

ПРОТИВОЛУЧЕВЫЕ СВОЙСТВА СОВРЕМЕННЫХ АНТИОКСИДАНТОВ

Тарумов Р.А., Башарин В.А., Гребенюк А.Н.

*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
194044, г. Санкт-Петербург, улица академика Лебедева, 6,
Телефон: +7 (812) 292-34-82
e-mail: tarumov_ra@mail.ru*

Проблема химической защиты организма от воздействия ионизирующей радиации с каждым годом приобретает все большую актуальность. В связи с этим, предпринимаются попытки поиска новых фармакологических средств, обладающих высокой радиозащитной эффективностью и низкой токсичностью, в равной степени эффективных, безопасных и удобных в применении. В качестве перспективных радиозащитных средств рассматриваются препараты, обладающие антиоксидантной активностью.

Ключевые слова: облучение, радиационное поражение, радиопротектор, лечение, антиоксидант.

RADIOPROTECTIVE PROPERTIES OF MODERN ANTIOXIDANTS

Tarumov R.A., Basharin V.A., Grebenyuk A.N.

*194044, St. Petersburg, street Academic Lebedev, 6
Medical Military Academy named after S.M. Kirov,
tel. (812) 292-34-82
e-mail: tarumov_ra@mail.ru*

Every year the problem of chemical defense against exposure to ionizing radiation becomes more and more important. The attempts are being made to find new pharmacological agents that a high radioprotective efficacy and low toxicity. They have to be equally effective, safe and convenient to use. In present time antioxidants are being considered as a promising radioprotective drugs.

Keywords: radiation, radiation injuries, radioprotector, treatment, antioxidant

Согласно существующим представлениям о патогенезе лучевого поражения, ведущую роль в механизме его развития играет оксидативный стресс, проявляющийся в резком усилении продукции активных кислородных метаболитов, инициации перекисного окисления липидов с одной стороны и снижении активности различных компонентов антиоксидантной системы с другой [33]. Это подтверждено фундаментальными исследованиями, экспериментально подтвердившими важнейшую роль свободных радикалов и антиоксидантов в развитии лучевого поражения. Получены данные, указывающие на связь между количеством индуцируемых излучением свободных радикалов и степенью лучевого поражения клеток. Активные формы кислорода и свободные радикалы могут инициировать процессы повреждения в различных органах и тканях, которые могут продолжаться длительное время. Так, например, гидроксил ион радикал, образующийся в течение миллисекунд после действия радиации, является ключевым звеном эффектов, развивающихся в течение дней, недель и месяцев [44].

Это объясняет значительный интерес к антиоксидантам (АО) как к веществам, способным снизить поражающее действие ионизирующего излучения на организм. Защитный эффект этих препаратов в условиях лучевого воздействия связан, прежде всего, с их способностью подавлять процессы свободно-радикального окисления и повышать активность антиоксидантных систем организма [41].

Антиоксидантом является вещество, в малых концентрациях тормозящее процессы окисления органических веществ кислородом в модельных системах по различным механизмам [3]. Среди АО выделяют соединения природного и синтетического происхождения. Различают также соединения, присутствующие в биологическом объекте (эндогенные АО) и соединения, вводимые в биообъект извне (экзогенные АО). Существует классификация фенольных АО по числу групп ОН и количеству ароматических колец. Также различают АО по классам химических соединений: гидроксилсодержащие, терпены, азотсодержащие, серосодержащие, селенсодержащие и фосфорсодержащие соединения [3].

Однако для целей поиска и разработки новых радиозащитных препаратов наиболее удобным представляется подразделение АО по механизму действия [3]. В этом случае наглядна взаимосвязь между химической структурой и биологическими свойствами, т.е. зависимость между наличием определенных функциональных групп и механизмом действия антиоксиданта.

1. Хелаторы (дезактиваторы металлов) – вещества, подавляющие процесс окисления субстрата путем образования с ионами переходных металлов комплексов, не активных в процессах окисления.

2. Тушители синглетного кислорода – вещества, которым синглетный кислород отдает свою избыточную энергию.

3. Дезактиваторы пероксидов – вещества, подавляющие процесс окисления субстрата путем разрушения пероксидов преимущественно без образования свободных радикалов.

4. Антиоксиданты-ингибиторы – соединения, тормозящие цепной радикальный процесс окисления органических веществ путем обрыва цепей за счет реакций со свободными радикалами, ведущими цепи окисления.

Подобная классификация учитывает лишь основные структурные элементы молекул, отвечающие за проявление веществом антиоксидантных свойств. Предлагаемое деление удобно использовать в работах по поиску, изучению и созданию новых препаратов для защиты организма от воздействия ионизирующего излучения.

Касаясь изучения радиозащитной эффективности препаратов первой группы, необходимо отметить основные механизмы антирадикальной защиты этих средств. Известно, что ионы металлов переменной валентности (Fe^{+2} , Cu^{+2} , Mo^{+3} и др.) играют двойственную роль в живых организмах: с одной стороны, они являются необходимыми кофакторами огромного количества ферментов, а с другой – представляют угрозу для жизни клеток, поскольку в их присутствии усиливается образование высокореакционных гидроксильного и алкоксильного радикалов. Поэтому хелатные соединения, связывающие ионы металлов переменной валентности и тем самым препятствующие их вовлечению в реакции разложения перекисей, представляют собой важный компонент антиоксидантной защиты организма в условиях воздействия ионизирующего излучения [8].

В работе [6] изучались противолучевые свойства одного из представителей группы дезактиваторов металлов – лактоферрина. Показано, что подкожное ежедневное введение лактоферрина в дозе 65 или 300 мг/кг морским свинкам с 1 по 14 сут (первое введение через 24 ч после облучения) после общего тотального воздействия γ -излучения ^{137}Cs в дозе 2,5 Гр (мощность дозы 0,02 Гр/с) оказывало лечебный эффект, который проявлялся в повышении выживаемости облученных животных и в стимуляции гемопоэза. В частности, введение лактоферрина обеспечивало повышение выживаемости животных в среднем на

40-50 % по сравнению с контролем. При этом на 16 сут наблюдения количество нейтрофилов в периферической крови при введении лактоферрина в разных дозах было в два раза выше по сравнению с животными контрольной группы.

В то же время, лактоферрин не оказывал лечебного эффекта на течение кишечной формы острой лучевой болезни у мышей. Однако предварительное однократное введение лактоферрина крысам перед воздействием ускоренных электронов в дозах 255 или 266 Гр снижало выраженность некоторых симптомов церебральной формы острой лучевой болезни. По мнению авторов, радиозащитный эффект препаратов лактоферрина может быть связан с их способностью ингибировать металлозависимые реакции свободно-радикального окисления за счет связывания катионов металлов переменной валентности, катализирующих реакции образования активных форм кислорода (АФК) [6].

J.R. Sorenson (2002) в своем исследовании изучил радиозащитную эффективность 5-диэтилсульфонамилсалициловой кислоты – хелатора металлов переменной валентности (Cu, Fe, Mn, Zn). Установлено, что подкожное введение мышам препарата в дозе 80 мг/кг или 120 мг/кг за 1 ч до радиационного воздействия в дозе 8 Гр привело к увеличению 30-ти суточной выживаемости животных на 68 % ($p = 0.019$) и 92 % ($p = 0.0008$) соответственно по сравнению с контролем [36].

Повышение радиорезистентности организма также может быть достигнуто применением препаратов из группы тушителей синглетного кислорода, которым он отдает свою избыточную энергию, превращаясь тем самым в менее реакционно-способное соединение. Из соединений этой группы в медицинской практике наиболее широко используется α -токоферол [23, 30].

Так, фактор изменения дозы (ФИД) α -токоферола при его подкожном введении мышам в дозе 400 мг/кг за 24 ч до острого облучения в дозе 6 Гр (γ -лучами ^{60}Co при мощности дозы 0,6 Гр/мин) составил 1,2 [23].

Отмечен радиозащитный эффект α -токоферола в схеме ранней терапии радиационного поражения. В работе [30] был изучен противолучевой эффект однократного внутрибрюшинного введения α -токоферола в дозах 400 и 600 мг/кг сразу после воздействия летальных (8,5-12 Гр) и сублетальных (1-5 Гр) доз облучения белых мышей линии Swiss. Защиту от летального облучения оценивали по тесту 30-суточной выживаемости животных, а от сублетальных доз – по числу микроядерных эритроцитов и хромосомных aberrаций в костном мозге через 24 ч после облучения. Установлено, что ФИД α -токоферола при введении препарата в дозе 600 мг/кг сразу после воздействия

летальных доз радиации составил 1,09. Введение α -токоферола в обеих изученных дозах в условиях облучения сублетальными дозами позволило значительно сократить процент аберрантных метафаз, аберраций различных типов, а также число микроядерных эритроцитов. При этом значения ФИД, равного 1,22 и 1,48 для аберрантных метафаз, а также 1,6 и 1,98 для микроядерных эритроцитов, были получены при введении α -токоферола в дозе 400 и 600 мг/кг соответственно. По мнению авторов, показанная эффективность введения α -токоферола сразу после облучения свидетельствует о возможности его использования для защиты от незапланированного облучения организма.

Установлено, что дезактиваторы пероксидов, и в частности каталаза, также обладают противолучевыми свойствами. По данным [19] интратрахеальное введение мышам линии C57Bl/6NHsd митохондриальной каталазы, заключенной в плазмиду, в дозе 100 мкг на животное за 24 ч до острого облучения области грудной клетки в дозе 20 Гр оказывало радиозащитный эффект. Введение препарата обеспечивало повышение выживаемости животных на 70 % к 150 сут эксперимента по сравнению с контролем. При этом риск развития радиационно-индуцированного альвеолита снизился на 20 %. По мнению авторов, противолучевые свойства митохондриальной каталазы связаны со способностью этого соединения защищать клетку от избыточного накопления перекиси водорода в процессе свободно-радикальных реакций.

В другой работе [1] изучена радиозащитная эффективность ксантозина при облучении мышей-самцов линии Kv:SHK. Препарат мышам вводили внутрибрюшинно в дозе 45 мг/кг (в 0,14 М растворе натрия хлорида) за 15 мин до и через 15 мин после облучения в дозе 1,5 Гр. Установлено, что введение ксантозина мышам до воздействия рентгеновского излучения привело к уменьшению частоты образования полихроматофильных эритроцитов с микроядрами в 1,3 раза, при введении после – в 1,6 раза по сравнению с контролем. По мнению авторов, радиозащитная эффективность ксантозина может быть связана, в частности, со способностью препарата снижать радиационно-индуцированную генерацию перекиси водорода.

Показано [2], что кофеин может рассматриваться в качестве эффективного противолучевого средства, повышающего выживаемость животных и способствующего увеличению содержания форменных элементов в периферической крови. При внутрибрюшинном введении кофеина в дозе 45 мкг/г через 15 мин после рентгеновского облучения в дозе 7 Гр выживаемость самцов мышей линии Kv:SHK в течение 30-ти суток составила 40 % при 100 % гибели в контроле. При этом кофеин уменьшал степень

выраженности радиационной лейко- и тромбоцитопении, увеличивая количество форменных элементов крови у облученных животных. Влияние кофеина на цитотоксические повреждения, такие как образование микроядер в полихроматофильных эритроцитах красного костного мозга мышей, было исследовано с помощью метода микроядерного теста. Установлено, что внутрибрюшинное введение кофеина через 15 мин после воздействия рентгеновского излучения в дозе 1,5 Гр приводит к значительному уменьшению количества полихроматофильных эритроцитов с микроядрами в костном мозге мышей [2].

Соединения из группы антиоксидантов – ингибиторов свободных радикалов представляют собой самую обширную группу препаратов, которые в настоящее время рассматриваются как перспективные радиозащитные средства. К этой группе относятся вещества с подвижным атомом водорода, способные перехватывать соединения радикальной природы, а также препараты, которые опосредованно влияют на этот процесс. В настоящее время изучаются противолучевые свойства препаратов селена, тиоловых соединений, супероксиддисмутазы и мелатонина. Особое внимание сосредоточено на изучении радиозащитных свойств природных и синтетических фенольных соединений.

В исследованиях М.А. Вакіг с соавторами (2005) показано, что введение селенита натрия в дозах 4 и 8 мг на особь позволяет увеличить 30-ти суточную выживаемость облученных γ -лучами ^{60}Co в дозе 7 Гр при мощности дозы 1 Гр/мин крыс до $69 \pm 6 \%$ и $77 \pm 6\%$ соответственно, в то время как выживаемость контроля составляла $42 \pm 9 \%$. При этом введение препарата в дозах 15 и 30 мг на крысу не влияло на показатели выживаемости [13].

В работе [42] показано, что селенометионин – малотоксичное природное соединение, содержащиеся в сое, злаковых культурах, бобах и обогащенных селеном дрожжах, увеличивает при внутрибрюшинном введении в дозе 150 мкг/кг выживаемость облученных в дозе 9 Гр мышей на 30 %. Препарат оказывает защитный эффект при введении за 24 ч, 1 ч до или через 15 мин после воздействия лучей ^{60}Co с интенсивностью 0,2 Гр/мин. По мнению авторов, механизм антирадикального действия производных селена связан, в основном, с активацией селензависимой глутатионпероксидазы, являющейся первой линией защиты клеток организма от накопления токсических гидропероксидов и свободных радикалов, что может играть немаловажную роль и в обеспечении противорадиационной защиты [42].

Введение животным селенметионина в дозах 1,5, 15 и 150 мкг/кг с метионином в концентрации 4 мг/кг на протяжении 3 дней до и 5 дней после облучения в дозе 2 Гр (γ -облучение ^{137}Cs , мощность дозы 92 сГр/мин) и далее дважды в неделю в течение 1 месяца после воздействия радиации в большинстве случаев оказывало нормализующее влияние на относительную массу семенников, эпидидимисов и селезенки у облученных белых беспородных крыс-самцов [4]. Установлено положительное действие селенметионина с метионином на восстановление количества лейкоцитов в крови и лейкограмму животных на протяжении всего периода введения препарата. Нормализующее действие селенметионина с метионином выявлено также в отношении антиокислительной активности, содержания малонового диальдегида (МДА) и ферментов трансаминирования в изучаемых тканях животных.

В исследовании [21] провели сравнительную оценку радиозащитной эффективности N-ацетилцистеина и WR-2721 (амифостина) в экспериментах на белых беспородных крысах, подвергнутых общему относительно равномерному однократному γ -облучению в дозе 6 Гр (γ -лучи ^{60}Co , мощность дозы 1,8 Гр/мин, фокусное расстояние 80 см). За 15 мин до облучения крысам внутрибрюшинно вводили N-ацетилцистеин в дозе 1000 мг/кг или WR-2721 в дозе 200 мг/кг. Через 72 ч после облучения исследовали содержание глутатиона, МДА и активность миелопероксидазы в сыворотке крови и ткани печени. Установлено, что содержание МДА в печени облученных крыс после введения N-ацетилцистеина и амифостина уменьшилось на 35% и 25% соответственно по сравнению с контролем. Активность печеночной миелопероксидазы у леченых животных была в три раза выше, чем в контрольной группе, а содержание глутатиона в сыворотке крови и тканях животных контрольной группы было в 1,5 раза ниже, чем у животных опытных групп. Делается заключение, что защитный эффект N-ацетилцистеина по исследуемым биохимическим показателям равен эффекту при применении амифостина [21].

В работе [25] показано, что введение α -липоевой кислоты в дозе 200 мг/кг мышам линии СЗН за 30 мин до воздействия рентгеновского облучения в дозах 4 и 6 Гр приводило к увеличению антиоксидантной активности плазмы крови на 14 %. Также было обнаружено, что введение препарата способствует повышению содержания небелковых сульфгидрильных групп в головном мозге, печени, селезенке, почках и семенниках при облучении в обеих изученных дозах.

В опытах на мышах-самцах линии C57Bl/6NHsd показано, что при внутривенном введении марганецзависимой супероксиддисмутазы, заключенной в липосомы, за 24 ч до

общего однократного облучения в дозе 9,5 Гр ($СД_{70-90/30}$) выживаемость облученных животных увеличивалась на 25 % по сравнению с контролем [19].

Показано также, что предварительное введение мышам линии C57Bl/6NHsd митохондриальной каталазы, заключенной в плазмиду, или марганецзависимой супероксиддисмутазы за 24 ч до местного облучения области грудной клетки в дозе 20 Гр оказывало защитный эффект, проявляющийся в том, что степень развития альвеолита и фиброза легочной ткани была менее выражена, чем у контроля. При этом уровень восстановленного глутатиона у животных опытной группы был на порядок выше по сравнению с контрольной.

Установлено, что, подобно препаратам супероксиддисмутазы, нитроксиды также способны дисмутировать супероксидный радикал [37]. Эти соединения препятствуют процессам перекисного окисления липидов, предотвращая развитие реакции Фентона и Габера-Вайса.

В исследованиях [22] показано, что введение крысам мелатонина в дозе 5 мг/кг внутривенно за 30 мин до общего γ -облучения в дозе 5 Гр препятствовало снижению числа лейкоцитов и тромбоцитов в периферической крови. По мнению авторов, радиозащитный эффект мелатонина достигается за счет его способности выступать в роли ловушки свободных радикалов, генерируемых ионизирующим излучением. Кроме того, мелатонин, вероятно, действует как фактор роста, особенно для гранулоцитов [1].

В работе [12] обоснована возможность применения мелатонина в качестве генопротекторного агента. Установлено, что мелатонин в дозе 10 или 50 мг/кг, введенный за 30 мин до облучения в дозах $СД_{50-90/30}$, способствует существенному (в 2-3 раза) снижению кластогенного эффекта радиационного воздействия преимущественно за счет спектра нестабильных хромосомных aberrаций (фрагменты, дицентрики, полиплоиды). По мнению В.А. Голиченкова с соавторами (2010) антикластогенный эффект мелатонина в условиях облучения связан с его способностью улавливать свободные радикалы (в частности, $\cdot OH$) и образовывать менее токсичные соединения. Антиоксидантное действие мелатонина, благодаря его липофильности, происходит во всех клеточных структурах [5].

В настоящее время широко исследуются противолучевые свойства синтетических антиоксидантов фенольной природы. Среди препаратов этой группы фенозан калия и мексидол для целей медицинской противорадиационной защиты представляют собой наибольший интерес.

В работе [10] изучено влияние фенозана калия (синтетического антиоксиданта из класса экранированных фенолов) на процессы репарации и апоптоза. Установлено, что фенозан, введенный мышам F_1 (СВА х С57В1) в дозах 10^{-4} моль/кг и 10^{-14} моль/кг за 24 ч до облучения в дозе 1,2 сГр, вызывает увеличение содержания белков p53 и bcl-2, связанных с процессами репарации и апоптоза, в сыворотке крови экспериментальных животных. По мнению авторов, это отражает способность фенозана калия усиливать процессы репарации ДНК и снижать выраженность апоптоза в условиях облучения [10].

В работе [11] проведено изучение влияния мексидола на течение и исход острой лучевой болезни у мышей. При облучении в дозе 6 Гр изучали состояние кроветворной системы, а при облучении в дозе 7,7 Гр – выживаемость животных. Во всех экспериментах мексидол применяли после облучения в двух схемах введения: один раз в день с 1-х по 8-е сут или с 1-х по 5-е сут два раза в день, а на 6 – 8-е сут один раз в день. Установлено, что введение мексидола в дозе 5 мг/кг после воздействия ионизирующего излучения в дозе 6 Гр снижает степень радиационного поражения костного мозга и способствует активизации пострадиационного восстановления эритропоэза, нейтрофилопоэза в костном мозге и лимфопоэза в тимусе. Этот эффект более выражен при введении мексидола два раза в день. При такой схеме введения после воздействия ионизирующего излучения в дозе 7,7 Гр выживаемость животных увеличивалась на 40 % по сравнению с контролем, в то время как применение мексидола один раз в день существенно не влияло на выживаемость облученных мышей. Введение мексидола с 1-х по 8-е сут после облучения, создавая благоприятный метаболический фон, стимулировало также регенераторные процессы в кроветворной системе, что приводило к уменьшению тяжести лучевой болезни и увеличению выживаемости облученных животных.

В работе [9] изучено влияние мексидола на некоторые показатели гемостаза кроликов-самцов при остром облучении. Препарат вводили внутривенно в дозе 5 мг/кг через день в течение последующих 29 сут после однократного облучения в дозе 5 Гр. Установлено, что время свертывания крови на 8-е сут после облучения удлинялось на 30,6 %, на 15 сут – на 18,3 % с приходом к норме на 22-е сут. При этом уровень растворимых фибрин-мономерных комплексов был понижен на 33,4 % относительно контроля после полного курса терапии. Стоит отметить, что введение препарата позволяло препятствовать развитию тромбоцитопении в период разгара острой лучевой болезни. Уже на 15-е сут наблюдения количество тромбоцитов было значимо выше (в 3 раза) у животных, получавших мексидол по сравнению с группой контроля.

Как было отмечено ранее, на сегодняшний день активно изучаются противолучевые свойства экстрактов растений, которые по своей сути включают в себя множество различных соединений с фенольной структурой. Стоит отметить, что ФИД для таких соединений часто не превышает 1,3. Однако эти соединения малотоксичны, быстро метаболизируются в организме и способны проявлять противолучевые свойства как при профилактическом их применении, так и в случае комплексной терапии радиационных поражений [41]. Ведущим механизмом противолучевой защиты при использовании экстрактов растений в различных схемах введения является перехват радиационно-индуцированных свободных радикалов и повышение активности антиоксидантных систем организма. Полифенолы растительных экстрактов способны также селективно индуцировать гены, кодирующие ферменты антиоксидантной защиты, такие как каталаза, глутатионтрансфераза, глутатионпероксидаза, супероксиддисмутаза, и тем самым снижать развитие окислительного стресса при облучении. Отмечено, что вещества полифенольной природы участвуют в регуляции генов репарации ДНК от радиационных повреждений этой молекулы, способствуют снижению интенсивности процессов перекисного окисления липидов, увеличению содержания в тканях небелковых сульфгидрильных групп, ингибируют активацию протеинкиназы C, митогенактивированной протеинкиназы, цитохрома P-450, оксида азота и ряда других биологически активных соединений, которые определяют развитие патологического процесса в ответ на воздействие ионизирующего излучения [20].

В обзоре [20] показано, что экстракты растений, таких как *Gingko biloba*, *Centella asiatica*, *Hippophae rhamnoides*, *Ocimum sanctum*, *Panax ginseng*, *Podophyllum hexandrum*, *Amaranthus paniculatus*, *Embllica officinalis*, *Phyllanthus amarus*, *Piper longum*, *Tinospora cordifolia*, *Mentha arvensis*, *Mentha piperita*, *Syzygium cumini*, *Zingiber officinale*, *Ageratum conyzoides*, *Aegle marmelos*, *Aphanamixis polystachya*, защищают организм животных от воздействия общего однократного облучения в дозах СД_{50-70/30}. При этом выявлены достоверно более высокие показатели выживаемости облученных животных, снижение уровня перекисного окисления липидов и числа поломок молекулы ДНК.

Особое внимание в работах последних лет уделено изучению противолучевых свойств препаратов из группы изофлавоноидов [29]. Одним из представителей этой группы является генистеин. Генистеин проявляет свойства ингибитора протеинкиназы, способен ингибировать ангиогенез опухолевой ткани, обладает противовоспалительным действием [38, 39] и, в соответствии со своей химической структурой, может проявлять

антиоксидантные свойства [24]. У препарата выявлена радиозащитная способность, которая, как полагают, в значительной степени определяется сильной антиоксидантной активностью этого соединения [26]. По данным литературы изофлавоноид генистеин обладает радиозащитной эффективностью, однако эффект от применения генистеина зависит от времени введения и дозы препарата. Учитывая большой интерес ученых к генистеину как перспективному радиозащитному средству, в обзоре немного более подробно представлены данные о его защитном эффекте при действии ионизирующего облучения.

Так, в исследовании [14] белым мышам линии Swiss вводили различные дозы генистеина (100, 200, 300, 400 мг/кг) за 24 ч перед острым γ -облучением в дозе 8 Гр (^{60}Co , мощность дозы 1,02 Гр/мин). Препарат вводили внутривенно в объеме 0,5 мл на животное, в качестве растворителя был использован диметилсульфоксид. Установлено, что при дозе 200 мг/кг выживаемость животных была существенно выше по сравнению с эффектом от применения препарата в других дозах. На следующем этапе исследования авторы предварительно вводили генистеин в различные сроки – за 24 ч или за 15 мин перед облучением. В качестве критерия эффективности препарата был использован тест 30-ти суточной выживаемости животных. Показано, что применение генистеина за 24 ч до облучения увеличивало выживаемость животных на 20 % к 30-м сут эксперимента по сравнению с контролем. В то же время введение генистеина за 15 мин до лучевой нагрузки позволило достигнуть аналогичного эффекта только к 22 сут исследования, но на 27 сут эксперимента все животные погибали.

M.R. Landauer и соавторы при изучении радиозащитного действия генистеина выявили, что пероральное введение генистеина мышам линии CD2F1 за 24 ч до острого внешнего γ -облучения оказывало выраженное защитное действие, проявляющееся в снижении смертности облученных животных. Если же препарат вводили за 1 ч до радиационного воздействия, эффективность генистеина снижалась, и значительного повышения выживаемости облученных животных по сравнению с контролем не было [28].

В работе [18] проведено изучение влияния генистеина на показатели 30-суточной выживаемости и защиты легочной ткани мышей-самок линии C57BL/6J от радиационного поражения. Установлено, что подкожное введение генистеина в дозе 200 мг/кг за 24 ч до облучения в дозе 7,75 Гр (γ -лучи ^{60}Co , мощность дозы 0,6 Гр/мин) обеспечило повышение выживаемости животных на 40 % по сравнению с контролем. При этом на 90-е сут

наблюдения в легочной ткани мышей, получавших генистеин, выраженность процессов фиброза и коллагенообразования была меньше, чем у животных контрольной группы. В гомогенате легочной ткани мышей, получавших генистеин, концентрация белка TGF- β -RI – маркера повреждения, была на 50 % ниже, чем у мышей из группы контроля.

Y. Zhou с соавторами (2005) изучили радиозащитный эффект генистеина, который перорально вводили мышам-самцам линии BALB/c в течение 7 дней до облучения с периодичностью 1 раз в сутки в дозе 160 мг/кг. Однократное острое γ -облучение ^{60}Co в дозе 6 Гр (мощность дозы 98,01-98,68 сГр/мин) проводили через 7 сут после окончания курса. Показано, что генистеин обладает противолучевым действием, обеспечивая выживаемость 60 % облученных мышей при 20 % гибели в контроле. Установлено также, что генистеин ослаблял радиационно-индуцированную гемодепрессию клеток костного мозга и стимулировал восстановление численности клеток периферической крови. Так, уже на 2 сут эксперимента наблюдалось достоверное увеличение абсолютного числа лейкоцитов и лимфоцитов в крови, а также общей клеточности костного мозга. Кроме того, на 1, 7 и 14 сут эксперимента отмечалось достоверное увеличение ГМ-КСФ у животных, получавших генистеин, в отличие от контроля.

В исследовании [17] показано, что однократное подкожное введение генистеина в дозе 200 мг/кг за 24 ч перед γ -облучением в дозе 8,75 Гр обеспечивало 97 % выживаемость мышей линии CD2F1 при 100 % гибели в контроле. В течение первых 11 сут после облучения не было обнаружено значимых различий количества лейкоцитов, тромбоцитов, эритроцитов и ретикулоцитов периферической крови у животных контрольной и опытной групп. Однако уже на 15 сут эксперимента отмечалось достоверное увеличение числа нейтрофилов в опытной группе (16,7 % от исходного уровня), тогда как в контрольной группе значение этого показателя оказалось равным 8 % от начального уровня. Начиная с 21 сут исследования, наблюдалось существенное увеличение количества эритроцитов, тромбоцитов и общего числа лейкоцитов в опытной группе в отличие от контроля. Также показано, что профилактическое применение генистеина увеличивало число 11-ти суточных селезеночных колониеобразующих единиц по сравнению с контролем в 13 раз.

В другом эксперименте [16] мышам-самкам C57Bl/6J за 24 ч до γ -облучения ^{60}Co в дозе 7,75 Гр подкожно вводили генистеин в дозе 200 мг/кг. Показано, что введение генистеина защищало от миелотоксического действия облучения посредством остановки клеточного цикла LSK(+)-клеток, что приводило к созданию резерва стволовых

гемопозитических клеток и клеток-предшественников, находящихся в состоянии покоя, в объеме, достаточном для пострadiационного восстановления гемопоза.

В исследовании [15] показана возможность снижения радиационно-индуцированного окислительного стресса в легочной ткани крыс, подвергнутых местному облучению в дозе 18 Гр (мощность дозы 0,5 Гр/мин), при профилактическом (за 24 ч) введении им генистеина в дозе 750 мг/кг. Интересно и то, что благоприятный эффект от применения генистеина проявлялся в уменьшении уровня провоспалительных цитокинов ФНО- α , ИЛ-1 β и ФНО- β , а также в снижении содержания коллагена и защите ДНК от повреждений у выживших крыс спустя 28 недель после облучения.

В работе [34] показано, что генистеин в условиях облучения, напротив, является индуктором гемопозитических цитокинов. Так, подкожное введение мышам генистеина в дозе 200 мг/кг за 24 ч до острого облучения сопровождалось повышением уровня сывороточного ГМ-КСФ и ИЛ-6 уже через 4 ч после радиационного воздействия по сравнению с контролем. По мнению авторов, это обстоятельство может явиться объяснением более раннего восстановления функционального пула системы кроветворения у животных, которые получали генистеин в условиях воздействия радиации [34].

L.-H. Song и соавторы [35] показали, что введение 41,56 % раствора изофлавоноида сои (содержащего 16,42 % диадзина, 1,03 % диадзеина, 22,63 % генистина и 1,48 % генистеина) в дозах 50, 100 и 400 мг/кг в течение 7 дней до воздействия ионизирующего облучения в дозе 4,56 Гр (γ -источник ^{60}Co) достоверно повышало активность ферментов антиоксидантной активности каталазы и глутатион-пероксидазы, а также снижало уровень малонового диальдегида. Кроме того, наблюдалось более раннее восстановление числа лейкоцитов и ретикулоцитов уже на 7 сут после облучения.

Таким образом, показано, что генистеин способен защитить организм от воздействия внешнего облучения при профилактическом применении.

Для повышения радиозащитной эффективности антиоксидантов рассматривается и возможность применения их комбинаций. Так, в работе [14] были представлены данные об эффективности комплексного курсового применения антиоксидантов с различными механизмами действия в условиях острого облучения. Мышей линии C57Bl/6 подвергали общему однократному облучению в дозе 8 Гр. После воздействия радиации животным перорально вводили в течение всего эксперимента один раз в день комплекс антиоксидантов, состоящий из селенометионина в дозе 120 мг/кг, аскорбата соды в дозе

1,9 г/кг, N-ацетилцистеина в дозе 5,1 мг/кг, α -липоевой кислоты в дозе 100 мкг/г, α -токоферола в дозе 8,6 мкг/г, убихинона в дозе 51 мкг/г. Время начало терапии в опытных группах было различным: животным первой группы препараты вводили сразу после облучения, животные второй группы получали комплекс антиоксидантов только через 24 ч после облучения. Оказалось, что на 30-е сутки эксперимента в первой группе выжило 4 мышей из 14, а во второй – 14 из 18 животных при 100% летальности в контроле. По мнению авторов, высокие показатели выживаемости при отсрочке начала терапии антиоксидантами на 24 ч связаны с тем, что применение антиоксидантов сразу после облучения способствует подавлению радикальных соединений, которые могут задерживать переход клеточного цикла из фазы G₁ в фазу S, что способствует увеличению репарации ДНК и сохранению жизнеспособности клетки.

В работе [7] авторы изучали радиозащитную эффективность двух антиоксидантных комплексов: АОК-3 (α -токоферола ацетат 20 мг/кг, унитиол 50 мг/кг, аскорбиновая кислота 20 мг/кг) и АОК-5 (α -токоферола ацетат 20 мг/кг, ретинола ацетат 7 мг/кг, селенит натрия 0,1 мг/кг, унитиол 50 мг/кг, аскорбиновая кислота 20 мг/кг). АОК-3 внутрибрюшинно вводили облученным животным через 0,5, 3, 6, 24 и 48 ч после облучения. АОК-5 вводили внутривентрально (α -токоферола ацетат, ретинола ацетат, селенит натрия) и внутрибрюшинно (унитиол, аскорбиновая кислота) через 0,5, 6, 24 и 48 ч после радиационного воздействия в дозе 7,5 Гр. Как показали проведенные исследования, у мышей, облученных в минимальной абсолютно смертельной дозе, введение АОК-3 способствовало выживанию 20 % особей. АОК-5, в отличие от АОК-3, оказывал существенно более выраженное противолучевое действие: при введении этого комплекса выживаемость облученных мышей возросла до 40 % при 100 % гибели в контроле.

Таким образом, анализ источников современной литературы показал, что отечественными и зарубежными учеными в настоящее время проводится активная работа по поиску и изучению эффективных средств защиты от внешнего облучения среди препаратов из группы антиоксидантов с различными механизмами действия. Повышенное внимание уделяется веществам, способным непосредственно ингибировать активные кислородные метаболиты, образующиеся в процессе радиационно-индуцированного окислительного стресса. Показано, что радиозащитная эффективность некоторых антиоксидантов зависит напрямую от времени их введения (до или после облучения). Необходимо заметить, что применение большинства антиоксидантов перед воздействием

радиации часто оказывает более выраженный радиозащитный эффект, в отличие от альтернативных схем их использования.

Продолжается изучение возможности применения антиоксидантов при различных условиях воздействия ионизирующего излучения в зависимости от дозы и длительности воздействия. При отборе наиболее эффективной радиозащитной дозы установлено, что для целого ряда антиоксидантов существует оптимальный диапазон доз, при которых наблюдается наиболее выраженный защитный эффект; дальнейшее увеличение количества введенного препарата не сопровождается ростом защитной мощности при действии ионизирующего излучения.

Известно, что действие ионизирующего излучения приводит к увеличению продукции свободных радикалов, которые вызывают повреждение различных компонентов клетки, включая ДНК, белки, мембранные липиды, играющие важную роль в клетке. Противолучевые эффекты антиоксидантов зависят от свойств как собственно препарата, так и тех структур на уровне клетки или ткани, на которые препарат оказывает свое действие. Это является основанием для дальнейшего изучения особенностей радиозащитного действия этих препаратов на различные ткани и клеточные структуры. В значительной степени радиозащитные механизмы реализуются за счет способности антиоксидантов активировать (реактивировать) антиоксидантные ферменты; подавлять в организме реакции, приводящие к образованию активных форм кислорода; направлять реакции свободнорадикального окисления в сторону образования менее реакционноспособных соединений; селективно индуцировать гены, кодирующие белки систем антиоксидантной защиты и репарации повреждений; нормализовать обмен веществ и т.д. [30].

В заключении следует отметить, что изучение возможности использования антиоксидантов или их комбинаций как средств профилактики или терапии лучевых поражений требует проведения дальнейших исследований. В качестве наиболее перспективных радиозащитных средств рассматриваются антиоксиданты природного происхождения или их синтезированные аналоги. Это связано с их малой токсичностью и возможностью длительного применения в условиях воздействия радиации различной интенсивности и продолжительности. Разработка таких препаратов – одно из приоритетных направлений защиты организма человека от повреждающих факторов радиационной природы, в том числе и при проведении лучевой терапии.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Асадуллина Н.Р. Антиоксидантные свойства ксантозина при воздействии рентгеновского излучения / Н.Р. Асадуллина, С.В. Гудков, В.И. Брусков // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 10. – С. 22-25.
2. Асадуллина Н.Р. Радиозащитные свойства ряда пуриновых соединений: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук / Н.Р. Асадуллина. – М., 2012. – 26 с.
3. Бурлакова Е.Б. Антиоксиданты. Термины и определения / Е.Б. Бурлакова, В.М. Мисин, Н.Г. Храпова, А.Ю. Завьялов. – М.: Изд-во РУДН, 2010. – 63 с.
4. Верещако Г.Г. Противолучевые свойства селенометионина с метионином / Г.Г. Верещако, А.М. Ходосовская // Актуальные проблемы токсикологии и радиобиологии: Тез. докл. Рос. науч. конф. с междунар. участием. – СПб: Фолиант, 2011. – С. 219
5. Голиченков В.А. Мелатонин как антиоксидант: основные функции и свойства / В.А. Голиченков, А.Ю. Беспярых, О.В. Бурлакова // Усп. соврем. биол. – 2010. – № 5. – С. 487-496.
6. Иванов А.А. Противолучевая эффективность лактоферрина / А.А. Иванов, А.М. Уланова, Н.М. Ставракова и др. // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2009. – Т. 49, № 4. – С. 456-461.
7. Магира В.Ф. Клинико-экспериментальное обоснование раннего комплексного применения антиоксидантов при радиационных воздействиях на организм: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук / В.Ф. Магира. – СПб, 2002. – 26 с.
8. Меньшикова Е.Б. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньшикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков и др. – М.: Фирма «Слово», 2006. – 556 с.
9. Микуляк Н.И. Экспериментальное исследование эффективности препарата с антиоксидантным типом действия – мексидола на гемостаз при лучевой терапии / Н.И. Микуляк, П.В. Иванов, А.Г. Захаркин // Кубанский науч. мед. вестн. – 2009. – № 1. – Р. 72-76.
10. Миль Е.М. Влияние антиоксиданта фенозана и облучения в малой дозе на содержание белков p53 и bcl-2 у мышей разных линий / Е.М. Миль, А.А. Албантова, Е.Б. Бурлакова // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2010. – Т. 50, № 1. – С. 58-64.

11. Мороз Б.Б. Влияние мексидола на пострadiационное восстановление кроветворной системы / Б.Б. Мороз, Ю.Б. Дешевой, Г.В. Сукоян и др. // Радиационная биология. Радиозэкология. – 2009. – Т. 49, № 1. – С. 90-96.
12. Пикалова Л.В. Генопротективные эффекты мелатонина при химических и радиационных воздействиях: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук / Л.В. Пикалова. – СПб, 2012. – 23 с.
13. Bakir M.A. Radioprotective effects of selenium in rats / M.A. Bakir, G. Alya, A. Mohammad et al. // J. Radioanal. Nucl. Chem. – 2005. – Vol. 266, № 2. – P. 165-170
14. Bhatia A.L. Radiation protection by an isoflavone, genistein: a study on the survivability of mice / A.L. Bhatia, A. Gaur, A. Sharma // Nucl. Techn. Rad. Protect. – 2007. – Vol. 22, № 1. – P. 34-39.
15. Calveley V.L. Genistein can mitigate the effect of radiation on rat lung tissue / V.L. Calveley, S. Jelveh, A. Langan et al. // Radiat. Res. – 2010. – Vol. 173, № 5. – P. 602-611.
16. Davis T.A. Genistein induces radioprotection by hematopoietic stem cell quiescence / T.A. Davis, O. Mungunsukh, S. Zins et al. // Int. J. Radiat. Biol. – 2008. – Vol. 84, № 9. – P. 713-726.
17. Davis T.A. Subcutaneous administration of genistein prior to lethal irradiation supports multilineage, hematopoietic progenitor cell recovery and survival / T.A. Davis, T.K. Clarke, S.R. Mog, M.R. Landauer // Int. J. Radiat. Biol. – 2007. – Vol. 83, № 3. – P. 141-151.
18. Day R.M. Genistein protects against biomarkers of delayed lung sequelae in mice surviving high-dose total body irradiation / R.M. Day, M. Barshishat-Kupper, S.R. Mog et al. // J. Radiat. Res. – 2008. – Vol. 49, № 4. – P. 361-372.
19. Epperly M.W. Mitochondrial targeting of a catalase transgene product by plasmid liposomes increases radioresistance in vitro and in vivo / M.W. Epperly, J.A. Melendez, X. Zhanga et al. // Radiat. Res. – 2009. – Vol. 171, № 5. – P. 588-595.
20. Jagetia G.C. Radioprotective potential of plants and herbs against the effects of ionizing radiation / G.C. Jagetia // J. Clin. Biochem. Nutr. – 2007. – Vol. 40, № 1. – P. 74-81.
21. Kilsiksiz S. The effect of N-acetylcysteine on biomarkers for radiation-induced oxidative damage in a rat model / S. Kilsiksiz, C. Demirel, N. Fridal et al. // Acta Med. Okayama. – 2008. – Vol. 62, № 6. – P. 403-409.
22. Koc M. The effect of melatonin on peripheral blood cells during total body irradiation in rats / M. Koc, M.E. Buyukokuroglu, S. Taysi et al. // Biol. Pharm. Bull. – 2002. – Vol. 25, № 5. – P. 656-657.

23. Kumar K.S. Nutritional approaches to radioprotection: vitamin E / K.S. Kumar, V. Srinivasan, R. Toles et al. // *Military Med.* – 2002. – Vol. 167, № 1. – P. 57-59.
24. Kruk I. Scavenging of reactive oxygen species by the plant phenols genistein and oleuropein / I. Kruk, H.Y. Aboul-Enein, T. Michalska et al. // *Luminescence.* – 2005. – Vol. 20, № 2. – P. 81-89.
25. Manda K. α -Lipoic acid attenuates X-irradiation-induced oxidative stress in mice / K. Manda, M. Ueno, T. Moritake et al. // *Cell Biol. Toxicol.* – 2007. – Vol. 23, № 2. – P. 129-137.
26. Mortensen A. Analytical and compositional aspects of isoflavones in food and their biological effects / A. Mortensen, S.E. Kulling, H. Schwartz et al. // *Mol. Nutr. & Food Res.* – 2009. – Vol. 53, Is. S2. – P. S266-S309.
27. Landauer M.R. Genistein treatment protects mice from ionizing radiation injury / M.R. Landauer, V. Srinivasan, T.M. Seed et al. // *J. Appl. Toxicol.* – 2003. – Vol. 23. – P. 379-385.
28. Landauer M.R. Phytoestrogenic isoflavone compositions, their preparation and use thereof for protection against and treatment of radiation injury / M.R. Landauer, T.M. Seed, V. Srinivasan et al. // *Patent application publication N US 2010/0197779 A1.* – 2010.
29. Landauer M.R. Protection against lethal irradiation by genistein / M.R. Landauer, S.V. Srinivasan, A. Shapiro et al. // *Int. J. Toxicol.* – 2000. – № 19. – P. 37-43.
30. Okunieff P. Antioxidants reduce consequences of radiation exposure / P. Okunieff, S. Swarts, P. Keng et al. // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2008. – Vol. 614. – P. 165-178.
31. Reiter R. Melatonin as a radioprotective agent / R. Reiter, D. Tan, T. Herman et al. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 2004. – Vol. 59, № 3. – P. 639-653.
32. Satyamitra M. In vivo postirradiation protection by a vitamin E analog, alpha-TMG / M. Satyamitra, D.P. Uma, H. Murase et al. // *Radiat. Res.* – 2003. – Vol. 160, № 6. – P. 655-661.
33. Seed T.M. Radiation protectants: current status and future prospects / T.M. Seed // *Health Phys.* – 2005. – Vol. 89, № 5. – P. 531-545.
34. Singh V.K. Effects of genistein administration on cytokine induction in whole-body gamma irradiated mice / V.K. Singh, M.B. Grace, V.I. Parekh et al. // *Int. Immunopharmacol.* – 2009. – Vol. 9, № 12. – P. 1401-1410.

35. Song L-H. Protective effects of soybean isoflavone gamma-irradiation induced damages in mice / L.-H. Song, H.-L. Yan, D.-L. Cai // J. Radiat. Res. – 2006. – Vol. 47. – P. 157-165.
36. Sorenson J.R. Essential metalloelement chelates facilitate repair of radiation injury / J.R. Sorenson, S.F. Soderberg, L.W. Chang et al. // Met. Based Drugs. – 2001. – Vol. 8, № 4. – P. 215-284.
37. Tabaczar S. Nitroxides as antioxidants – possibilities of their application in chemoprevention and radioprotection / S. Tabaczar, M. Talar, K. Gwozdzinski et al. // Postepy Hig. Med. Dosw. – 2011. – Vol. 65. – P. 46-54.
38. Traganos F. Effects of genistein on the growth and cell cycle progression of normal human lymphocytes and human leukemic MOLT-4 and HL-60 cells / F. Traganos, B. Ardelt, N. Halko et al. // Cancer Res. – 1992. – Vol. 52, № 22. – P. 6200-6208.
39. Verdrengh M. Genistein as an anti-inflammatory agent / M. Verdrengh, I.M. Jonsson, R. Holmdahl et al. // Inflam. Res. – 2003. – Vol. 52, № 8. – P. 341-346.
40. Wei H. Antioxidant and antipromotional effects of the soyabean isoflavone genistein / H. Wei, R. Bowen, Q. Cai et al. // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. – 1998. – Vol. 208. – P. 124-130.
41. Weiss J.F. Radioprotection by antioxidants / J.F. Weiss, M.R. Landauer // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2000. – Vol. 899. – P. 44-60.
42. Whanger P.D. Selenocompounds in plants and animals and their biological significance / P.D. Whanger // J. Am. Coll. Nutr. – 2002. – Vol. 21, № 3. – P. 223-232.
43. Zhang Y.C. Isoflavone profile and biological activity of soya bread // Y.C. Zhang, D. Albrecht, J. Bomer et al. // J. Agric. Food Chem. – 2003. – Vol. 51. – P. 7611-7616.
44. Zhao W. Oxidative damage pathways in relation to normal tissue injury / W. Zhao, D.I. Diz, M.E. Robbins // Br. J. Radiol. – 2007. – Vol. 80. – P. 23-31.
45. Zhou Y. Genistein stimulates hematopoiesis and increases survival in irradiated mice / Y. Zhou, M. Mi // J. Radiat. Res. – 2005. – Vol. 46. – P. 425-433.