adaptive immunity, and their death in the dynamics of immune Concanavalin A-induced hepatitis. *Ros J Gastroenterol Hepatol Coloproctol*. 2011; 21 (6): 42-9.

7. Banasik M, Stedeford T, Strosznajder RP. Natural inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase-1. *Mol Neurobiol*. 2012 Aug;46(1):55-63.

8. Besson VC. Drug targets for traumatic brain injury from poly(ADP-ribose)polymerase pathway modulation. *Br J Pharmacol*. 2009 Jul;157(5):695-704.

9. Curtin NJ, Szabo C. Therapeutic applications of PARP inhibitors: anticancer therapy and beyond. *Mol Aspects Med*. 2013 Dec;34(6):1217-56.

10. Grushka N, Makogon N, Pavlovich S, Bryzgina T, Martynova T, Sukhina V, Yanchii R. Poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor 4-hydroxyquinazoline exerts a protective effect against concanavalin A-induced hepatitis in mice. *J Health Sci*. 2013;3(11):463-8.

11. Jouan-Lanhoutet S1, Arshad MI, Piquet-Pellorce C, Martin-Chouly C, Le Moigne-Muller G, Van Herreweghe F, Takahashi N, Sergeant O, Lagadic-Gossmann D, Vandenabeele P, Samson M, Dimanche-Boitrel MT. TRAIL induces necroptosis involving RIPK1/RIPK3-dependent PARP-1 activation. *Cell Death Differ*. 2012 Dec;19(12):2003-14.

12. Kirkland JB. Poly ADP-ribose polymerase-1 and health. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2010 May;235(5):561-8.

13. McCluskey JD1, Sava D, Harbison SC, Muro-Cacho CA, Giffe JT, Ping X, Harbison RD. Hepatoprotective effects of select water-soluble PARP inhibitors in a carbon tetrachloride model. *Int J Crit Illn Inj Sci*. 2011 Jul;1(2):97-103.

14. Mukhopadhyay P1, Rajesh M, Cao Z, Horváth B, Park O, Wang H, Erdelyi K, Holovac E, Wang Y, Liaudet L, Hamdaoui N, Lafdil F, Haskó G, Szabo C, Boulares AH, Gao B, Pacher P. Poly (ADP-ribose) polymerase-1 is a key mediator of liver inflammation and fibrosis. *Hepatology*. 2014 May;59(5):1998-2009.

15. Tas Hekimoglu A1, Toprak G, Akkoc H, Evliyaoglu O, Tas T, Kelle I, Colpan L. Protective effect of 3-aminobenzamide, an inhibitor of poly (ADP-ribose) polymerase in distant liver injury induced by renal ischemia-reperfusion in rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2014;18(1):34-8.

16. Veres B1, Radnai B, Gallyas F Jr, Varbiro G, Berente Z, Osz E, Sumegi B. Regulation of kinase cascades and transcription factors by a poly(ADP-ribose) polymerase-1 inhibitor, 4-hydroxyquinazoline, in lipopolysaccharide-induced inflammation in mice. *J Pharmacol Exp Ther*. 2004 Jul;310(1):247-55.

17. Wang HX1, Liu M, Weng SY, Li JJ, Xie C, He HL, Guan W, Yuan YS, Gao J. Immune mechanisms of Concanavalin A model of autoimmune hepatitis. *World J Gastroenterol*. 2012 Jan 14;18(2):119-25.

18. Wrede CE, Dickson LM, Lingohr MK, Briaud I, Rhodes CJ. Protein kinase B/Akt prevents fatty acid-induced apoptosis in pancreatic beta-cells (INS-1). *J Biol Chem*. 2002 Dec 20;277(51):49676-84.

Дата надходження: 02.03.15