

¹Н.Є. Узленкова,
²Г.С. Григор'єва,
²Н.Ф. Конахович

¹ДУ Інститут медичної
радіології ім. С.П. Григор'єва
НАМН України, Харків,

²ДУ «Інститут фармакології
і токсикології
НАМН України», Київ

Оцінка антиоксидантних властивостей препарату «Есмін» при загальному зовнішньому ікс-опроміненні хворих

Assessment of antioxidant properties of Esmin at total external x-ray exposure of the patients

Цель работы: Оценка антиоксидантных свойств препарата «Эсмин» в условиях однократного действия на организм общего внешнего рентгеновского облучения в минимально летальной и сублетальной дозах.

Материалы и методы: Опыт проводили на 182 белых крысах-самцах с массой тела 160–180 г. Однократное общее рентгеновское облучение животных выполнялось на установке РУМ-17 в стандартных технических условиях. Исследования осуществлялись на 3, 7, 14-е сутки и 30-е, 90-е и 180-е сутки после облучения. Эсмин вводили per os в дозах 75 мг/кг и 25 мг/кг согласно разработанной схеме. Состояние окислительного гомеостаза оценивали с помощью определения тиобарбитуровоокислотно-активных продуктов (ТБК-АП), активности основных антиоксидантных ферментов — супероксиддисмутазы (Cu/ZnСОД) (1.15.1.1.), каталазы (КТ) (1.11.1.6.), глутатионпероксидазы (SeГПО) (1.11.1.9) и содержания глутатиона (GSH) в крови и органах крыс. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием пакета программ Biostatistics v.4.03 для Windows.

Результаты: Установлены выраженные антиоксидантные свойства препарата «Эсмин» по нормализации показателя содержания ТБК-АП, предотвращению снижения активности Cu/ZnСОД, КТ и SeГПО и сохранению содержания эндогенного GSH в крови, легких и коже крыс в ранние и отдаленные сроки после общего внешнего рентгеновского облучения в дозах 4,0 и 6,2 Гр.

Доказана эффективность применения препарата «Эсмин» для предупреждения развития пролонгированного окислительного стресса и нормализации нарушения окислительного гомеостаза, развившегося во время острого радиационного воздействия.

Выводы: Препарат «Эсмин» проявляет выраженные антиоксидантные свойства при общем внешнем рентгеновском облучении в дозах 4,0 и 6,2 Гр.

Ключевые слова: общее внешнее рентгеновское облучение, окислительный гомеостаз, препарат «Эсмин», антиоксидантные свойства.

Мета роботи: Оцінка антиоксидантних властивостей препарату «Есмін» за умов одноразового впливу на організм загального зовнішнього ікс-опромінення у мінімально летальній та сублетальній дозах.

Матеріали і методи: Досліди проводили на 182 білих щурах-самцях з масою тіла 160–180 г. Одноразове загальне ікс-опромінення тварин виконували на установці РУМ-17 у стандартних технічних умовах. Дослідження здійснювали на 3, 7, 14-ту добу та 30, 90 і 180-ту добу після опромінювання. Есмін вводили per os у дозах 75 мг/кг і 25 мг/кг відповідно до розробленої схеми. Стан окисного гомеостазу оцінювали за допомогою визначення тиобарбітуровоокислотно-активних продуктів (ТБК-АП), активності основних антиоксидантних ферментів: супероксиддисмутазу (Cu/ZnСОД) (1.15.1.1.), каталази (КТ) (1.11.1.6.), глутатионпероксидази (SeГПО) (1.11.1.9) і вмісту глутатиону (GSH) у крові й органах щурів. Отримані дані обробляли статистично з використанням пакета програм Biostatistics v.4.03 для Windows.

Результати: Встановлено виражені антиоксидантні властивості препарату «Есмін» за нормалізацією показника вмісту ТБК-АП, запобіганням виснаженню активності Cu/ZnСОД, КТ і SeГПО та збереженням ендогенного GSH у крові, легенях і шкірі щурів у ранні й віддалені терміни після загального зовнішнього ікс-опромінення у дозах 4,0 і 6,2 Гр.

Встановлено ефективність застосування препарату «Есмін» з метою запобігти розвитку пролонгованого окиснювального стресу та для нормалізації порушення окисного гомеостазу, що відбувається під час гострого радіаційного впливу.

Висновки: Препарат «Есмін» виявляє виражені антиоксидантні властивості при загальному зовнішньому ікс-опроміненні у дозах 4,0 і 6,2 Гр.

Ключові слова: загальне зовнішнє ікс-опромінення, окисний гомеостаз, препарат «Есмін», антиоксидантні властивості.

На сьогодні численні дані літератури [1–4] і власних досліджень [5, 6] про порушення окиснювального гомеостазу за умов впливу іонізуючого випромінювання дозволяють розглядати проантисексидантну рівновагу як одну з центральних складових гомеостазу організму і вказують на необхідність застосування лікарських засобів, у спектрі фармакологічної активності яких обов'язково присутній антисексидантний компонент.

Отже, проблема пошуку і вивчення дії лікарських засобів з антисексидантними властивостями для профілактики і ранньої фармакологічної корекції радіаційно-індукованих ускладнень в органах та системах організму набуває особливої актуальності. Слід зазначити, що потенційно ефективні препарати мають бути нетоксичними, вводитися багаторазово і не тільки перед початком опромінення, але й протягом тривалого часу після впливу іонізуючої радіації.

В останні роки проведено широкий скринінг різних класів синтезованих хімічних сполук (похідних ізотіуронію, тіозолідину, індолілакліламінів, порфірину, тіокарбамату, 4-алкілтіоетил похідних піридину, меркаптоацетамідину та інших), а також природних біофлавоноїдів, β-каротиноїдів та інших щодо ефективності їх використання при безпосередній дії радіаційного фактора [7–10]. Результатами досліджень доведено, що в умовах тривалого впливу низькоінтенсивного опромінення застосування природних водо- і жиророзчинних антисексидантів (α-токоферолу, β-каротину та інших) розглядається як ефективна субстратна терапія, спрямована на компенсацію виснажених антисексидантних ресурсів організму [11–13]. Встановлено також здатність α-токоферолу, аскорбінової кислоти і полівітамінів препаратів послаблювати ефекти іонізуючого випромінювання — прояви гострої хронічної променевої хвороби та її віддалених наслідків [14–18]. Важливими фармакологічними характеристиками більшості синтезованих сполук (похідних ізотіуронію, тіозолідину, амінотіолів та інших) є електронноакцепторні властивості та здатність підвищувати ефективність антисексидантної системи клітин [19–21]. Особливий інтерес у контексті даної проблеми являє принципово новий клас хімічних речовин, створених на основі координаційних сполук життєво важливих d-перехідних біметалів з органічними сполу-

ками, розробка яких проводилася у ДУ «Інститут фармакології і токсикології НАМН України». Внаслідок комплексоутворення основними фармакохімічними характеристиками даного класу речовин є кластерна будова, підвищена біодоступність, ліпофільність, знижена токсичність, оптимальні співвідношення термодинамічної та кінетичної стабільності [22]. Звернення з цього приводу до препарату «Есмін» як представника цього класу речовин було доцільним і обґрунтовувалося фармакологічними властивостями та особливостями хімічної будови препарату як композиції життєво важливих мікроелементів Fe, Cu, Zn, Se, Mn, Co, Cr, Mo і V з органічним лігандом N-2,3-диметилфенілантраніловою кислотою. У зв'язку з вищезазначеним, метою нашої роботи була експериментальна оцінка антисексидантних властивостей препарату «Есмін» за умов одноразового впливу на організм загального зовнішнього ікс-опромінення у мінімально летальній та сублетальній дозах.

Методика дослідження

Досліди проводили на 182 білих нелінійних щурах-самцях з масою тіла 160–180 г, яких утримували в стандартних умовах на звичайному раціоні віварію. При проведенні експериментальних досліджень дотримувалися рекомендацій щодо медико-біологічних досліджень згідно з міжнародними принципами Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1998) та норм біомедичної етики, відповідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Київ, 2006) під контролем комітету з біомедичної етики ДУ «ІМР ім. С.П. Григор'єва НАМН України». Опромінювали тварин на установці РУМ-17 за стандартних технічних умов: напруга — 200 кВ, сила струму — 10 мА, фільтр — 0,55 мм Cu + 1 мм Al, тубус F-40, потужність дози 0,554 Гр/хв, $E_{\text{ср}} = 80,3$ кеВ. Поглинута м'якими тканинами доза складала 4,0 і 6,2 Гр. Потужність поглинутої дози дорівнювала 0,64 Гр/хв. Тварин контрольної групи піддавали псевдоопроміненню. Есмін використовували per os згідно з описаним раніше способом [23]. Досліди проводили на 3, 7 і 14-ту добу та 30, 90 і 180-ту добу після опромінювання. Кожна контрольна і піддослідна група складалася з 9–11 тварин. Контрольну групу використовували на кожен термін досліджень, оскільки це дало можливість врахувати вікові зміни піддослідних щурів в умовах тривалого експерименту. Дослідження проводили в органах, чутливих до опромінення, — легенях, шкірі та крові щурів. Зсіданню крові запобігали за допомогою гепарину. Зразки шкіри (20 x 5 мм) з довгою стороною вздовж спини очищали від підшкірно-жирового шару і волосяного покриву. Легені промивали фізіологічним розчином, очищали від сторонніх тканин і використовували цілком. Зразки тканин розтирали в рідкому азоті до порошкоподібного стану. Окисний гомеостаз щурів оцінювали з використанням загальноприйнятих методів визначення ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) [24]; активності супероксиддисмутази (Cu/ZnСОД; 1.15.1.1.) [25];

каталази (КТ; 1.11.1.6.) [26]; глутатіонпероксидази (SeГПО; 1.11.1.9) [27] та кількості відновленого глутатіону (GSH) [28]. Отримані дані обробляли статистично з використанням t-критерію Стьюдента та непараметричного критерію Манна-Уїтні за допомогою пакета Bio-statistics v.4.03 для Windows.

Результати та їх обговорення

Як показали результати дослідів, наведені у таблиці 1, саме зовнішнє ікс-опромінення у дозах 4,0 і 6,2 Гр зумовило виникнення радіаційного окиснювального стресу (ОС) та посилення окиснювальних реакцій, про що свідчило стійке накопичування найагресивніших у плані розгалуження ланцюгів вільнорадикальних реакцій кінцевих ТБК-АП у крові та органах опромінених щурів. Згідно з отриманими даними, безпосередньо у гострий період, на 3-тю добу, рівень ТБК-АП у крові вірогідно зростав у 1,3 і 1,4 разу, на 7-му

добу — в 1,4 і 1,5 разу і на 14-ту добу залишався вірогідно збільшеним в 1,4 і 1,3 разу та не нормалізувався до кінця спостережень. Водночас, починаючи з 7-ї доби, вміст ТБК-АП у легенях і шкірі помітно зростав пропорційно дозі опромінення і наприкінці дослідів вірогідні зміни з боку цього показника визначалися в органах тварин, опромінених у дозі 6,2 Гр.

Встановлені зміни рівня ТБК-АП у крові опромінених щурів відбувалися на фоні зниження активності Cu/ZnСОД майже на 30 % протягом усього періоду спостережень (таблиця 2). При цьому на 3-тю добу активність КТ у крові вірогідно зростала в 1,4 і 1,6 разу, але потім зменшувалася, залишаючись зниженою відносно контролю, починаючи з 30-ї доби і до кінця дослідів (таблиця 3). Разом з тим, відбувалося розбалансування функціонування спряжених Cu/ZnСОД і КТ у

Таблиця 1

Вплив препарату «Есмін» на вміст ТБК-АП у крові та органах щурів у різні терміни після одноразового загального зовнішнього ікс-опромінення у дозах 4,0 і 6,2 Гр ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)
Influence of Esmin on TBS-AP amount in the blood and organs of the rats at various terms after single total external x-ray exposure at a dose of 4.0 and 6.2 Gy ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)

| Група | n | Термін дослідження, доба | | | | | |
|-----------------------------------|----|--------------------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | | 3 | 7 | 14 | 30 | 90 | 180 |
| ТБК-АП крові, нмоль МДА/мл плазми | | | | | | | |
| Контроль | 8 | 2,41 ± 0,15 | 2,46 ± 0,16 | 2,35 ± 0,18 | 2,52 ± 0,22 | 2,75 ± 0,24 | 3,03 ± 0,23 |
| Опромінення 4,0 Гр | 9 | 3,12 ± 0,21* | 3,34 ± 0,26* | 3,04 ± 0,21* | 2,98 ± 0,28 | 3,09 ± 0,28 | 3,23 ± 0,22 |
| Опромінення 6,2 Гр | 9 | 3,28 ± 0,17* | 3,61 ± 0,31* | 3,38 ± 0,37* | 3,41 ± 0,29 | 3,54 ± 0,26 | 3,39 ± 0,24 |
| Препарат + опромінення 4,0 Гр | 11 | 2,76 ± 0,19 | 2,59 ± 0,22 | 2,32 ± 0,18** | 2,58 ± 0,27 | 2,72 ± 0,21 | 2,54 ± 0,21** |
| Препарат + опромінення 6,2 Гр | 10 | 2,73 ± 0,17 | 2,91 ± 0,29** | 2,41 ± 0,28** | 2,69 ± 0,22 | 2,67 ± 0,22** | 3,06 ± 0,27 |
| ТБК-АП легені, нмоль МДА/мг білка | | | | | | | |
| Контроль | 8 | 0,496 ± 0,07 | 0,518 ± 0,06 | 0,503 ± 0,05 | 0,488 ± 0,05 | 0,523 ± 0,05 | 0,515 ± 0,04 |
| Опромінення 4,0 Гр | 9 | 0,583 ± 0,07 | 0,797 ± 0,09* | 0,765 ± 0,10* | 0,673 ± 0,07 | 0,659 ± 0,06 | 0,652 ± 0,06 |
| Опромінення 6,2 Гр | 9 | 0,712 ± 0,08 | 0,823 ± 0,10* | 0,778 ± 0,09* | 0,685 ± 0,06* | 0,692 ± 0,06* | 0,685 ± 0,06* |
| Препарат + опромінення 4,0 Гр | 11 | 0,519 ± 0,08 | 0,521 ± 0,07** | 0,526 ± 0,06** | 0,516 ± 0,06 | 0,531 ± 0,05 | 0,524 ± 0,05 |
| Препарат + опромінення 6,2 Гр | 10 | 0,528 ± 0,10** | 0,554 ± 0,08** | 0,535 ± 0,07** | 0,526 ± 0,06 | 0,542 ± 0,06 | 0,536 ± 0,06 |
| ТБК-АП шкіри, нмоль МДА/мг білка | | | | | | | |
| Контроль | 8 | 0,088 ± 0,006 | 0,091 ± 0,007 | 0,093 ± 0,007 | 0,090 ± 0,008 | 0,092 ± 0,008 | 0,093 ± 0,007 |
| Опромінення 4,0 Гр | 9 | 0,078 ± 0,005 | 0,098 ± 0,008 | 0,123 ± 0,010* | 0,127 ± 0,012* | 0,119 ± 0,009* | 0,108 ± 0,009 |
| Опромінення 6,2 Гр | 9 | 0,097 ± 0,010 | 0,122 ± 0,010* | 0,159 ± 0,013* | 0,144 ± 0,011* | 0,131 ± 0,011* | 0,128 ± 0,010* |
| Препарат + опромінення 4,0 Гр | 11 | 0,092 ± 0,006 | 0,093 ± 0,009 | 0,097 ± 0,010 | 0,099 ± 0,010 | 0,096 ± 0,009 | 0,095 ± 0,008 |
| Препарат + опромінення 6,2 Гр | 10 | 0,098 ± 0,010 | 0,107 ± 0,013 | 0,105 ± 0,012** | 0,102 ± 0,009** | 0,101 ± 0,009** | 0,091 ± 0,009** |

Примітки. Тут і далі: вірогідно при порівнянні: * — групи з контролем, ** — групи «препарат + опромінення» з групою «опромінення»; $p \leq 0,05$.

Вплив препарату «Есмін» на активність Cu/ZnСОД у крові й органах щурів у різні періоди після одноразового загального зовнішнього ікс-опромінення у дозі 4,0 і 6,2 Гр ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)
Influence of Esmín on Cu/ZnSOD activity in the blood and organs of the rats at various terms after single total external x-ray exposure at a dose of 4.0 and 6.2 Gy ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)

| Група | n | Термін дослідження, доба | | | | | |
|----------------------------------|----|--------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | | 3 | 7 | 14 | 30 | 90 | 180 |
| Cu/ZnСОД крові, ум.од./мл плазми | | | | | | | |
| Контроль | 8 | 153,1 ± 7,1 | 152,9 ± 10,7 | 156,4 ± 11,3 | 148,1 ± 8,7 | 165,0 ± 11,1 | 150,1 ± 5,7 |
| Опромінення 4,0 Гр | 9 | 103,0 ± 7,0* | 119,2 ± 9,9* | 110,0 ± 10,4* | 144,0 ± 14,2 | 118,5 ± 9,7* | 128,0 ± 15,1 |
| Опромінення 6,2 Гр | 9 | 96,7 ± 9,6* | 104,4 ± 11,2* | 106,9 ± 13,6* | 120,4 ± 8,1* | 124,6 ± 11,6* | 127,5 ± 11,1 |
| Препарат + опромінення 4,0 Гр | 11 | 174,2 ± 12,4** | 176,2 ± 18,2** | 177,2 ± 13,2** | 163,4 ± 15,4** | 156,2 ± 14,8 | 148,6 ± 9,8 |
| Препарат + опромінення 6,2 Гр | 10 | 172,1 ± 13,8** | 172,8 ± 18,7** | 172,4 ± 21,0** | 158,7 ± 12,8** | 152,2 ± 15,4 | 152,4 ± 11,8 |
| Cu/ZnСОД легені, ум.од./мг білка | | | | | | | |
| Контроль | 8 | 382,2 ± 23,9 | 378,1 ± 27,9 | 359,3 ± 21,8 | 334,4 ± 22,8 | 313,2 ± 19,3 | 315,7 ± 18,4 |
| Опромінення 4,0 Гр | 9 | 337,5 ± 22,6 | 292,8 ± 28,4* | 305,2 ± 22,1 | 314,1 ± 25,3 | 308,1 ± 24,4 | 319,5 ± 21,6 |
| Опромінення 6,2 Гр | 9 | 321,1 ± 22,5 | 272,6 ± 32,3* | 292,4 ± 22,4* | 300,3 ± 22,6 | 252,3 ± 20,2* | 247,3 ± 19,4* |
| Препарат + опромінення 4,0 Гр | 11 | 429,7 ± 26,5** | 417,1 ± 33,7** | 405,0 ± 27,7** | 357,2 ± 27,5 | 325,8 ± 22,9 | 311,8 ± 21,8 |
| Препарат + опромінення 6,2 Гр | 10 | 423,8 ± 29,0** | 409,2 ± 35,2** | 411,9 ± 27,4** | 345,0 ± 28,4 | 319,6 ± 18,8** | 310,2 ± 22,1** |
| Cu/ZnСОД шкіри, ум.од./мг білка | | | | | | | |
| Контроль | 8 | 589,3 ± 25,3 | 597,2 ± 25,0 | 583,6 ± 36,7 | 552,6 ± 30,8 | 525,8 ± 39,5 | 501,4 ± 33,0 |
| Опромінення 4,0 Гр | 9 | 459,5 ± 22,9* | 541,9 ± 30,1 | 548,6 ± 36,9 | 508,1 ± 35,9 | 462,6 ± 35,9 | 411,9 ± 37,2 |
| Опромінення 6,2 Гр | 9 | 451,6 ± 34,1* | 462,6 ± 35,9* | 497,7 ± 35,7 | 471,9 ± 33,9 | 418,4 ± 30,7* | 403,1 ± 29,3* |
| Препарат + опромінення 4,0 Гр | 11 | 533,0 ± 25,5** | 568,6 ± 31,9 | 606,5 ± 35,6 | 559,7 ± 32,5 | 531,5 ± 29,8 | 498,5 ± 30,1 |
| Препарат + опромінення 6,2 Гр | 10 | 546,4 ± 31,2** | 559,8 ± 33,4 | 589,4 ± 34,2 | 569,8 ± 31,8** | 506,2 ± 34,7 | 487,4 ± 32,8 |

органах опромінених тварин, внаслідок чого встановлені зміни активності ферментів у легенях та шкірі в ранні терміни після опромінювання мали різноспрямований характер. Як видно з наведених даних, на 7-му добу у легенях активність Cu/ZnСОД вірогідно знижувалася більш ніж на 25 % та активність КТ зростала в 1,4 і 1,6 разу, тоді як у шкірі в ці періоди активність обох ферментів вірогідно зменшувалася у тварин, опромінених у дозі 6,2 Гр. У віддалені терміни, на 90-ту і 180-ту добу, активність обох ферментів залишалася вірогідно зниженою водночас у легенях і шкірі при дозі 6,2 Гр, що свідчило про виснаження цієї ферментативної ланки антиоксидантного захисту при опроміненні в більшій дозі.

Крім того, у ранньому періоді, на 7-му і 14-ту добу, активність SeГПО у крові знижувалася майже у 2 рази в обох групах опромінених тварин, на 3-тю і 7-му добу в легенях — в 1,2 і 1,3 разу, на 3-тю добу у шкірі — в 1,4 і 1,6 разу, але у більш пізні

терміни активність ферменту вірогідно змінювалася в тварин, опромінених у дозі 6,2 Гр (таблиця 4). Навпаки, встановлені у віддаленому періоді зміни з боку SeГПО були протилежні тим, які мали місце в ранні терміни після опромінення. Відповідно на 90-ту добу активність ферменту у крові вірогідно зростала в 1,3 і 1,4 разу та в легенях — в 1,2 разу, у шкірі — в 1,3 разу у тварин, опромінених у дозі 6,2 Гр. Разом з цим, починаючи з 30-ї доби, вміст ендogenous GSH у крові та органах опромінених щурів знижувався практично на 20 % порівняно з відповідним контролем (таблиця 5).

Отже, встановлені зміни основних компонентів АОС залежали від часу після опромінювання і мали деякі тканинні особливості, але характеризували стан пролонгованого ОС і свідчили про стійке зниження активності захисних АОС в організмі щурів у відповідь на одноразову дію зовнішнього ікс-опромінення у дозах 4,0 і 6,2 Гр. При

Вплив препарату «Есмін» на активність каталази у крові й органах щурів у різні терміни після одноразового загального зовнішнього ікс-опромінення у дозі 4,0 і 6,2 Гр ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)
Influence of Esmine on CT activity in the blood and organs of the rats at various terms after single total external x-ray exposure at a dose of 4.0 and 6.2 Gy ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)

| Група | n | Термін дослідження, доба | | | | | |
|--|----|--------------------------|---------------|--------------|----------------|----------------|----------------|
| | | 3 | 7 | 14 | 30 | 90 | 180 |
| КТ крові, мкмоль O ₂ / (хв·мл плазми) | | | | | | | |
| Контроль | 8 | 169,6 ± 17,2 | 166,5 ± 16,5 | 167,3 ± 16,3 | 179,1 ± 16,7 | 173,8 ± 17,1 | 175,3 ± 16,0 |
| Опромінення 4,0 Гр | 9 | 229,7 ± 21,2* | 215,9 ± 17,1 | 181,7 ± 16,1 | 143,9 ± 15,9 | 137,1 ± 15,9 | 134,1 ± 13,8 |
| Опромінення 6,2 Гр | 9 | 274,4 ± 20,1* | 221,0 ± 18,4* | 206,2 ± 17,2 | 129,9 ± 15,7* | 125,8 ± 13,9* | 127,5 ± 13,1* |
| Препарат + опромінення 4,0 Гр | 11 | 202,5 ± 15,4 | 178,6 ± 15,0 | 176,8 ± 17,3 | 172,8 ± 16,1 | 172,4 ± 15,2 | 168,2 ± 15,8 |
| Препарат + опромінення 6,2 Гр | 10 | 192,8 ± 18,2 | 183,8 ± 16,1 | 184,1 ± 17,8 | 177,3 ± 15,4** | 176,1 ± 16,5** | 171,4 ± 15,7** |
| КТ легені, мкмоль O ₂ / (хв·мг тканини) | | | | | | | |
| Контроль | 8 | 10,4 ± 1,0 | 10,8 ± 0,9 | 10,9 ± 1,1 | 11,0 ± 1,2 | 10,9 ± 0,9 | 10,8 ± 0,9 |
| Опромінення 4,0 Гр | 9 | 14,8 ± 1,2 | 15,3 ± 1,3* | 12,1 ± 0,8 | 12,9 ± 0,9 | 9,2 ± 0,7 | 8,9 ± 0,7 |
| Опромінення 6,2 Гр | 9 | 15,1 ± 1,4* | 16,9 ± 1,5* | 13,6 ± 1,2 | 13,2 ± 1,0 | 8,5 ± 0,7* | 8,2 ± 0,8* |
| Препарат + опромінення 4,0 Гр | 11 | 10,8 ± 1,2 | 11,6 ± 1,4 | 11,6 ± 1,1 | 11,2 ± 1,4 | 10,1 ± 0,9 | 10,0 ± 0,6 |
| Препарат + опромінення 6,2 Гр | 10 | 11,2 ± 1,3 | 11,0 ± 1,2** | 11,8 ± 1,2 | 11,4 ± 1,3 | 10,8 ± 0,8** | 10,5 ± 0,7** |
| КТ шкіри, мкмоль O ₂ / (хв·мг тканини) | | | | | | | |
| Контроль | 8 | 17,4 ± 1,5 | 17,9 ± 1,4 | 17,5 ± 1,3 | 17,6 ± 1,8 | 17,4 ± 1,3 | 16,9 ± 1,2 |
| Опромінення 4,0 Гр | 9 | 17,8 ± 1,3 | 15,1 ± 0,8 | 15,2 ± 0,9 | 14,5 ± 0,8 | 13,6 ± 1,4* | 12,2 ± 1,1* |
| Опромінення 6,2 Гр | 9 | 19,6 ± 1,9 | 13,7 ± 0,9* | 12,8 ± 1,4* | 13,3 ± 0,9* | 12,8 ± 0,8* | 11,9 ± 0,7* |
| Препарат + опромінення 4,0 Гр | 11 | 18,2 ± 1,3 | 17,8 ± 1,2 | 17,2 ± 1,5 | 17,2 ± 0,9** | 17,0 ± 1,5** | 16,8 ± 1,2** |
| Препарат + опромінення 6,2 Гр | 10 | 18,8 ± 1,8 | 17,4 ± 1,4** | 17,9 ± 1,7** | 17,4 ± 1,1** | 17,2 ± 1,0 | 17,1 ± 0,9** |

цьому збільшення дози опромінення супроводжувалося дещо суттєвішими ефектами порівняно із змінами у контролі, але чіткої залежності «доза–ефект» з боку зазначених показників не простежувалося.

Вивчення активності есміну за цих умов радіаційного впливу виявило його ефективність у запобіганні порушенням окисного гомеостазу в опроміненних тварин. Як випливає з даних таблиці 1, під впливом препарату на 14-ту добу вміст ТБК-АП у крові вірогідно зменшувався в 1,3 і 1,4 разу порівняно з таким у групах лише опроміненних тварин та у наступні терміни спостережень нормалізувався до рівня, зареєстрованого в інтактних щурів. У разі використання есміну за розробленою схемою вміст ТБК-АП в органах, опроміненних у дозі 4,0 Гр, практично не відрізнявся від контрольних величин та вмісту у тварин, опроміненних у дозі 6,2 Гр. Протекторний ефект препарату полягав у зменшенні утво-

рення кінцевих ТБК-АП порівняно з таким у тварин опроміненого контролю: на 3-тю добу у легенях — в 1,3 разу, на 14-ту добу у шкірі — в 1,5 разу й у нормалізації цього показника в подальші терміни досліджень.

Встановлений захисний ефект есміну проявлявся також у збереженні активності основних ферментів АОС у крові та органах щурів у ранні та віддалені терміни після опромінення. Як видно з даних, наведених у таблиці 2, під впливом препарату активність Cu/ZnСОД у крові на 3-тю добу вірогідно зростала в 1,7 і 1,8 разу, у легенях — в 1,2 і 1,3 разу та у шкірі — в 1,2 разу при обох дозах опромінення. Препарат запобігав виснаженню активності ферменту на 90-ту і 180-ту добу дослідів. Вірогідні зміни відбувалися у легенях тварин, опроміненних у дозі 6,2 Гр.

Також захисна дія препарату реалізувалася у нормалізації активності КТ та запобіганні її зниженню в крові й органах тварин порівняно з

Вплив препарату «Есмін» на активність Se-ГПО у крові та органах щурів у різні терміни після одноразового загального зовнішнього ікс-опромінення у дозі 4,0 і 6,2 Гр ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)
Influence of Esmine on Se-GPO activity in the blood and organs of the rats at various terms after single total external x-ray exposure at a dose of 4.0 and 6.2 Gy ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)

| Група | n | Термін дослідження, доба | | | | | |
|---|----|--------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | | 3 | 7 | 14 | 30 | 90 | 180 |
| Se-ГПО крові, ммоль NADPH/ (хв-мл плазми) | | | | | | | |
| Контроль | 8 | 2,57 ± 0,19 | 2,45 ± 0,22 | 2,61 ± 0,23 | 2,38 ± 0,21 | 2,27 ± 0,20 | 2,31 ± 0,21 |
| Опромінення 4,0 Гр | 9 | 2,01 ± 0,21 | 1,59 ± 0,20* | 1,48 ± 0,21* | 1,79 ± 0,20 | 3,04 ± 0,23* | 2,96 ± 0,27 |
| Опромінення 6,2 Гр | 9 | 1,91 ± 0,17* | 1,43 ± 0,19* | 1,51 ± 0,21* | 1,67 ± 0,21* | 3,17 ± 0,25* | 3,01 ± 0,29* |
| Препарат + опромінення 4,0 Гр | 11 | 2,29 ± 0,24 | 2,21 ± 0,25 | 2,24 ± 0,26** | 2,52 ± 0,22** | 2,39 ± 0,21 | 2,34 ± 0,25 |
| Препарат + опромінення 6,2 Гр | 10 | 2,03 ± 0,21 | 2,26 ± 0,29** | 2,39 ± 0,25** | 2,47 ± 0,23** | 2,21 ± 0,27** | 2,19 ± 0,26** |
| Se-ГПО легені, ммоль NADPH/ (хв-мг білка) | | | | | | | |
| Контроль | 8 | 529,6 ± 32,4 | 525,8 ± 33,6 | 520,5 ± 31,7 | 522,8 ± 32,1 | 512,3 ± 33,5 | 510,8 ± 32,8 |
| Опромінення 4,0 Гр | 9 | 432,4 ± 33,2* | 417,3 ± 35,8* | 429,3 ± 33,6 | 435,5 ± 33,4 | 589,1 ± 34,4 | 557,9 ± 30,7 |
| Опромінення 6,2 Гр | 9 | 428,1 ± 31,3* | 421,8 ± 35,1* | 400,1 ± 34,9* | 421,2 ± 38,3 | 617,4 ± 35,2* | 598,4 ± 32,9 |
| Препарат + опромінення 4,0 Гр | 11 | 531,2 ± 32,7** | 542,3 ± 42,9** | 537,2 ± 39,4 | 519,4 ± 33,1 | 515,7 ± 33,7 | 509,7 ± 34,8 |
| Препарат + опромінення 6,2 Гр | 10 | 527,8 ± 33,8** | 529,1 ± 41,1 | 516,4 ± 40,1** | 512,1 ± 39,1 | 518,9 ± 32,1** | 501,5 ± 29,1** |
| Se-ГПО шкіри, ммоль NADPH/ (хв-мг білка) | | | | | | | |
| Контроль | 8 | 161,4 ± 15,2 | 159,2 ± 16,7 | 157,6 ± 13,1 | 154,1 ± 13,2 | 157,2 ± 13,9 | 156,6 ± 15,1 |
| Опромінення 4,0 Гр | 9 | 109,2 ± 14,4* | 120,8 ± 13,1 | 121,3 ± 12,3 | 125,8 ± 12,1 | 172,6 ± 14,7 | 172,9 ± 16,8 |
| Опромінення 6,2 Гр | 9 | 97,4 ± 14,1* | 83,4 ± 11,8* | 101,4 ± 12,6* | 109,6 ± 10,7* | 198,4 ± 15,0 | 201,3 ± 17,9* |
| Препарат + опромінення 4,0 Гр | 11 | 132,8 ± 15,7 | 142,4 ± 15,4 | 150,8 ± 11,9 | 157,4 ± 12,9 | 159,3 ± 13,4 | 154,7 ± 15,8 |
| Препарат + опромінення 6,2 Гр | 10 | 129,1 ± 14,3 | 138,1 ± 19,5** | 144,7 ± 13,4** | 155,1 ± 13,8** | 153,5 ± 14,1** | 152,4 ± 14,3** |

опроміненними практично протягом усього періоду спостережень (див. таблицю 3).

З іншого боку, позитивний вплив есміну проявлявся у попередженні порушень глутатіонзалежної ланки АОС порівняно з її станом у групах лише опромінених тварин. Згідно з даними, наведеними у таблиці 4, при введенні препарату під час опромінення активність SeГПО у крові на 14-ту добу вірогідно зростала в 1,4 і 1,6 разу, у легенях на 3-тю добу — в 1,2 разу, у шкірі на 7-му добу — відповідно в 1,2 і 1,7 разу та в більш пізні терміни зберігалася практично на рівні контрольних величин. Крім того, у разі використання препарату вміст ГSH у крові та органах щурів на 90-ту добу і наприкінці дослідів був вірогідно більшим, ніж у опромінених, та практично не відрізнявся від значень показника в інтактних тварин (див. таблицю 5).

Таким чином, одержані результати переконливо вказують на виражені антиоксидантні власти-

вості есміну за умов порушень про-антиоксидантного гомеостазу, викликаних впливом одноразового зовнішнього ікс-опромінення у дозах 4,0 і 6,2 Гр. Встановлена антиоксидантна активність препарату проявлялася зниженням продукції кінцевих ТБК-АП та перешкоджанням надмірному виснаженню ендогенних АОС, насамперед збереженням активності Cu/ZnСОД і КТ, що в сукупності утворюють основну скоординовану систему ензиматичного АО-захисту в умовах опромінення. Встановлена у ранньому періоді після радіаційного впливу висока ефективність есміну зберігалася також і в пізніші терміни, що проявлялося підвищенням активності SeГПО, підтриманням балансу у системі синтезу та витрачання ендогенного ГSH у крові й органах опромінених щурів. На нашу думку, вирішальною у механізмах виявлених ефектів есміну є його здатність брати участь у реакціях оксигеназного і каталазного типу завдяки особливості хімічної будови

Вплив препарату «Есмін» на вміст ГSH у крові та органах щурів у різні терміни після одноразового загального зовнішнього ікс-опромінення у дозах 4,0 і 6,2 Гр ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)
Influence of Esmin on GSH amount in the blood and organs of the rats at various terms after single total external x-ray exposure at a dose of 4.0 and 6.2 Gy ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)

| Група | n | Термін дослідження, доба | | | | | |
|-------------------------------|----|--------------------------|---------------|---------------|----------------|----------------|--------------|
| | | 3 | 7 | 14 | 30 | 90 | 180 |
| ГSH крові, мкмоль/мл плазми | | | | | | | |
| Контроль | 8 | 157,6 ± 7,8 | 151,4 ± 8,2 | 153,9 ± 7,5 | 165,8 ± 7,0 | 158,9 ± 7,9 | 161,4 ± 8,1 |
| Опромінення 4,0 Гр | 9 | 149,7 ± 7,4 | 153,9 ± 6,2 | 156,3 ± 7,3 | 151,9 ± 8,3 | 135,1 ± 9,3 | 141,2 ± 9,1 |
| Опромінення 6,2 Гр | 9 | 152,3 ± 8,7 | 155,6 ± 8,2 | 162,6 ± 8,4 | 143,3 ± 7,3* | 132,7 ± 8,2* | 137,3 ± 9,9 |
| Препарат + опромінення 4,0 Гр | 11 | 168,2 ± 8,3 | 164,5 ± 7,6 | 172,8 ± 11,8 | 171,2 ± 11,1 | 169,9 ± 13,0** | 163,2 ± 13,2 |
| Препарат + опромінення 6,2 Гр | 10 | 165,4 ± 8,8 | 162,8 ± 8,1 | 177,4 ± 15,1 | 176,8 ± 13,3** | 165,1 ± 12,3** | 160,8 ± 10,5 |
| ГSH легені, нмоль/мг білка | | | | | | | |
| Контроль | 8 | 15,8 ± 1,1 | 15,5 ± 1,2 | 15,9 ± 1,1 | 15,1 ± 0,9 | 15,0 ± 1,0 | 13,5 ± 0,7 |
| Опромінення 4,0 Гр | 9 | 15,3 ± 1,6 | 15,2 ± 2,1 | 14,2 ± 1,6 | 13,6 ± 1,4 | 12,2 ± 0,9* | 12,0 ± 0,9 |
| Опромінення 6,2 Гр | 9 | 14,7 ± 1,5 | 14,9 ± 1,6 | 13,9 ± 1,9 | 12,1 ± 0,9* | 11,4 ± 0,8* | 10,3 ± 0,8* |
| Препарат + опромінення 4,0 Гр | 11 | 16,9 ± 1,4 | 16,4 ± 2,0 | 16,1 ± 1,7 | 16,2 ± 1,2 | 15,6 ± 1,1** | 14,1 ± 1,0 |
| Препарат + опромінення 6,2 Гр | 10 | 17,1 ± 1,5 | 16,2 ± 1,7 | 16,3 ± 1,8 | 16,4 ± 1,3** | 14,8 ± 1,2** | 13,2 ± 0,9** |
| ГSH шкіри, нмоль/мг білка | | | | | | | |
| Контроль | 8 | 2,78 ± 0,13 | 2,82 ± 0,18 | 2,52 ± 0,19 | 2,57 ± 0,21 | 2,64 ± 0,14 | 2,58 ± 0,14 |
| Опромінення 4,0 Гр | 9 | 2,69 ± 0,18 | 2,67 ± 0,19 | 2,56 ± 0,18 | 2,28 ± 0,14 | 2,17 ± 0,14* | 2,27 ± 0,15 |
| Опромінення 6,2 Гр | 9 | 2,52 ± 0,17 | 2,39 ± 0,21 | 2,21 ± 0,13 | 2,31 ± 0,13 | 2,10 ± 0,18* | 2,09 ± 0,17* |
| Препарат + опромінення 4,0 Гр | 11 | 3,01 ± 0,19 | 3,06 ± 0,17 | 3,09 ± 0,17** | 3,03 ± 0,20** | 2,79 ± 0,19** | 2,54 ± 0,16 |
| Препарат + опромінення 6,2 Гр | 10 | 3,09 ± 0,16** | 3,11 ± 0,15** | 3,07 ± 0,16** | 3,01 ± 0,21** | 2,61 ± 0,11** | 2,51 ± 0,19 |

препарату та можливості димерних (M^{2+}) і тримерних (M^{3+}) оксокластерів біометалів у складі їх координаційних сполук з органічними лігандами структурно і функціонально імітувати дію ферментів, до активних центрів яких входять Fe, Cu, Zn, Se, Mn та інше [22]. Безумовно, важливе значення у ході проведених досліджень мали низька токсичність і висока біологічна доступність препарату «Есмін», що створювало умови для його багаторазового уведення не тільки перед початком опромінювання, але й протягом тривалого часу після радіаційного впливу. Отже, одержані дані свідчать про відповідність препарату одній з найважливіших вимог, які висуваються до протекторних засобів нового типу: його можливо тривало використовувати без проявів токсичності при ефективності есміну в коригуванні порушень про-антиоксидантного гомеостазу під час опромінення.

Висновки

1. Встановлено виражені антиоксидантні властивості препарату «Есмін» за нормалізацією показників вмісту ТБК-АП, активності Cu/ZnСОД, КТ і SeГПО та рівня ендogenous ГSH у крові, легенях і шкірі щурів у ранні і віддалені терміни після загального зовнішнього ікс-опромінення у дозах 4,0 і 6,2 Гр.

2. Ефективним є застосування есміну для запобігання розвитку пролонгованого ОС та з метою нормалізації порушення окисного гомеостазу під час гострого радіаційного впливу.

Література

1. Абрамова Л. П., Бобильова О. О., Сімонова Л. І. // УРЖ. – 2005. – Т. XIII, вип. 1. – С. 73–78.
2. Барабой В. А., Сутковой Д. А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и при патологии / Под ред. Ю. А. Зозули. – К.: Чернобыльинтеринформ, 1997. – 420 с.

3. Вплив радіаційного фактора Чорнобильської зони відчуження на організм тварин / За ред. Я. І. Серкіза, М. Ю. Алексиній. – К.: Атака, 2006. – 320 с.
4. Овсяннікова Л. М., Альохіна С. М., Дробинська О. В. та ін. Порушення окисного гомеостазу у віддаленій період після Чорнобильської аварії. Засоби корекції. – К., 2001. – 53 с.
5. Узленкова Н.Е. Роль антиоксидативного стресса в механізмах старення колагена в органах облученных крыс // Биологические механизмы старения: Матер. VIII междунар. симпоз., (Харьков, 24–28 мая 2008 г.,) – Харьков, 2008. – С. 72.
6. Узленкова Н.Е. // УРЖ. – 2009. – Т. XVII, вип. 1. – С. 57–64.
7. Васин М.В. Противолучевые лекарственные средства. – М., 2010. – 180 с.
8. Greenrod W., Fenech M. // *Mutagen.* – 2003. – Vol. 18, № 2. – P. 119–126.
9. Held K.D., Biaglov I.E. // *Radiat. Res.* – 2004. – Vol. 141, № 1. – P. 15–23.
10. Карпов Л.М., Броун И.И., Полтавцева Н.В. и др. // Радиобиол. Радиоэкол. – 2000. – Т. 40, № 3. – С. 310–314.
11. Барабой В.А., Горчакова Н.О., Олійник С.А., Хмелевський Ю.В. // УРЖ. – 1994. – Т. II, вип. 1. – С. 3–22.
12. El-Habit O.H., Saada H.N., Azab K.S. et al. // *Mutat. Res.* – 2000. – Vol. 466. – P. 179–186.
13. Londer H.M., Myers C.E. // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2001. – Vol. 31. – P. 705a.
14. Mutlu-Turkoglu U., Erbil J., Oztezcan S. et al. // *Life Sci.* – 2000. – Vol. 66. – P. 1905–1913.
15. Jagetia G.G., Rajanikant G.K., Rao S.K. et al. // *Clin. Chim. Acta.* – 2003. – Vol. 332, № 1 – 2. – P. 111–121.
16. Копорачка М., Pieszowska-Wolny I. // *Mutat. Res.* – 2001. – Vol. 491, № 1. – 2. – P. 1–7.
17. Harapanhalli R.S., Jaghtmai V., Giuliani D. et al. // *Res. Commun. Vol. Pathol. Pharmacol.* – 2001. – Vol. 99. – P. 371–387.
18. Narra V.R., Harapanhalli R.S., Howell R.W. et al. // *Radiat. Res.* – 2004. – Vol. 237. – P. 494–499.
19. Барабой В.А. Биоантиоксиданты. – К.: Книга плюс, 2006. – 426 с.
20. Blumenthel R.D., Lew W., Reising A. et al. // *Int. J. Cancer.* – 2000. – Vol. 86. – P. 276–280.
21. Weiss I.F., Landauer M.R. // *Am. N.J. Acad. Sci.* – 2000. – Vol. 899. – P. 44–60.
22. Григор'єва Г.С., Конахович Н.Ф., Кирилик Л.М. та ін. // *Соврем. пробл. токсикол.* – 1998. – №1. – С. 21–23.
23. Пат. 14351 України, МПК А61К 31/78. Спосіб профілактики та лікування пізніх радіаційно-індукованих пневмофіброзів / Узленкова Н.Е., Мамотюк Є.М., Кононенко О.К., Гусакова В.А.; заявник і патентовласник ДУ «Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва НАМН України». – № 200510523; заявл. 07.11.05; опубл. 15.05.2006, Бюл. № 5. – 4 с.
24. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Современные методы в биохимии. – М., 1977. – С. 66–68.
25. Misra H.P., Fridovich J. // *J. Biol. Chem.* – 1972. – Vol. 247, № 10. – P. 3170–3175.
26. Королюк М.А., Иванов Л.К., Майорова И.Г., Токарев В.Е. // *Лаб. дело.* – 1988. – № 1. – С. 16–19.
27. Wendel A. *Glutathion peroxidase* // *Methods in enzymology* / Ed. N. Caplan. – New York: J. Wiley, 1981. – Vol. 77. – P. 217–229.
28. Путилина Ф.Е. Методы биохимических исследований. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1982. – С. 183–186.

Надходження до редакції 23.01.2013.

Прийнято 13.02.2013.

Адреса для листування:
 Узленкова Наталія Євгенівна,
 ДУ Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва
 НАМН України,
 вул. Пушкінська, 82, Харків, 61024, Україна