

УТВЕРЖДАЮ:

Директор Института экспериментальной радиологии Научного центра радиационной медицины АМН Украины
докт. мед. наук В.В.Талько



(Handwritten signature)

ОТЧЕТ

о выполненной научно-исследовательской работе по теме “Исследовать радиопротекторные свойства препарата ВС-1”.

Работа выполнена совместно в отделе радиобиологии Института экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е.Кавецкого НАН Украины (зав отделом докт.биол.наук, проф. Я.И. Серкиз) и лаборатории радиационной цитологии (зав.лаб., докт. биол. наук Г.М.Чоботько) Института экспериментальной радиологии Научного центра радиационной медицины АМН Украины.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Препарат ВС-1 это таблетки Доновит-ВС с содержанием ацетилбензоилаконина 0,00125 мкг. Исследования выполнены на 3-х месячных половозрелых крысах-самцах линии Вистар. Животных облучали однократно на рентгеновском аппарате РУМ-17: фильтры Си 0,5 мм + Al 1 мм, мощность экспозиционной дозы 0,529 мА/кг.

Начиная со дня облучения, животным каждый день перед экспозицией в течение 30 сут. с питьевой водой давали препарат ВС-1. Расчетное количество препарата на одно животное составляло двойную дозу (пересчитанную на массу тела крысы), рекомендованную для человека. Препарат животным давали в виде водного раствора в количестве 10 мл на животное в сутки.

Животные были разделены на 11 групп:

- 1- контрольные (интактные) животные;
- 2- облученные в дозе 3 Гр;
- 3- облученные в дозе 3 Гр + препарат ВС-1;
- 4- облученные в дозе 5 Гр;
- 5- облученные в дозе 5 Гр + препарат ВС-1;
- 6- облученные в дозе 6 Гр;
- 7- облученные в дозе 6 Гр +препаратВС-1;
- 8- облученные в дозе 7 Гр;
- 9- облученные в дозе 7 Гр + препарат ВС-1;
- 10- облученные в дозе 9Гр;
- 11- облученные в дозе 9 Гр + препарат ВС-1.

Каждая группа состояла из 100 шт. животных. Во всех группах животных изучали динамику гибели в течение 30 суток от момента облучения (табл.1), что является общепринятым при выполнении опытов на мелких лабораторных животных. В этой серии опыта использовано 11 групп x 100 животных = 1100 крыс.

С целью оценки состояния процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) у облученных животных, а также в динамике приема препарата ВС-1, исследовали содержание в плазме крови липопротеинов очень низкой плотности (ЛОНП), низкой плотности (ЛНП) и высокой плотности (ЛВП). Липопротеины плазмы крови извлекали однократным [1] и последовательным [2] ультрацентрифугированием в солевой среде при заданной плотности. Ультрацентрифугирование проводили в течение 60 минут при температуре 15 град. С на приборе L 8-80 Beckman с использованием вертикального ротора TV 865 при скорости 65000 г. Распределение липопротеинов изучали с

помощью метода дискэлектрофореза в полиакриламидном геле [3] с использованием для денситометрии гелей на длине волны 560 нм прибора "Camag".

Для оценки интенсивности ПОЛ изучали первичные продукты - диеновые конъюгаты (ДК) по модифицированному методу В.П. Гаврилова [4] при длине волны 233нм, а также вторичные продукты ПОЛ - малоновый диальдегид (МДА) по методу С.В.Андреевой [3] при длине волны 532нм.

Для изучения липопротеинов и продуктов ПОЛ в плазме крови взяты аналогичные группы животных в количестве 7 шт в каждой. Показатели исследовали а сроки: 0.5; 1; 6; 12; 24 и 720 суток после облучения (табл.2 и 3). В этой серии опыта использовано: 11 групп x 6 сроков x 7 животных = 462 животных.

Всего в эксперименте использовано $1100+462=1562$ животных.

Результаты исследований обработаны статистически по общепринятому критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Курсовое применение препарата ВС-1 в течение 30 суток после однократного облучения животных рентгеновскими лучами существенно уменьшает их гибель при неабсолютно летальных дозах радиации (табл.1). При дозе 3 Гр использование ВС-1 к гибели животных не приводило. При дозе 5 ГР+ВС-1 гибель сокращалась на 70%, при дозе 6ГР - на 24%. При больших дозах радиации 7-9 Гр препарат был неэффективен.

Липопротеины плазмы крови, как известно, выполняют транспортную функцию, обеспечивая клетки и их мембранные структуры холестерином, триглицеридами, фосфолипидами, жирорастворимыми витаминами, гормонами и др., что существенным образом влияет на функции отдельных систем организма.

Для удобства пользования данными, приведенными в табл. 2 и 3 номера групп животных в этих таблицах приведены в соответствие с номерами групп и условиями опыта, указанными в табл.1.

Результаты исследований (табл.2) указывают на то, что препарат в основном для всех классов липопротеинов проявляет протекторное действие, начиная с 12-ти часов после облучения (при условии введения его животным до облучения). Максимальное действие препарата отмечено к концу сроков наблюдения (30-м суткам). Установлено также, что аналогично критерию выживаемости животных, препарат оказывает стабилизирующее действие при дозах включающих 6 ГР.

По содержанию первичных и вторичных продуктов ПОЛ (табл.3) радиопротекторные свойства препарата ВС-1 также сохраняются в области доз радиации 3 и 5 Гр.

Таким образом, в результате выполненной работы установлено, что препарат ВС-1 обладает радиопротекторными свойствами. По критерию выживаемости животных, который является основным при такого рода испытаниях, эти свойства препарата проявляются существенным образом при дозах 3 -5 Гр. При дозе 6 Гр действие препарата является незначительным и при больших дозах радиации 7 - 9 Гр восстановительные свойства препарата не проявляются. Следует учесть, что препарат ВС-1 близким к тесту выживаемости образом оказывает стабилизирующее влияние на радиогенные изменения отдельных показателей ПОЛ. Это позволяет сделать важный вывод о возможном механизме его действия. Судя по направлению изменений содержания и соотношения разных классов липопротеинов и продуктов перекисного окисления в динамике у облученных животных, препарат ВС-1, очевидно, положительным образом влияет на систему регуляции клеточного метаболизма и в первую очередь мембранного комплекса, на синтез и транспорт составляющих липидов, гормонов, витаминов и других веществ.

Табл. 1. Количество погибших животных после однократного облучения, а также после действия радиации и препарата ВС-1.

Группы	Условия опыта	Сутки после облучения															Всего погибло к 30 сут.		
		0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28		30	
1	Контроль	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2	3Гр	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
3	3Гр+ВС-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	5Гр	0	1	1	1	2	3	3	1	2	1	0	1	0	1	0	0	0	17
5	5Гр+ВС-1	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	5
6	6Гр	1	2	3	4	4	5	6	6	5	4	3	2	2	1	0	1	49	
7	6Гр+ВС-1	1	3	2	3	3	4	4	4	3	4	2	1	2	0	1	0	37	
8	7Гр	3	5	8	7	9	9	8	6	7	4	5	3	2	4	1	2	83	
9	7Гр+ВС-1	4	4	6	8	9	8	10	7	6	5	4	2	4	3	0	1	81	
10	9Гр	8	8	10	16	15	13	16	8	5	1							100	
11	9Гр+ВС-1	7	9	12	15	14	17	13	7	4	2							100	

Табл.2. Содержание липопротеинов очень низкой плотности (ЛОНП), низкой плотности (ЛНП) и высокой плотности (ЛВП) в плазме крови животных после однократного облучения а также после действия радиации и препарата ВС-1, % к контролю.

№ групп жив.	Липо-протеины	Время после облучения, часы					
		0.5	1.0	6.0	12	24	720
2	ЛОНП	107±11	142±16	149±10	154±14	162±17	167±13
	ЛНП	101±9	105±8	108±11	113±10	119±12	121±8
	ЛВП	97±7	95±11	89±9	83±6	77±8	81±9
3	ЛОНП	105±11	141±13	145±15	134±13	112±14	104±11
	ЛНП	103±10	105±9	101±8	102±11	100±9	108±12
	ЛВП	101±9	94±11	102±9	95±8	92±7	97±10
4	ЛОНП	113±12	167±18	179±17	186±19	192±20	198±21
	ЛНП	103±9	107±11	116±12	125±14	130±13	133±15
	ЛВП	93±8	89±10	80±9	65±7	58±6	56±9
5	ЛОНП	114±13	169±18	167±16	160±15	148±13	141±16
	ЛНП	102±11	108±9	105±11	112±10	117±12	119±13
	ЛВП	95±8	92±9	88±11	77±8	79±9	71±10
6	ЛОНП	116±11	172±19	190±21	198±21	205±23	213±24
	ЛНП	104±9	109±10	121±12	131±14	139±15	142±17
	ЛВП	91±8	86±9	74±8	58±9	49±7	47±8
7	ЛОНП	117±10	171±18	192±21	191±20	186±21	182±19
	ЛНП	105±8	112±11	119±13	116±13	125±14	131±15
	ЛВП	92±9	88±10	71±8	62±8	50±7	54±8
8	ЛОНП	119±12	178±19	194±21	205±22	212±23	218±19
	ЛНП	102±9	113±12	120±11	133±14	144±15	151±18
	ЛВП	90±8	82±9	75±8	53±9	40±5	38±5
9	ЛОНП	116±13	179±18	197±16	201±23	203±21	201±19
	ЛНП	103±11	114±10	116±11	135±14	138±15	140±13
	ЛВП	91±9	79±9	73±8	54±7	43±9	39±8
10	ЛОНП	129±14	185±17	206±21	213±24	222±26	
	ЛНП	103±11	112±10	125±13	137±15	148±16	
	ЛВП	86±10	80±9	67±8	49±7	31±5	
11	ЛОНП	132±15	181±19	209±22	207±20	219±19	
	ЛНП	104±11	115±12	128±10	134±15	145±1	
	ЛВП	85±9	82±11	71±7	50±8	29±5	

Табл.3. Содержание продуктов перекисного окисления липидов: диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА) в плазме крови животных после однократного облучения, а также после действия радиации и препарата ВС-1, ммоль/л.

Показатели нормы: ДК=0.79±0.12ммоль/л, МДА= 1.39±0.14ммоль/л.

№ № груп жив.	Прод- укты ПОЛ	Время после облучения, часы					
		0.5	1.0	6	12	24	720
2	ДК	0.89 ±0.09	1.71±0.18	1.68±0.19	1.50±0.13	1.41±0.15	1.9±0.20
	МДА	1.35 ±0.12	1.50±0.17	1.61±0.21	1.72±0.16	2.25±0.24	2.60±0.31
3	ДК	0.91±0.09	1.15±0.20	0.93±0.08	0.86±0.09	0.77±0.08	0.72±0.09
	МДА	1.29±0.14	1.40±0.17	1.35±0.12	1.41±0.13	1.46±0.13	1.57±0.19
4	ДК	0.92±0.11	2.53±0.22	2.54±0.27	2.32±0.24	2.28±0.31	2.17±0.24
	МДА	1.75±0.18	2.10±0.25	2.31±0.28	2.52±0.27	3.25±0.34	3.73±0.41
5	ДК	0.94±0.11	2.43±0.19	2.38±0.25	2.11±0.20	1.75±0.22	1.60±0.19
	МДА	1.81±0.22	2.09±0.21	2.24±0.36	2.48±0.39	2.75±0.32	3.16±0.41
6	ДК	1.02±0.09	2.75±0.26	2.74±0.29	2.69±0.31	2.75±0.26	2.26±0.25
	МДА	1.76±0.19	2.19±0.24	2.65±0.28	3.03±0.41	3.59±0.43	4.28±0.56
7	ДК	0.98±0.12	2.73±0.31	2.68±0.24	2.71±0.37	2.52±0.28	2.49±0.52
	МДА	1.81±0.17	2.18±0.19	2.67±0.29	3.04±0.33	3.51±0.37	4.12±0.49
8	ДК	1.07±0.13	2.85±0.32	3.06±0.41	3.07±0.36	3.14±0.30	3.21±0.38
	МДА	2.01±0.19	2.28±0.33	2.75±0.36	3.29±0.35	3.78±0.40	4.63±0.54
9	ДК	1.12±0.09	2.96±0.28	3.11±0.40	3.18±0.35	3.23±0.34	
	МДА	2.36±0.25	2.59±0.33	2.84±0.31	3.49±0.42	4.17±0.40	
10	ДК	1.12±0.09	2.96±0.28	3.11±0.40	3.18±0.35	3.23±0.34	
	МДА	2.36±0.25	2.59±0.33	2.84±0.31	3.49±0.42	4.17±0.39	
11	ДК	0.99±0.12	2.91±0.32	3.16±0.37	3.09±0.34	3.34±0.43	
	МДА	2.33±0.29	2.48±0.31	2.79±0.36	3.52±0.38	4.10±0.55	

ВЫВОДЫ:

1. По критерию пострadiационной гибели животных препарат ВС-1 проявляет значительное радиопротекторное действие в диапазоне величин поглощенных доз радиации до 5 Гр.
2. Препарат ВС-1 существенным образом снижает интенсивность ПОЛ, обусловленную радиационным воздействием в диапазоне доз 3 - 5 Гр.
3. Препарат ВС-1 направленным образом приводит к определенному восстановлению содержания и соотношения липопротеинов крови, что может иметь положительное влияние на клеточный метаболизм облученных животных. Этот эффект также проявляется в диапазоне доз 3-5 Гр.
4. При дозах радиации 7-9 Гр препарат ВС-1 является неэффективным.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chung B.H., Geer J.C., Segrest J.P. Preparative and quantitative isolation of plasma lipoproteins: rapid, single discontinuous density gradient ultra centrifugation in a vertical rotor // J. Lipid Res. -1980. -21, №3. -P.284-291.
2. Lindgren F.T., Jensen L.S., Hatch F.T. The isolation and quantitative analysis of serum lipoproteins // Blood lipids and lipoproteins, composition and metabolism. Ed. G.I. Nelson, - New York, 1972. -P. 181 -193.
3. Андреева С.В., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекиси липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. Дело. -1988. -№11. - С.41-44.
4. Гаврилов В.Б., Гаврилова Л.Р., Хмара Н.Ф. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гептановых и изопропиловых экстрактов // Лаб. Дело. -1988. -№2. -С.60-63.

Зав. лабораторией радиационной цитологии
Института экспериментальной радиологии
НЦРМ АМН Украины
доктор биологических наук

 Ф.М. Чоботко

Зав. отделом радиобиологии
Института экспериментальной патологии,
онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого
НАН Украины
доктор биологических наук, профессор

 Я.И. Серкиз