

УДК 614.876-085.27:612.08

НАТАЛІЯ ЄВГЕНІВНА УЗЛЕНКОВА, НАТАЛІЯ ГРИГОРІВНА СКОРОБОГАТОВА,
ІВАН ЮРІЙОВИЧ МАГДА, ІРИНА ОЛЕКСАНДРІВНА ЛЕОНОВА,
ОЛЕНА ВІКТОРІВНА НЕНЮКОВА, ОЛЕНА ЛЕОНІДІВНА МАСЛЕННІКОВА

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

ЕФЕКТИВНІСТЬ S-ГЕТЕРИЛМОДИФІКОВАНОГО ЦИСТЕАМІНУ ПРИ ГОСТРОМУ РАДІАЦІЙНОМУ СИНДРОМІ У ЩУРІВ

Мета роботи. Вивчити в експерименті радіозахисну ефективність сполуки S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл)-цистеаміну при моделюванні гострого радіаційного синдрому у щурів.

Матеріали і методи. Досліди виконували на статевозрілих білих щурах-самках, яких піддавали впливу короткочасного тотального опромінення на лінійному прискорювачі 6MV CLINAC у поглиненій дозі 8,2 Гр. Досліджувану сполуку вводили у дозі 150 мг/кг за 15–30 хв до опромінювання.

Результати. Виявлений радіозахисний ефект реалізувався у зниженні летальності, запобіганні радіаційно-індукованого апоптозу, збереженні загальної кількості життєздатних мієлокаріоцитів і колонієутворюючих мезенхімальних стромальних клітин кісткового мозку та зниженні радіаційної цитопенії.

Висновки. Встановлено високу радіопротекторну ефективність сполуки S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл)-цистеаміну щодо захисту гемопоетичної системи при розгортанні гострого радіаційного синдрому.

Ключові слова: S-гетерилмодифікований цистеамін, гострий радіаційний синдром, радіозахисна активність.

На сьогодні в Україні особливо високим залишається ризик виникнення надзвичайного становища радіаційної природи (терористичні й кримінальні акти зі застосуванням пристроїв типу «брудної бомби» у зоні АТО, радіаційні аварії на АЕС та промислових об'єктах та ін.). У зв'язку з цим нагальною потребою є створення ефективних засобів радіаційного захисту нового типу, призначених до застосування широкими масами населення для своєчасної профілактики несприятливих наслідків гострого впливу радіаційного фактора.

За сучасних умов до нового покоління радіопротекторів висуваються вимоги щодо розширення спектра їхньої радіозахисної активності, що є надто важливим у разі надзвичайного становища радіаційної природи та радіологічних катастроф [5–7].

З цього погляду особливо увагу привертає новий клас хімічних сполук, одержуваних шляхом S-гетерилмодифікації ендогенних тіолів (цистеїну, цистеаміну), які за попередніми дослідженнями показали перспективність застосування як потенційних радіопротекторів [1]. Слід зауважити, що основними труднощами при розробці засобів радіаційного захисту є неможливість проведення у повному обсязі клінічних випробувань, тому особливого значення набувають експериментальні дослідження, виконані на лабораторних тваринах [3, 4].

Метою проведеного дослідження було вивчення в експерименті радіозахисної ефективності сполуки

S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл)-цистеаміну на моделі гострого радіаційного синдрому у щурів.

МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕННЯ

Експериментальне моделювання гострого радіаційного синдрому (ГРС) проводили на статевозрілих щурах-самках з масою тіла 160–180 г, яких утримували за стандартних умов на звичайному раціоні віварію. Проведення експериментів з тваринами виконували під контролем Комітету з біоетики ДУ ІМР НАМН відповідно до внутрішнього протоколу, прийнятого на міжнародних принципах Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, використуваних для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1998) та норм біомедичної етики згідно із Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (21.02.2006 р.).

Експериментальне короткочасне гостре тотальне опромінення щурів здійснювали на лінійному прискорювачі 6MV CLINAC у плексигласових клітках розміром 15 × 15 см і висотою 7,5 см з поглиненою дозою 8,2 Гр.

Класифікацію ступеня тяжкості ГРС проводили за оцінкою частоти виникнення (%), термінів початку (д) і часу перебігу (д) симптоматики кишкового і гемопоетичного синдромів на підставі розробленої в лабораторії методики (затверджено Вченою радою ДУ ІМР НАМН, протокол № 1 від 17.01.2012 р.).

Досліджувану сполуку S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл)-цистеамін вводили внутрішньоочеревинно у дозі 150 мг/кг (1 мл на ін'єкцію) у режимі

© Н. Є. Узленкова, Н. Г. Скоробогатова, І. Ю. Магда,
І. О. Леонова, О. В. Ненюкова, О. Л. Масленнікова, 2017

радіопротектора за 15–30 хв до тотального опромінення. Тварин розподіляли по групах так: 1 — інтактний контроль; 2 — тварини, яких опромінювали у дозі 8,2 Гр (контроль опромінення); 3 — тварини, які отримували досліджувану сполуку з наступним опроміненням у дозі 8,2 Гр.

Радіопротекторну ефективність S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл)-цистеаміну оцінювали за показниками летальності (%) тварин протягом 30 д спостережень, середньої тривалості життя (СТЖ, д) та медіани (Me, д) загибелі, а також за часовою характеристикою загибелі тварин у певні періоди розгортання клінічної симптоматики ГРС.

Індекс летальності (ІЛ, %/д) розраховували за співвідношенням середньогрупової летальності (%) у групах до середньогрупової тривалості життя тварин, що загинули (д).

Гематологічні дослідження виконували на автоматичному гематологічному аналізаторі RT-7600 (Китай).

Оцінку апоптичної активності клітин (ААК) кісткового мозку (КМ) виконували за методом флуоресцентної мікроскопії зі зв'язування акридинового оранжевого (АО) у кінцевій концентрації 10 мкг/мл протягом 1–2 хв. Флуоресцентну мікроскопію проводили на мікроскопі Leica 6000В (Німеччина). Клітини оцінювали за збільшенням $\times 350$ у 25 полях зору, що розподілялися рандомізовано послідовно з інтервалом 2 мкм. Підраховували від 15 до 25 клітин у полі зору з тим, щоб досягти не менш ніж 150 клітин, та розраховували відсоток клітин з типовими ознаками апоптозу: 1 — життєздатні клітини, в яких АО викликає дифузну зелену флуоресценцію; 2 — клітини на початковому етапі апоптозу з конденсованим хроматином і з зелено-оранжевим ядром (апоптична ДНК); 3 — некротичні клітини з червоним світінням ядра. Результати виражалися у вигляді відсотка певного типу клітин до загальної кількості клітин, що були досліджені.

Оцінку впливу S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл)-цистеаміну на стромальний компоненту КМ проводили методом культивування *in vitro* мезенхімальних стромальних клітин (МСК) КМ в умовах стерильного боксу. Прижиттєвий контроль за культурами здійснювали за допомогою інвертованого світлового мікроскопа Leica DM IL LED (Німеччина) з використанням окуляра $10 \times$ та об'єктивів $10 \times$ і $20 \times$. Культивування здійснювали протягом 12–14 д. Постійні препарати забарвлювали азур-еозином за Романовським. У препаратах культур проводили оцінку кількості колонієутворюючих МСК та ефективність колонієутворення (ЕКУ) МСК [2].

При статистичній обробці даних використовували точний метод Фішера, критерій Манна–Уїтні та t-критерій Стьюдента за допомогою пакета програм Biostatistica, v.4.03.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як видно з даних, наведених у табл. 1, у рамках використаної моделі ГРС летальність щурів складала 94,2 % з величиною СТЖ для загиблих тварин

($8,5 \pm 0,7$) д та з Me загибелі на 7 д після опромінення. Індекс летальності (ІЛ) у групах опромінених щурів дорівнював 11,2 %/д.

Від досліджуваної сполуки S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл)-цистеаміну при уведенні у дозі 150 мг/кг за 15–30 хв до опромінення отримали значний радіопротекторний ефект щодо зниження летальності опромінених тварин до 23,3 %, практично в 4,1 разу. Величина СТЖ для загиблих тварин з уведенням S-гетерилмодифікованого цистеаміну зростала до ($8,5 \pm 1,0$) д з Me загибелі на 7 д після опромінення. Водночас ІЛ дорівнював лише 3,6 %/д, що було у 3,1 разу нижче, ніж в опроміненому контролі.

При впливі S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл)-цистеаміну простежувалися розходження у темпах загибелі щурів у певні часові періоди розгортання ГРС (табл. 2). Згідно з отриманими даними, рання загибель щурів у період з 1 до 5 д розгортання кишкової форми ГРС зменшувалася до 13,9 % проти 29,9 %, тобто в 1,9 разу. При цьому частота виникнення кишкового синдрому знижувалася у 3,7 разу ($p = 0,01$), тобто діарея визначалася лише у 19,0 % тварин порівняно з 71,1 % в опроміненому контролі. Крім того, у групах піддослідних тварин усереднені терміни початку клінічних проявів діареї вірогідно подовжувалися до ($2,1 \pm 0,3$) д ($p = 0,032$) та час перебігу скорочувався до ($3,7 \pm 0,1$) д порівняно з контролем.

Максимальний радіозахисний ефект сполуки S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл)-цистеаміну був встановлений у період виникнення гематологічних розладів при гемопоетичному синдромі (ГП-синдромі), що виражалось у найбільшому зниженні до 4,7 % загибелі щурів проти 42,3 % в опроміненому контролі.

У наших дослідах це узгоджувалося з даними щодо зниження ступеня лейкопенії та прискорення темпів відновлення абсолютної кількості клітин (АКК) лейкоцитів у периферичній крові опромінених тварин. Як видно з табл. 3, вже у початковий період з 1 до 4 д стійка лейкопенічна реакція визначалася у 42,1 % тварин за глибиною падіння лейкоцитів до АКК ($0,67 \pm 0,03$) $\cdot 10^9$ /л, що складало 8,63 % клітин від вихідного рівня. У гострий період, з 4 до 7 д, у 64,3 % тварин ступінь лейкопенії досягав найбільшої вираженості за АКК ($0,22 \pm 0,03$) $\cdot 10^9$ /л, а відносна кількість лейкоцитів не перевищувала 2,8 % від контрольного рівня.

Виявлена радіопротекторна активність S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл)-цистеаміну реалізувалася у значному зниженні ступеня радіаційної лейкопенії. На ранніх етапах гостре падіння лейкоцитів до АКК ($0,65 \pm 0,03$) $\cdot 10^9$ /л відбувалося лише у 19,0 % тварин та у 21,1 % тварин ступінь лейкопенії за АКК ($0,84 \pm 0,03$) $\cdot 10^9$ /л дорівнював 10,8 % клітин від вихідного рівня. При дії S-гетерилмодифікованого цистеаміну прискорення темпів відновлення лейкоцитів у 45,5 % тварин виражалось у зростанні АКК ($5,05 \pm 0,3$) $\cdot 10^9$ /л у період з 7 до 14 д, чого не відбувалося в опромінених тварин. Наприкінці дослідів повне відновлення кількості лейкоцитів за АКК ($7,6 \pm 0,4$) $\cdot 10^9$ /л спостерігалось у 77,8 % тварин, тоді

Таблиця 1

**Показники летальності та СТЖ щурів
на моделі ГРС при введенні S-гетерилмодифікованого цистеаміну**

Дослід	n	Летальність, % (n ₁)	p _{ТМФ}	СТЖ ($\bar{X} \pm S\bar{X}$) д	p _{Манна-Уїтні}	Me	ІЛ, %/д
O _{8,2}	52	94,2 (49)	–	6,5 ± 1,0	–	5,0	11,2
S-гетерил цистеамін	43	23,3 (10)	0,001	8,5 ± 0,7	0,124	7,0	3,6

Примітки. n₁ — кількість щурів, що загинули.

Таблиця 2

**Тимчасові характеристики летальності щурів на моделі ГРС
при введенні S-гетерилмодифікованого цистеаміну**

Показник	Період розгортання ГРС, д					
	0–5	6–9	10–12	13–15	16–20	21–30
O _{8,2}						
летальність, %	26,9	42,3	13,4	3,8	3,8	3,8
n ₁ (n)	14 (52)	22 (52)	7 (52)	2 (52)	2 (52)	2 (52)
S-гетерил цистеамін						
летальність, %	13,9	4,7	2,3	2,3	–	–
n ₁ (n)	6 (43)	2 (43)	1 (43)	1 (43)	–	–
p _{ТМФ}	0,138	0,001	0,068	1,000	–	–

Примітки: n — загальна кількість щурів; n₁ — кількість щурів, що загинули.

Таблиця 3

**Ступінь та частота виникнення лейкопенії на моделі ГРС у щурів
при введенні S-гетерилмодифікованого цистеаміну**

Показник	Ступінь лейкоцитопенії, АКК · 10 ⁹ /л				
	> 2,0	2,0–1,0	< 1,0	< 0,5	відновлення, > 4,5
Інтактні тварини (n = 20) (7,8 ± 0,3) · 10 ⁹ /л					
O _{8,2} (n = 19), 1–4 д					
1	21,1 (4)	15,7 (3)	42,1 (8)	10,5 (2)	–
S-гетерил цистеамін (n = 21), 1–4 д					
1	19,0 (4)	61,9 (13)	19,0 (4)	–	–
p _{ТМФ}	1,000	0,004	0,170	–	–
O _{8,2} (n = 17), 4–7 д					
1	7,1 (1)	17,6 (3)	29,4 (5)	47,1 (8)	–
S-гетерил цистеамін (n = 19), 4–7 д					
1	15,7 (3)	63,1 (12)	21,1 (4)	–	–
p _{ТМФ}	0,601	0,008	0,706	–	–
O _{8,2} (n = 12), 7–14 д					
1	33,3 (4)	41,7 (5)	25,0 (3)	–	–
S-гетерил цистеамін (n = 11), 7–14 д					
1	54,5 (6)	–	–	–	45,5 (5)
p _{ТМФ}	0,414	–	–	–	–
O _{8,2} (n = 13), 14–21 д					
1	46,7 (6)	30,7 (4)	–	–	23,1 (3)
S-гетерил цистеамін (n = 11), 14–21 д					
1	27,2 (3)	–	–	–	72,7 (8)
p _{ТМФ}	0,423	–	–	–	0,038
O _{8,2} (n = 11), 21–30 д					
1	27,3 (3)	–	–	–	61,5 (8)
S-гетерил цистеамін (n = 9), 21–30 д					
1	22,2 (2)	–	–	–	77,8 (7)
p _{ТМФ}	1,000	–	–	–	1,000

Примітки: 1 — частота виникнення, % (n₁), де n₁ — кількість тварин; p_{ТМФ} — вірогідність при порівнянні з опроміненим контролем.

як у 61,5 % опромінених тварин остаточне відновлення кількості лейкоцитів за АКК $(5,8 \pm 0,5) \cdot 10^9/\text{л}$ не перевищувало 71,7 % клітин від вихідного рівня.

Як свідчать дані, наведені в табл. 4, в ранні строки після опромінення у 80,0 % тварин кількість тромбоцитів за АКК $(753,3 \pm 26,6) \cdot 10^9/\text{л}$ не дуже відрізнялася від контролю. Але ж у гострий період розпаду ГП-синдрому, з 7 до 14 д, у всіх опромінених тварин відзначалася тромбоцитопенія різного ступеня тяжкості за АКК $(575,4 \pm 22,1) \cdot 10^9/\text{л}$ — у 18,7 % тварин, АКК $(343,7 \pm 34,9) \cdot 10^9/\text{л}$ — у 43,7 % тварин та найбільше зниження кількості тромбоцитів за АКК $(137,2 \pm 28,1) \cdot 10^9/\text{л}$ відбувалося у 37,5 % тварин, що відповідало 17,5 % клітин від контрольного рівня. Разом із цим, максимальне падіння рівня еритроцитів за АКК $(3,0 \pm 0,1) \cdot 10^{12}/\text{л}$ відбувалося у 27,4 % тварин, що відповідало 39,1 % клітин від вихідного рівня. На цьому фоні спостерігалася виражена анемія за рівнем гемоглобіну $(72,9 \pm 5,8) \cdot 10^9/\text{л}$ порівняно з $(148,5 \pm 4,2) \cdot 10^9/\text{л}$ в інтактному контролі (табл. 5).

Під впливом S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл)-цистеаміну ступінь тяжкості тромбоцитопенії

істотно знижувався. У гострий період максимальна глибина падіння тромбоцитів у 29,4 % тварин не перевищувала за АКК $(351,8 \pm 20,0) \cdot 10^9/\text{л}$. Прискорення темпів відновлення у терміни з 14 до 21 д приводило до нормалізації їхнього рівня за АКК $(790,5 \pm 29,2) \cdot 10^9/\text{л}$ у 21,4 % та наприкінці дослідів остаточне відновлення кількості тромбоцитів відбувалося в 76,9 % ($p = 0,021$) проти 28,5 % тварин в опроміненому контролі. При використанні S-гетерилмодифікованого цистеаміну зниження кількості еритроцитів у периферичній крові на усіх етапах було виражено у значно меншому ступені, ніж в опромінених тварин. За прискоренням темпів відновлення у період з 14 до 21 д у 57,1 % тварин показник АКК $(6,58 \pm 0,12) \cdot 10^{12}/\text{л}$ не знижувався нижче ніж 85,4 % від вихідного рівня клітин та наприкінці дослідів нормалізація рівня еритроцитів за АКК $(7,49 \pm 0,13) \cdot 10^{12}/\text{л}$ спостерігалася у 84,6 % тварин (табл. 5).

Отже, позитивний радіозахисний вплив сполуки S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл)-цистеаміну визначався у запобіганні виникненню вираженої лейкопенії і тромбоцитопенії та попередженню функціональних

Таблиця 4

Ступінь та частота виникнення тромбоцитопенії на моделі ГРС у щурів при введенні S-гетерилмодифікованого цистеаміну

Показник	Ступінь тромбоцитопенії, АКК $\cdot 10^9/\text{л}$				Відновлення, 650–750
	> 650	650–450	450–250	< 200	
Інтактні тварини (n = 25) $(781,4 \pm 25,1) \cdot 10^9/\text{л}$					
O _{8,2} (n = 19), 1–4 д					
1	68,4 (13)	26,3 (5)	5,3 (1)	–	–
S-гетерил цистеамін (n = 21), 1–4 д					
1	80,9 (17)	19,0 (4)	–	–	–
p _{ТМФ}	0,473	0,712	–	–	–
O _{8,2} (n = 17), 4–7 д					
1	17,6 (3)	47,3 (9)	15,7 (5)	–	–
S-гетерил цистеамін (n = 19), 4–7 д					
1	26,3 (5)	57,8 (11)	21,0 (3)	–	–
p _{ТМФ}	0,695	1,000	0,434	–	–
O _{8,2} (n = 16), 7–14 д					
1	–	18,7 (3)	43,7 (7)	37,5 (6)	–
S-гетерил цистеамін (n = 17), 7–14 д					
1	11,7 (2)	58,8 (10)	29,4 (5)	–	–
p _{ТМФ}	–	0,032	0,481	–	–
O _{8,2} (n = 12), 14–21 д					
1	–	16,7 (2)	41,6(5)	41,6(5)	–
S-гетерил цистеамін (n = 14), 14–21 д					
1	–	57,1 (7)	21,4 (3)	–	21,4 (3)
p _{ТМФ}	–	0,051	0,401	–	–
O _{8,2} (n = 14), 21–30 д					
1	–	35,7 (5)	35,7 (5)	–	28,5 (4)
S-гетерил цистеамін (n = 13), 21–30 д					
1	–	23,1 (3)	–	–	76,9 (10)
p _{ТМФ}	–	0,678	–	–	0,021

Примітки: 1 — частота виникнення, % (n₁), де n₁ — кількість тварин; p_{ТМФ} — вірогідність при порівнянні з опроміненим контролем.

Ступінь та частота виникнення еритроцитопенії на моделі ГРС у щурів при введенні S-гетерилмодифікованого цистеаміну

Показник	Ступінь еритроцитопенії, АКК · 10 ¹² /л					
	0 (8,5–7,5)	I (> 6,5)	II (6,0–5,0)	III (5,0–4,0)	IV (< 4,0)	відновлення (6,5–7,5)
Інтактні тварини (n = 25) (7,7 ± 0,2) · 10 ¹² /л						
O _{8,2} (n = 7), 1–4 д						
1	100,0 (7)	–	–	–	–	–
S-гетерил цистеамін (n = 6), 1–4 д						
1	100,0 (6)	–	–	–	–	–
p _{ТМФ}	–	–	–	–	–	–
O _{8,2} (n = 17), 4–7 д						
1	29,4 (5)	41,2 (7)	17,6 (3)	5,8 (1)	–	–
S-гетерил цистеамін (n = 19), 4–7 д						
1	36,8 (7)	47,3 (9)	15,7 (3)	–	–	–
p _{ТМФ}	0,732	0,749	1,000	–	–	–
O _{8,2} (n = 17), 7–14 д						
1	–	41,1 (7)	29,4 (5)	17,6 (3)	11,7 (2)	–
S-гетерил цистеамін (n = 19), 7–14 д						
1	–	78,9(15)	15,7 (3)	5,2 (1)	–	–
p _{ТМФ}	–	0,039	0,434	0,326	–	–
O _{8,2} (n = 11) 14–21 д						
1	–	–	27,4 (3)	45,4 (5)	27,4 (3)	–
S-гетерил цистеамін (n = 14), 14–21 д						
1	–	57,1 (8)	28,5 (4)	14,2 (2)	–	–
p _{ТМФ}	–	–	1,000	0,177	–	–
O _{8,2} (n = 11), 21–30 д						
1	–	–	45,4 (5)	27,2 (3)	18,1 (2)	18,1 (2)
S-гетерил цистеамін (n = 13), 21–30 д						
1	–	–	9,1 (1)	9,1 (1)	–	84,6 (11)
p _{ТМФ}	–	–	0,056	0,288	–	0,003

Примітки: 1 — частота виникнення, % (n_i), де n_i — кількість тварин; p_{ТМФ} — вірогідність при порівнянні з опроміненим контролем.

наслідків втрати клітин, що супроводжувалося зниженням клінічних проявів ГП-синдрому у вигляді геморагічних порушень та крововиливів у слизові, які спостерігалися лише у 11,6 % (p = 0,026) проти 32,1 % в опроміненому контролі.

Важливою характеристикою при розгортанні ГП-синдрому була глибина клітинного спустошення (абляції) КМ, яку оцінювали за інтегральним показником загальної кількості ядровмісних клітин (мієлокаріоцитів) (КЯК) у стегновій кістці щурів. Як можна побачити з даних, наведених у табл. 6, помітне зниження загальної кількості клітин у КМ за КЯК (35,9 ± 3,8) · 10⁶ відбувалося вже на 1 д після опромінення та складало 25,5 % клітин від контрольного рівня. Максимальна глибина падіння КЯК (4,8 ± 0,53) · 10⁶ спостерігалася на 3 д та рівень спустошення КМ відповідав 3,4 % клітин. При застосуванні S-гетерилмодифікованого цистеаміну прискорення темпів відновлення клітин у КМ у період з 3 до 7 д сприяло зростанню КЯК (118,7 ± 16,75) · 10⁶ та у період з 7 до 14 д — до (138,3 ± 31,3) · 10⁶, що практично відповідало рівню в інтактних тварин.

При визначенні рівня апоптичної активності клітин (ААК) у КМ опромінених тварин було показано,

що характерною ранньою відповіддю було помітне зниження у 3,2 разу (p = 0,001) кількості життєздатних клітин з 1 до 3 д після опромінення, тоді як кількість клітин на різних етапах апоптозу істотно зростала до (70,2 ± 1,8) %. Встановлений радіопротекторний ефект S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл)-цистеаміну виявлявся у запобіганні ранньої радіаційно-індукованої ААК КМ у 1,2 разу (p = 0,001) та зменшенні кількості клітин з типовими ознаками апоптозу до (59,5 ± 1,3) %, що сприяло збереженню кількості життєздатних клітин до (40,3 ± 1,3) % порівняно з опроміненим контролем. У подальші терміни рівень життєздатних клітин не знижувався менш ніж до (56,8 ± 1,7) % та наприкінці дослідів відновлювався до (83,5 ± 2,5) % (табл. 7).

Відомо, що відновлення гемопоєзу у різні періоди розгортання ГРС залежить від стану кровотворного мікрооточення і тісно пов'язано зі стромальними елементами КМ. У зв'язку з цим, для виявлення впливу S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл)-цистеаміну на стовбуровий компартмент популяції МСК КМ проводили *in vitro* оцінку ефективності колонієутворення і кількості колонієутворюючих МСК за

Таблиця 6

Кількість ядромісних клітин у кістковому мозку щурів на моделі ГРС при введенні S-гетерилмодифікованого цистеаміну

Показник	Час перебігу, д				
	0–1	1–3	3–7	7–14	14–21
Інтактні тварини (контроль), n = 11					
КЯК · 10 ⁶ ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)	140,7 ± 11,8				
O _{8,2'} , n = 31					
КЯК · 10 ⁶ ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)	35,8 ± 3,6 n = 9	4,8 ± 0,5 n = 5	37,9 ± 2,3 n = 5	80,8 ± 12,3 n = 7	126,5 ± 16,5 n = 5
p _{1Манн-Утні}	0,001	0,001	0,001	0,004	0,505
S-гетерил цистеамін, n = 30					
КЯК · 10 ⁶ ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)	53,2 ± 7,5 n = 7	13,2 ± 1,6 n = 6	118,7 ± 16,5 n = 5	138,3 ± 31,3 n = 6	156,0 ± 9,0 n = 6
p _{1Манн-Утні}	0,001	0,001	0,307	0,932	0,395
p _{2Манн-Утні}	0,041	0,001	0,001	0,097	0,134

Примітки: p_{1Манн-Утні} — вірогідність при порівнянні з інтактним контролем; p_{2Манн-Утні} — вірогідність при порівнянні з опроміненим контролем.

Таблиця 7

Апоптична активність клітин кісткового мозку щурів на моделі ГРС при введенні S-гетерилмодифікованого цистеаміну

Показник	Час перебігу, д			
	1–3	3–7	7–14	14–21
Інтактні тварини (контроль), n = 11				
ААК ($\bar{X} \pm S\bar{x}$), %	3,7 ± 0,4			
O _{8,2'} , n = 22				
ААК ($\bar{X} \pm S\bar{x}$), %	70,2 ± 1,8 n = 5	62,9 ± 0,6 n = 5	48,1 ± 1,8 n = 7	28,8 ± 3,7 n = 5
p _{1Манн-Утні}	0,001	0,001	0,001	0,001
S-гетерил цистеамін, n = 23				
ААК ($\bar{X} \pm S\bar{x}$), %	59,5 ± 1,3 n = 6	35,4 ± 0,5 n = 5	35,6 ± 1,2 n = 6	16,9 ± 2,5 n = 6
p _{1Манн-Утні}	0,001	0,001	0,001	0,001
p _{2Манн-Утні}	0,001	0,001	0,001	0,023

Примітки: p_{1Манн-Утні} — вірогідність при порівнянні з інтактним контролем; p_{2Манн-Утні} — вірогідність при порівнянні з опроміненим контролем.

умов моношарового культивування. Виявлена радіопротекторна ефективність досліджуваної сполуки S-гетерилмодифікованого цистеаміну виражалася у попередженні зниження колонієутворюючої активності МСК КМ на 3 д після опромінення, що складало за величиною ЕКУ $(13,0 \pm 1,9) \cdot 10^{-4}$ %, тобто 13 колонієутворюючих одиниць фібробластів (КУОф) на 106 експлантованих ядромісних клітин, необхідних для забезпечення кровотворного мікрооточення при відновленні гемопоезу в КМ.

Таким чином, за результатами проведених досліджень була виявлена висока радіопротекторна активність сполуки S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл)-цистеаміну, яка максимально реалізувалася у період виникнення ГП-синдрому у значному зниженні радіаційної цитопенії та глибини падіння кількості популяції клітин периферичної крові з прискоренням строків відновлення кожного з гемопоетичних компонентів, що виражалася в істотному зниженні загибелі тварин

у цей період. Встановлений радіозахисний ефект S-гетерилмодифікованого цистеаміну за механізмами реалізації визначався у запобіганні радіаційно-індукованого апоптозу клітин КМ у початковий період після опромінення, що сприяло збереженню загальної кількості життєздатних міелокаріоцитів та кількості колонієутворюючих МСК у КМ.

ВИСНОВКИ

1. Встановлена в експерименті радіозахисна ефективність сполуки S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл)-цистеаміну на моделі ГРС у щурів проявлялася у зниженні 30-добової летальності опромінених тварин — в 4,1 разу (p = 0,001) та ІЛ — в 3,1 разу. Рання загибель тварин у період з 1 до 5 д (кишкова форма ГРС) зменшувалася в 1,9 разу та частота виникнення кишкового синдрому знижувалася у 3,7 разу (p = 0,01).

2. Максимальний радіозахисний ефект сполуки S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл)-цистеаміну

виявлявся у початковий період розгортання ГП-синдрому, що виражалось у найбільшому зниженні до 4,7 % ($p = 0,001$) загибелі тварин проти 42,3 % в опромінену контролі.

3. Виявлена радіопротекторна активність сполуки S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл)-цистеаміну у період розпаду ГП-синдрому, з 7 до 14 д, визначалася у значному зниженні ступеня радіаційної цитопенії за глибиною падіння АКК лейкоцитів, тромбоцитів та

еритроцитів у периферичній крові та прискоренням темпів їхнього відновлення.

4. Встановлений радіозахисний ефект сполуки S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл)-цистеаміну реалізувався у запобіганні в ранній період, з 1 до 3 д, радіаційно-індукованому апоптозу клітин КМ, збереженню загальної кількості життєздатних мієлокаріоцитів та кількості колонієутворюючих МСК у КМ.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Вивчення в експерименті потенційних радіопротекторів — S-(азагетерил) заміщених цистеаміну* // Н. С. Узленкова, О. А. Бражко, М. М. Корнет та ін. // Укр. радіол. журн. — 2014. — Т. 22, № 2. — С. 149–154.
2. *Чертков И. Л. Клеточные основы кроветворения : монография / И. Л. Чертков, А. Я. Фриденштейн. — М. : Медицина, 1977. — 272 с.*
3. *Aebersold P. FDA experience with medical countermeasures under the animal rule / P. Aebersold // Edv. Prev. Med. — 2012:5075;2012.*
4. *Animal models for acute radiation syndrome drug discovery / V. K. Singh, V. L. Newman, A. N. Berg, T. J. MacVittie // Expert Opin. Drug. Discov. — 2015. — Vol. 10, N 5. — P. 497–517.*
5. *Medical management principles for radiation accidents / V. Meineke, D. van Beuningen, T. Sohns, T. M. Fliedner // Mil. Med. — 2003. — Vol. 168. — P. 219–222.*
6. *Moulder J. E. Post-irradiation approaches to treatment of radiation injuries in the context of radiological terrorism and radiation accidents: a review / J. E. Moulder // Int. J. Radiat. Biol. — 2004. — Vol. 80. — P. 3–10.*
7. *Waselenko J. K. Medical management of the acute radiation syndrome: recommendations of the Strategic National Stockpile Radiation Working Group / J. K. Waselenko, T. J. Mac Vittie, W. F. Blakely // Ann Intern. Med. — 2004. — Vol. 140. — P. 1037–1051.*

Стаття надійшла до редакції 03.03.2017.

Н. Е. УЗЛЕНКОВА, Н. Г. СКОРОБОГАТОВА, И. Ю. МАГДА, И. А. ЛЕОНОВА, Е. В. НЕНЮКОВА,
Е. Л. МАСЛЕННИКОВА

ГУ «Институт медицинской радиологии им. С. П. Григорьева НАМН Украины», Харьков

ЭФФЕКТИВНОСТЬ S-ГЕТЕРИЛМОДИФИЦИРОВАННОГО ЦИСТЕАМИНА ПРИ ОСТРОМ РАДИАЦИОННОМ СИНДРОМЕ У КРЫС

Цель работы. Изучить в эксперименте радиозащитную эффективность соединения S-(6-этокси-2-метилхинолин-4-ил)-цистеамина при моделировании острого радиационного синдрома у крыс.

Материалы и методы. Опыты выполнены на половозрелых белых крысах-самках, которые подвергались воздействию кратковременного общего облучения на линейном ускорителе 6MV CLINAC в поглощенной дозе 8,2 Гр. Исследуемое соединение вводили в дозе 150 мг/кг за 15–30 мин до облучения.

Результаты. Выявленный радиозащитный эффект реализовался в снижении летальности, предотвращении радиационно-индуцированного апоптоза, сохранении общего количества жизнеспособных миелокариоцитов и колониеобразующих мезенхимальных стромальных клеток костного мозга, снижении радиационной цитопении.

Выводы. Установлена высокая радиопротекторная эффективность соединения S-(6-этокси-2-метилхинолин-4-ил)-цистеамина в защите гемопоэтической системы при остром радиационном синдроме.

Ключевые слова: S-гетерилмодифицированный цистеамин, острый радиационный синдром, радиозащитная активность.

N. E. UZLENKOVA, N. G. SKOROBOGATOVA, I. J. MAGDA, I. A. LEONOVA, E. V. NENYUKOVA,
E. L. MASLENNIKOVA

SI «Grigoriev Institute for Medical Radiology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv

**EFFICIENCY OF S-HETERYLMODIFIED CYSTEAMINE
IN AT ACUTE RADIATION SYNDROME IN RATS**

Abstract. Purpose. To carry out an experimental study of radioprotective efficiency of the S- (6-ethoxy-2-methylquinolin-4-yl)-cysteamine in modeling of acute radiation syndrome in rats.

Materials and methods. The experiments were carried out on sexually mature white female rats, which were exposed to 6MV CLINAC linear accelerator irradiation at absorbed dose of 8.2 Gy. The test compound was administered at a dose of 150 mg/kg 15 to 30 minutes before irradiation.

Outcomes. The radioprotective effect resulted in reduction of lethality, prevention of radiation-induced apoptosis, preservation of the total number of myelocaryocytes and colony-forming mesenchymal stromal cells of the bone marrow and reduction of radiation cytopenia.

Conclusions. The high radioprotective efficiency of the S-(6-ethoxy-2-methylquinolin-4-yl)-cysteamine in protection of the hemopoietic system in acute radiation syndrome was established.

Keywords: S-heterylmodified cysteamine, acute radiation syndrome, radioprotective activity.

Контактна інформація:

Узленкова Наталія Євгенівна

канд. біол. н., завідувач лабораторії протирадіаційних препаратів ДУ ІМР НАМН України

вул. Пушкінська, 82, м. Харків, 61024, Україна

тел.: +38 (097) 511-31-84

e-mail: nuzlenkova@Gmail.com