

## ВПЛИВ N-АЦИЛЕТАНОЛАМІНІВ НА ВИЖИВАННЯ КУЛЬТУРИ ЕМБРІОНАЛЬНИХ КЛІТИН ЗА ДІЇ РАДІАЦІЙНОГО ОПРОМІНЕННЯ

В. С. АСМОЛКОВА, Г. Й. ЛАВРЕНЧУК, Т. О. ХМЕЛЬ, Н. М. ГУЛА

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;  
e-mail: ngula@biochem.kiev.ua

У роботі порівнювали ефекти N-стеароїлетаноламіну (NSE), N-олеоїлетаноламіну (OEA) та суміші N-ацилетаноламінів (NAE) на виживання ембріональних клітин у культурі, розвиток апоптозу та активність мітохондріальних ензимів сукцинатдегідрогенази (СДГ) і гліцерофосфатдегідрогенази (ГФДГ) за нормальних умов та дії іонізуючої радіації в низьких і високих дозах.

Виявлено, що всі досліджувані NAE здатні дозозалежно модулювати проліферативну активність як інтактних, так і опромінених клітин. Найвираженіший ефект спостерігається за дії суміші NAE. Установлено, що NAE запобігають ушкоджувальній дії іонізуючої радіації, зокрема активації апоптотичної загибелі клітин. Порівняльний аналіз показує, що NSE і OEA в культивованих клітинах відповідно знижують загальну активність СДГ (на 42,3 та 44,14%) і ГФДГ (на 14,67% та 17,33%), а в разі додавання до інкубаційного середовища суміші NAE інгібують загальну активність СДГ (на 20%) на тлі підвищення загальної активності ГФДГ на 20%. Згідно з одержаними нами даними припускається, що антипроліферативна властивість NAE пов'язана з їхнім впливом на функціонування мітохондрій.

*Ключові слова:* N-ацилетаноламіни, проліферативна активність, апоптоз, мітохондріальні ензими, іонізуюче опромінення.

**N**-ацилетаноламіни (NAE) — жирнокислотні похідні етаноламіну з канабіметичними властивостями — за фізіологічних умов містяться в організмі в піколярних концентраціях, у той час як при патологічному стані рівень їх збільшується в тисячі разів. Як з'ясувалось, такі зміни в кількісному співвідношенні NAE відіграють захисну роль та спрямовані на зменшення або корекцію дії ушкоджувальних чинників. На сьогодні відомо, що ці сполуки запобігають розвитку оксидативного стресу у тканинах за патологічних змін в організмі [1]. До біологічних ефектів їх відносять також здатність індукувати апоптоз і/або пригнічувати чи стимулювати проліферацію різних типів клітин [2]. Реалізація біологічної активності NAE залежить від кількості подвійних зв'язків у жирнокислотному ланцюзі молекул. Слід відзначити, що ефекти окремих NAE та суміші їх можуть бути неоднаковими або навіть протилежними. Так, N-арахідоноїлетаноламін (анандамід) гальмує рухливість сперматозоїдів [3], а N-пальмітоїлетаноламін, навпаки, підвищує їхні кінематичні характеристики [4]. N-стеароїлетаноламін (NSE) індивідуально незначно впливає на фрагментацію ДНК у тканинах

надниркових залоз людини (неопубліковані дані нашого відділу), тоді як анандамід і суміш NAE активують апоптотичні процеси [5]. Імовірно, що біохімічні ефекти тих чи інших NAE, які утворюються в організмі в певному співвідношенні [6], неоднакові і реалізація їх залежить від скоординованої дії цих сполук, природи клітини-мішені та ступеня її диференціації.

Численними дослідженнями доведено істотну роль в реалізації ефектів NAE рецепторних шляхів [7–9], однак багато авторів акцентує увагу на тому, що NAE впливають на метаболізм, не зв'язуючись із рецепторами [10, 11]. Так відомо, що N-олеоїлетаноламін (OEA), який є агоністом канабіноїдного рецептора CB1, здатен також активувати і ванілоїдний рецептор TRPV1 та взаємодіяти з потенціал-залежними Na-каналами [12]. Інший напрям дії OEA — інгібування щілиноконтактних (gap-junction) взаємодій [13]. Найдетальніше порівняно з іншими NAE вивчено анандамід, який впливає на активність трансмембранного транспортування  $Ca^{2+}$ , модулюючи його рівень [14, 15], що відбувається внаслідок безпосереднього зв'язування з протеїновим комплексом іонного каналу мембрани [16]. Припускається

ся, що регуляція ендоканабіноїдами виживання клітин опосередковується модуляцією функцій мітохондрій, зокрема через зниження споживання кисню та зміни потенціалу мітохондріальної мембрани [17, 18]. Порушення у процесах дихання, пов'язані з перенесенням електронів та окисно-відновними реакціями коензиму Q, зумовлюють гіперпродукцію супероксидних радикалів [19]. Установлено, що зменшення активності сукцинатдегідрогенази (СДГ), обумовлене генетичними мутаціями в її молекулі, призводить до підвищення рівня вільних радикалів, ініціації оксидативного стресу та активації апоптозу клітин [20–22]. Т. Мга́чек et al. показали, що під час порушень транспортування електронів в дихальному ланцюзі ключову роль у продукуванні активних форм кисню (АФК) відіграє мітохондріальна гліцерофосфатдегідрогеназа (ГФДГ) [23]. Так, у мітохондріях бурої жирової тканини за участю ГФДГ рівень цих процесів утричі вищий порівняно з генерацією їх СДГ [24]. Отже очевидно, що зміна активності мітохондріальних ензимів спряжена з інтенсивністю утворення АФК. Одним із потужних індукторів вільнорадикальних процесів і, як наслідок, генетичних змін в організмі, є іонізуюче випромінювання. Слід відзначити, що вже через 3 год після впливу радіації в опромінених клітинах спостерігається модифікація генів, причетних до генерації енергії [25]. У кератиноцитах відразу після іонізуючого опромінення в дозах 2 і 10 Гр змінюється експресія АТР-синтази, а рівень внутрішньоклітинного АТР збільшується на 50%.

У наших попередніх дослідженнях було виявлено, що NSE модулює активність мітохондріальних ензимів – СДГ та ГФДГ – як у нормальних, так і трансформованих клітинах, сприяє нормалізації активності основних ензимів антиоксидантного захисту (каталази, супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази) за умов гострої інтоксикації морфіном [26]. Це, у свою чергу, впливає на рівень АФК та енергетичний метаболізм клітин. Імовірно, вплив NAE на функціонування мітохондрій може бути складовою дії N-ацилетаноламінів.

Метою роботи було порівняння дії NSE, OEA та суміші ендоканабіноїдів на активність СДГ і ГФДГ у культурі міогенних клітин, а також вивчення ефектів NAE на їхню життєздатність за дії іонізуючого опромінення – потужного індуктора вільнорадикальних процесів в організмі.

## Матеріали і методи

У дослідах використовували первинну культуру ембріональних міогенних та фібробластоподібних клітин щурів. Ембріональні клітини отримували в асептичних умовах із м'язової тканини новонароджених тварин віком до однієї доби шляхом її механічного подрібнення, оброблення 0,25%-м розчином трипсину та 0,02%-м розчином версену (співвідношення 1:1) і подальшого культивування виділених клітин стандартними методами, як рекомендовано у книзі Р. Адамс [27]. Клітини культивували при температурі 37 °С у вигляді моношару на покривних скельцях (16 × 8 мм) в живильному середовищі, яке містило середовище RPMI-1640 (Sigma), 10%-у ембріональну телячу сироватку та гентаміцин (10 мкг/мл). В експериментах використовували клітини у стадії логарифмічного росту.

NSE, OEA та суміш NAE синтезували у відділі біохімії ліпідів Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна [28]. Суміш NAE одержували з рибацького жиру. У її складі містилися NAE з насиченими (24,66%) та ненасиченими (73,66%) жирними кислотами. За молекулярну масу суміші NAE прийнято середню величину молекулярних мас індивідуальних сполук у суміші – 290.

В експерименті використовували розчини NSE, OEA та суміші NAE в кінцевих концентраціях 10, 1 та 0,1 мкМ відповідно. Для виготовлення їх наважки відповідних сполук спочатку розчиняли у 100 мкл етанолу, після чого доводили розчини до певної концентрації культуральним середовищем. Кінцева концентрація етанолу в них становила 0,01%. Для дослідження ефектів NAE культуру клітин розділили на 4 частини. До кожної з них вносили досліджувані речовини в наведених вище концентраціях. Життєздатність клітин тестували за рівнем проліферативної активності, яку, у свою чергу, визначали за кінетикою росту. Упродовж чотирьох діб щоденно відбирали зразки, які після фіксації 96%-м етанолом фарбували гематоксиліном та еозином. Під мікроскопом підраховували кількість клітин на площі 0,05 мм<sup>2</sup> та мітотичний індекс (у %).

Для визначення впливу NAE на рівень апоптозу у клітинах культуру розділили на чотири частини: 1 – інтактний контроль; 2–4 – до середовища інкубації вносили 0,1 мкМ NSE, OEA або суміші NAE відповідно. Клітини, культивовані у вигляді моношару на покривному скельці на дні флакона, проми-

вали розчином PBS (20 мМ фосфатний буфер з рН 7,4, до якого додавали 0,1 М NaCl), після чого зразки 10 хв витримували в розчині 0,02%-го версену для відшарування клітин від скла. Потім розчин версену заміщували розчином PBS, в якому ресуспензували клітини. Суспензію клітин (1 мл) центрифугували в розчині PBS (1500 об./хв, 5 хв), супернатант відділяли. Процедуру відмивання осаду повторювали тричі. До осаду у пробірці додавали 1 мл розчину пропідійодиду (5 мг), 0,1% цитрату Na та 0,1% тритону X-100 (тривалість інкубації становила 1 год, температура – 4 °С). Кількість апоптичних клітин у пробі визначали за допомогою протокового цитофлуориметра FACStar Plus фірми «Becton Dickinson» (США). Рівень апоптозу оцінювали за апоптичним індексом (співвідношенням кількості апоптичних клітин до загальної кількості їх в експерименті – до 6000) і виражали у відносних одиницях (відн. од.).

Вживання та рівень апоптозу клітин у культурі визначали як при культивуванні їх за нормальних умов, так і за сумісного впливу NAE та іонізуючого опромінення в низьких (0,5 Гр) і високих (5 Гр) дозах. Дози для опромінення культури клітин підбирали згідно з даними літератури та результатами досліджень, проведених у нашому відділі, враховуючи поріг радіаційної чутливості клітин. Культуру ембріональних міогенних фібробластів ділили на групи: 1 – інтактний контроль; 2 і 3 – клітини, які опромінювали в дозі 0,5 та 5 Гр відповідно. Кожну частину культури клітин розділяли ще на три частини для культивування із препаратами NAE. Розчини NSE, OEA та NAE додавали до культури через 30 хв після їхнього опромінення  $\gamma$ -квантами кобальту ( $^{60}\text{Co}$ ), використовуючи апарат Рокус-3М (потужність дози – 1,4 Гр/хв). Після 4-добового культивування опромінених клітин визначали рівень їхнього виживання та апоптозу.

Активність мітохондріальних ензимів СДГ (КФ 1.3.5.1) та ГФДГ (КФ 1.1.1.8) у клітинах визначали із використанням напівкількісного цитохімічного методу Р. П. Нарцисова [29], адаптованого до культури ембріональних клітин. Як індикатор ензиматичного процесу застосовували *n*-нітрофенілтетразолій, (Reanal, Угорщина), який в реакції відновлення утворює формазан. Активність ензимів визначали за кількістю клітин з певною кількістю зерен формазану, що утворювався в цитоплазмі внаслідок ензиматичної реакції: 0–9 зерен у клітині – ензиматична активність низька, 10–19 – середня активність, понад 20 – ви-

сока. Цитохімічний показник загальної ензиматичної активності клітин обчислювали за формулою:

$$I = a + 2b + 3c,$$

де *I* – індекс загальної ензиматичної активності в 50 клітинах, *a*, *b* і *c* – відповідні відсотки клітин із низькою, середньою та високою активністю ензиму.

Статистичне оброблення одержаних результатів проводили за критерієм Стьюдента. Кількість спостережень 3–5. На діаграмах відображено стандартну похибку. Статистичне оброблення результатів активності СДГ та ГФДГ у клітинах за критерієм Стьюдента здійснювалася, за реальною кількістю клітин, отриманих в експерименті. Дані активності ензимів наведено у відсотках для полегшення розуміння поданої інформації.

### Результати та обговорення

Дані, наведені на рис. 1, показують, що при додаванні до культурального середовища NAE кількість ембріональних клітин щурів змінюється залежно від концентрації та жирнокислотного складу NAE. Внесення 0,1 мкМ NSE до живильного середовища сприяє порівняно з контролем вірогідному збільшенню кількості клітин, у той час як OEA за такої самої концентрації не впливає на виживання фібробластів у культурі. За таких умов суміш NAE, навпаки, пригнічує проліферативну активність. Додавання до середовища 1 мкМ OEA активує проліферацію клітин, тоді як суміш NAE і в цьому випадку зменшує їхню кількість.

Раніше було показано, що NSE здатен активувати апоптоз клітин С6-гліоми щурів унаслідок інгібування активності амідогідролази жирних кислот, чим запобігає деградації індуктора апоптозу анандаміду [30]. На сьогодні відомо, що антипроліферативний ефект анандаміду обумовлено його здатністю затримувати перебіг клітинного циклу [31]. Для відповіді на питання, що спричинює зміну проліферативної активності клітин, ми досліджували, чи активується апоптоз NAE. Виявлено, що внесення до середовища NSE та OEA не впливає на апоптоз (рис. 2), тоді як за введення суміші NAE кількість апоптичних клітин вірогідно зменшується. Одержані дані узгоджуються з попередніми і свідчать, що антипроліферативні властивості NAE не пов'язані з активацією апоптозу [32]. Очевидно, зниження проліферативної активності клітин у присутності суміші NAE може відбуватися внаслідок репродук-

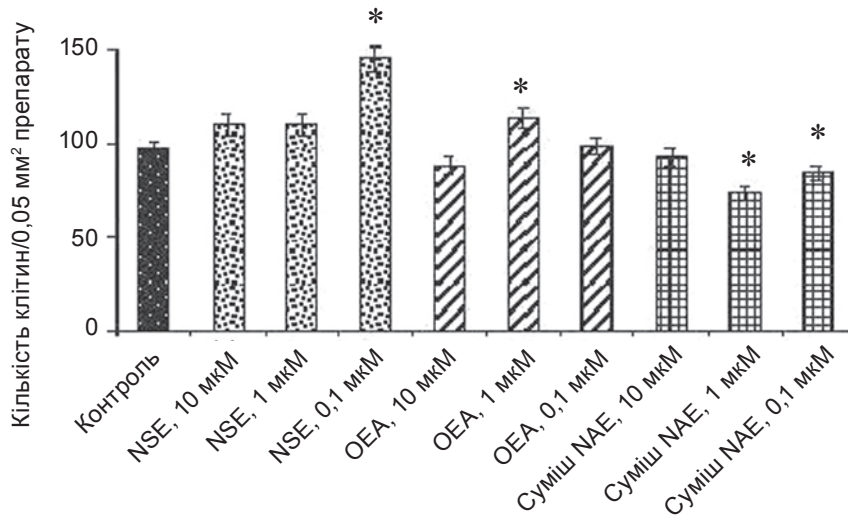


Рис. 1. Вживання ембріональних клітин у культурі за додавання до середовища інкубації NAE (4-а доба експерименту). Примітка. \* Тут і на рис. 2 різниця з контролем вірогідна,  $P < 0,001$

тивної загибелі (втрати репродуктивних функцій) або порушення мітотичних процесів.

Слід відзначити, що результати досліджень М. Wasilevsky et al. підтверджують здатність OEA і анандаміду впливати на мітохондріальне дихання та інгібування продукції АФК в мітохондріях серця [33]. Важливу роль у мітохондріальних процесах та в енергетичному балансі клітини відіграють мітохондріальні ензими СДГ і ГФДГ, які задіяні у трьох механізмах енергетичного постачання клітин (циклі трикарбонових кислот, дихальному ланцюзі гліколізу). Установлено, що зміни активності СДГ призводять до порушення дихання і перебігу реакцій гліколізу, а також до активації фосфорилування сигнальних протеїнів, с-jun амінотермінальної кінази і кінази р38 [34]. Тому вивчення дії NSE, OEA та суміші NAE на активність зазначених мітохондріальних ензимів уможливує розуміння потенціальних напрямів реалізації біологічних ефектів NAE.

Із даних на рис. 3 випливає, що в інтактному контролі більшості культивованих клітин притаманна висока або середня активність СДГ. Після додавання до середовища NSE та OEA загальна активність СДГ знижується через збільшення клітин із низькою активністю ензиму на тлі зменшення із середньою та високою. В разі внесення до живильного середовища клітин суміші NAE загальна активність СДГ знижується на 20%, що обумовлено підвищенням порівняно з контролем кількості клітин з низькою активністю ензиму. При цьому також значно зменшується кількість клітин із середнім рівнем активності СДГ.

Дані щодо активності ГФДГ у клітинах (рис. 4) свідчать, що введення до живильного середовища NSE та OEA майже не впливає на загальну активність ензиму, хоча кількість клітин із низькою його активністю зростає на тлі вірогідного зменшення із середньою. Порівняно з інтактним контролем у клітинах, які культивували у присутності суміші NAE, загальна активність ГФДГ вірогідно підвищується (на 20%), причому спостерігається обернена кореляція зі змінами в активності СДГ.

Відомо, що активація ядерних рецепторів PPAR, лігандами яких є NAE, спричинює зміни генної експресії ензимів і протеїнів, необхідних для розвитку та функціонування мітохондрій. S. Ramanan et al. установлено, що в культурі мікрогліальних клітин лінії BV-2 з агоністами PPAR $\alpha$  (GW7647) в ядрі порушується

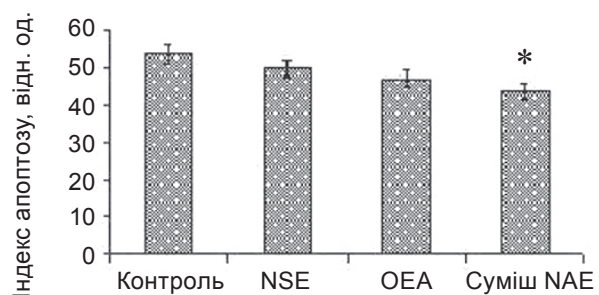


Рис. 2. Кількість апоптичних ембріональних клітин у культурі за додавання до інкубаційного середовища NAE в концентрації 0,1 мкМ (4-а доба експерименту)

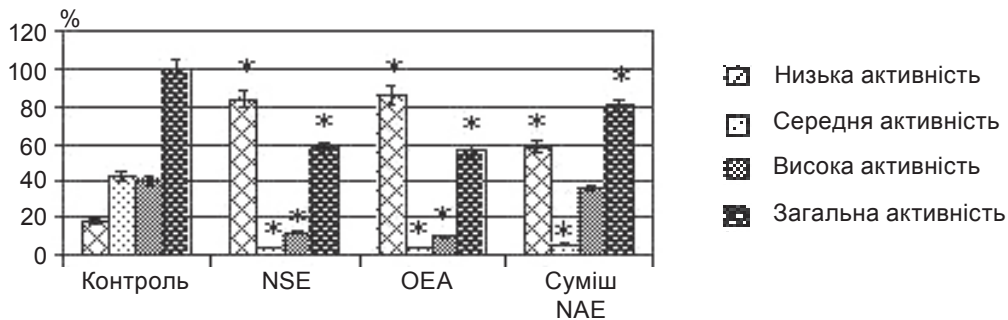


Рис. 3. Активність СДГ у культурі ембріональних клітин при додаванні до інкубаційного середовища NAE в концентрації 0,1 мкМ (4-а доба культивування). Примітка. \* Тут і на рис. 4 різниця з контролем вірогідна,  $P < 0,001$

ся транслокація та знижується фосфорилування c-jun-субодиниці AP-1, а це істотно інгібує прозапальну відповідь мікрогліальних клітин [35]. З огляду на кодування СДГ ядерної ДНК, доцільно припустити, що за дії NAE активація PPAR через NF-κB може впливати на експресію генів, які кодують ензим.

Отже, ймовірно, що ефекти досліджуваних NAE опосередковуються впливом на генетичний апарат клітини, внаслідок чого змінюється транскрипція та трансляція функціональних протеїнів, а також дією на транспортування електронів та рівень АФК.

Чинником індукції геномної нестабільності та гіперпродукції вільних радикалів може бути іонізуюча радіація. Залежно від дози опромінення відповідь клітин на радіаційний стрес неоднакова. Виявлено, що профілі генної експресії, індукованої низькими (2 сГр) і високими (4 Гр) дозами радіації, істотно відмінні [36]. У разі опромінення інтактних фібробластів людини в низькій дозі превалюють зміни експресії генів тих сполук, які задіяно в сиг-

нальний трансдукції та функціонуванні ДНК, у той час як за високої дози відбуваються зміни в експресії генів, причетних до клітинної проліферації та апоптозу. Цим до деякої міри пояснюються одержані нами дані щодо впливу NAE на виживання клітин за радіаційного опромінення (рис. 5 та 6).

Дані проведених досліджень свідчать, що після опромінення клітин у дозі 0,5 Гр рівень проліферативних процесів не змінюється (рис. 5). Додавання до середовища інкубації NSE і OEA не впливає на виживання інтактних і опромінених клітин, але культивування їх із сумішшю NAE підвищує проліферативну активність за опромінення в низькій дозі. Істотне гальмування проліферації клітин спостерігається в разі збільшення дози опромінення до 5 Гр. Установлено, що введення NSE та суміші NAE до культурального середовища не впливає на ефект радіаційного ушкодження клітин, що виражається у зниженні рівня їхнього виживання, тоді як OEA вірогідно підвищує кількість клітин. Це, вірогідно, обу-

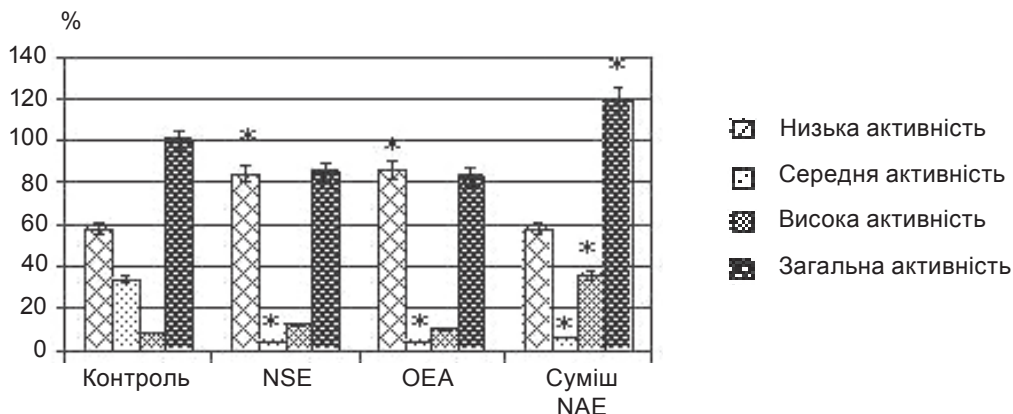


Рис. 4. Активність ГФДГ у культурі ембріональних клітин при додаванні до інкубаційного середовища NAE в концентрації 0,1 мкМ (4-а доба культивування)

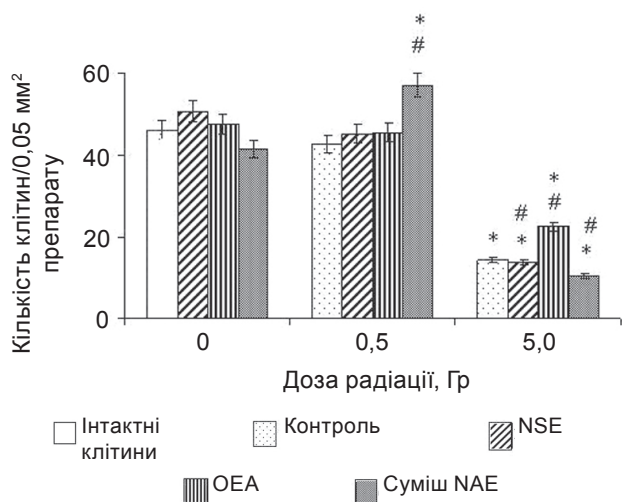


Рис. 5. Вплив 0,1 мкМ NAE на виживання ембріональних клітин в інкубаційному середовищі при дії іонізуючого випромінювання в дозах 0,5 та 5,0 Гр (4-а доба культивування).

Примітка. \* Тут і на рис. 6: різниця порівняно з контролем вірогідна,  $P < 0,001$ , # різниця порівняно з контролем вірогідна,  $P < 0,001$

мовлено або активацією проліферації на тлі опромінення, або здатністю OEA запобігати ушкоджувальній дії радіації, виявляючи протекторні властивості [37].

Досить давно відомо, що радіація спричинює апоптоз клітин і порушує електронно-транспортний ланцюг дихання [38]. Із даних, наведених на рис. 6, впливає, що в разі дії радіації в дозі 5 Гр апоптоз активується, чим пояснюється істотне зниження виживання клітин за цих умов (рис. 5). Досліджувані NAE попереджають проапоптотичні ефекти за дії високої дози радіації на клітини: рівень апоптозу зменшується до такого в інтактних клітинах, хоча ступінь виживання опромінених клітин за дії NAE не нормалізується. Одержані дані свідчать, що NAE, яким притаманні протекторні властивості, здатні захищати клітини від апоптотичної загибелі за дії іонізуючої радіації. При цьому гальмування ними проліферативної активності клітин відбувається шляхами, які не пов'язані з активацією апоптозу. Опромінення клітин у дозі 0,5 Гр, навпаки, зменшує кількість апоптотичних клітин порівняно з інтактним контролем. Можливо, як зазначено нами раніше, за дії незначних доз опромінення імовірно зміни експресії спо-

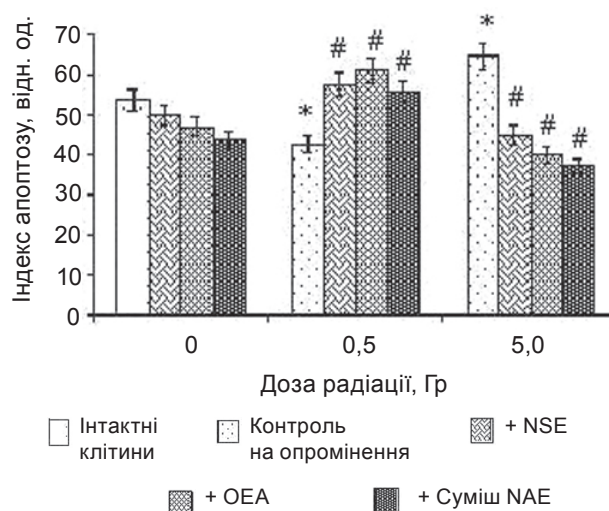


Рис. 6. Кількість апоптотичних клітин у культурі ембріональних клітин у присутності 0,1 мкМ NAE та опромінення їх у дозах 0,5 і 5,0 Гр (4-а доба культивування)

лук, задіяних у сигнальній трансдукції, що і порушує апоптотичні процеси [32]. Внесення до клітинного середовища NAE запобігає негативному впливу опромінення на організм: апоптотичний індекс за дії NAE не змінюється стосовно інтактних неопромінених клітин, що свідчить про можливість протекторного впливу цих сполук за ушкоджувальної дії радіації.

Отже, із одержаних нами даних випливає, що NAE змінюють проліферативну активність як інтактних, так і опромінених клітин залежно від концентрації. Антипроліферативний ефект NAE не пов'язаний з активацією апоптотичної загибелі клітин, а, ймовірно, обумовлено порушеннями їхньої репродуктивної функції внаслідок впливу на функціонування мітохондрій. Порівняльний аналіз показує, що NSE і OEA знижують загальну активність СДГ (на 42,3 та 44,14% відповідно) і ГФДГ (на 14,67 та 17,33% відповідно) у культурі клітин, але при додаванні до середовища інкубації суміші NAE загальна активність СДГ знижується (на 20%), у той час як загальна активність ГФДГ підвищується (на 20%). Таким чином, згідно з даними експериментальних досліджень доцільно припустити, що одним із чинників механізму дії NAE на клітини є регуляція мітохондріального дихання та енергетичного балансу клітини.

**ВЛИЯНИЕ N-АЦИЛЭТАНОЛАМИНОВ  
НА ВЫЖИВАНИЕ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ  
КЛЕТОК ПОД ДЕЙСТВИЕМ  
ИОНИЗУЮЩЕГО ОБЛУЧЕНИЯ**

*В. С. Асмолкова, Г. И. Лавренчук,  
Т. А. Хмель, Н. М. Гулая*

Институт биохимии им. А. В. Палладина  
НАН Украины, Киев;  
e-mail ngula@biochem.kiev.ua

В работе сравнивали эффекты N-стеарилэтанолamina (NSE), N-олеилэтанолamina (OEA) и смеси N-ацилэтаноламинов (NAE) на выживание и апоптоз эмбриональных клеток, а также на активность митохондриальных энзимов – сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и глицерофосфатдегидрогеназы (ГФДГ) – в культуре при нормальных условиях и при воздействии на нее ионизирующего облучения.

Показано, что все исследуемые NAE, в зависимости от концентрации, способны модулировать пролиферативную активность как интактных, так и облученных клеток. Наиболее выраженный эффект наблюдается при действии смеси этих веществ. Установлено, что NAE предупреждают повреждающие эффекты ионизирующей радиации, выражающиеся в активации апоптотической гибели клеток. Данные сравнительного анализа свидетельствуют, что NSE и OEA в культуре клеток снижают соответственно общую активность СДГ (на 42,3 и 44,14%) и ГФДГ (на 14,67 и 17,33%), а при добавлении смеси NAE наблюдается снижение общей активности СДГ (на 20%) на фоне повышения общей активности ГФДГ (на 20%).

Полученные данные позволяют предположить, что антипролиферативные свойства NAE зависят от их влияния на функционирование митохондрий.

**Ключевые слова:** N-ацилэтаноламины, пролиферативная активность, апоптоз, митохондриальные энзимы, ионизирующее облучение.

**INFLUENCE  
OF N-ACYLETHANOLAMINES  
ON EMBRYONIC CELL CULTURE  
SURVIVAL UNDER THE EFFECT  
OF IRRADIATION**

*V. S. Asmolikova, G. I. Lavrenchuk,  
T. O. Khmel, N. M. Gula*

Palladin Institute of Biochemistry, National  
Academy of Sciences, Ukraine, Kyiv;  
e-mail ngula@biochem.kiev.ua

**S u m m a r y**

The effects of the N-stearoylethanolamine (NSE), N-oleoylethanolamine (OEA) and N-acylethanolamine (NAE) mixture on the cell survival, apoptosis and activity of mitochondrial succinate dehydrogenase (SDG) and glycerophosphate dehydrogenase (GFDG) in embryonic cell culture under normal conditions and irradiation were compared in the work.

It was shown, that all investigated NAE were able to modulate the proliferative activity of intact cells as well as irradiation-exposed cells in concentration-depended manner. The most pronounced effect was observed under the NAE mixture action. It was established, that NAE prevented the damage effects of the irradiation and diminished the activation of apoptotic cell death. It was found that NSE and OEA decreased the activity of the SDG (42.3 and 44.14%, accordingly) and the GFDG activity (14.67 and 17.33%, accordingly) in embryonic cell culture, while addition of the NAE mixture decreased SDG activity by 20%, at the same time GFDG activity increased by 20%.

Our findings suggested that antiproliferative effects of NAE depended on their influence on mitochondrial functioning.

**Key words:** N-acylethanolamines, proliferative activity, apoptosis, mitochondrial enzymes, ionizing irradiation.

1. Жуков О. Д., Артамонов М. В., Клімашевський В. М. та ін. // Укр. біохім. журн. – 2000. – 72, № 2. – С. 24–27.

2. Guzmán M., Sánchez C., Galve-Roperh I. // *Pharmacol. Ther.* – 2002. – **95**, N 2. – P. 175–184.
3. Schuel H., Goldstein E., Mechoulam R., Zimmerman A. M. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1994. – **91**, N 16. – P. 7678–7682.
4. Ambrosini A., Zolese G., Ambrosi S. et al. // *Androl.* – 2005. – **26**, N 3. – P. 429–436.
5. Pushkarev V. M., Kovzun O. I., Tronko M. D. // *Exp. Oncol.* – 2008. – **30**, N 1. – P. 6–21.
6. Maccarrone M., Attina M., Cartoni A., Bari M., Finazzi-Agrò A. // *J. Neurochem.* – 2001. – **76**, N 2. – P. 594–601.
7. Casanova M. L., Blázquez C., Martínez-Palacio J. et al. // *J. Clin. Invest.* – 2003. – **111**, N 1. – P. 43–50.
8. Maccarrone M., Lorenzon T., Bari M., Melino G., Finazzi-Agro A. // *J. Biol. Chem.* – 2000. – **275**, N 41. – P. 31938–31945.
9. Contassot E., Wilmotte R., Tenan M. et al. // *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* – 2004. – **63**, N 9. – P. 956–963.
10. Dalle Carbonare M., Del Giudice E., Stecca A. et al. // *J. Neuroendocrinol.* – 2008. – **20**. – P. 26–34.
11. Patsos H. A., Hicks D. J., Dobson R. R. et al. // *Gut.* – 2005. – **54**, N 12. – P. 1741–1750.
12. Verdon B., Zheng J., Nicholson R. A., Ganelli C. R., Lees G. // *Br. J. Pharmacol.* – 2000. – **129**, N 2. – P. 283–290.
13. Hiley C. R., Hoi P. M. // *Card. Drug. Rev.* – 2007. – **25**, N 1. – P. 46–60.
14. Гуляя Н. М., Говсеева Н. Н., Климашевский В. М. и др. // *Укр. біохім. журн.* – 1997. – **69**, № 5–6. – С. 64–73
15. Kofalvi A., Pereira M. F., Rebola N., Rodrigues R. J. et al. // *British J. Pharm.* – 2007. – **151**. – P. 551–563.
16. Lambert R. C., Bessaih T., Leresche N. // *CNS Neurol. Disord. Drug Targets.* – 2006. – **5**, N 6. – P. 611–627.
17. Athanasiou A., Clarke A. B., Turner A. E. et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2007. – **364**, N 1. – P. 131–137.
18. Sarafian T. A., Habib N., Oldham M. et al. // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* – 2006. – **290**, N 6. – P. 1202–1209.
19. Chen Q., Vazquez E. J., Moghaddas S., Hopfel C. L., Lesnefsky E. J. // *J. Biol. Chem.* – 2003. – **278**, N 38. – P. 36027–36031.
20. Dong L. F., Low P., Dyason J. C. et al. // *Oncogene.* – 2008. – **27**, N 31. – P. 4324–4335.
21. Slane B. G., Aykin-Burns N., Smith B. J. et al. // *Cancer Res.* – 2006. – **66**, N 15. – P. 7615–7620.
22. Ishii T., Yasuda K., Akatsuka A. et al. // *Ibid.* – 2005. – **65**, N 1. – P. 203–209.
23. Mráček T., Pecinová A., Vrbacký M., Drahotka Z. et al. // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2009. – **481**. – P. 30–36.
24. Vrbacký M., Drahotka Z., Mráček T. et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2007. – **1767**, N 7. – P. 989–997.
25. Lamartine J., Franco N., Le Minter P. et al. // *J. Cell Biochem.* – 2005. – **95**, N 3. – P. 620–631.
26. Горідько Т. М. // *Укр. біохім. журн.* – 2007. – **79**, № 5. – С. 175–185.
27. Адамс Р. Методы культуры клеток для биохимиков / Под. ред. В. Ю. Полякова. – М.: Мир, 1983. – 262 с.
28. Пат. 77278 UA 6МПК А61К 31/13. Препарат для пригнічення алергічних реакцій та неспецифічного запалення, спосіб його одержання і спосіб його використання / Гула Н. М., Комісаренко С. В., Чумак А. А. та ін. / Опубл. 15.11.2006. Бюл. № 11.
29. Нарциссов Р. П. Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1969. – **5**. – С. 85–91.
30. Maccarrone M., Pauselli R., Di Rienzo M., Finazzi-Agrò A. // *Biochem. J.* – 2002. – **366**, N 1. – P. 137–144.
31. Laezza C., Pisanti S., Crescenzi E., Bifulco M. // *FEBS Lett.* – 2006. – **580**, N 26. – P. 6076–6082.
32. Хмель Т. О. Вплив N-стеароїлетаноламіну на ліпідний склад злоякісних та умовно нормальних клітин. Автореф. дис. ... канд. біол. наук ... – К. 2008. – 20 с.
33. Wasilewski M., Wieckowski M. R., Dymkowska D., Wojtczak L. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2004. – **1657**, N 2–3. – P. 151–163.
34. Cervera A. M., Apostolova N., Crespo F. L., Mata M. et al. // *Cancer Res.* – 2008. – **68**, N 11. – P. 4058–4067.
35. Ramanan S., Kooshki M., Zhao W., Hsu F. C. et al. // *Free Radic. Biol. Med.* – 2008. – **45**, N 12. – P. 1695–1704.
36. Ding L. H., Shingyoji M., Chen F. et al. // *Radiat. Res.* – 2005. – **164**, N 1. – P. 17–26.
37. Ambrosini A., Zolese G., Ambrosi S. et al. // *Biol. Reprod.* – 2006. – **74**, N 4. – P. 659–665.
38. Dewey W. C., Ling C. C., Meyn R. E. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 1995. – **33**, N 4. – P. 781–796.

Отримано 13.01.2009