

УДК 612.1

DOI:10.54503/0514-7484-2024-64.3-121

Влияние комплексов меди $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ и $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ на организм крыс, облученных радиоизотопным технецием

А.Г. Карапетян¹, В.С. Григорян^{1,2}, А.М. Даллакян¹,
Г.Г. Хачатрян³

¹ Институт физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА,
0028, Ереван, ул. Бр. Орбели, 22,

² Университет традиционной медицины,
0040, Ереван, ул. Маршала Бабаджаняна, 3,

³ Национальный центр ожогов и дерматологии,
0054, Ереван, Давташен, 25а

Ключевые слова: митотический индекс, хромосомные aberrации, процент полиплоидных клеток в костномозговых клетках бедренной кости, цитогенетические показатели, облучение, радиоизотопный технеций

Известно, что важным повреждающим ДНК фактором является облучение организма ионизирующим излучением (ИИ), прямым признаком которого является дестабилизация хромосом [5,9]. Радиационно-индуцированные повреждения кариотипа являются важным показателем как для биологической индикации тяжести лучевых поражений, так и для прогнозирования развития отдаленных неблагоприятных эффектов ИИ.

На протяжении многих лет проводились исследования, направленные на поиск чувствительных биологических маркеров, специфичных для радиационного воздействия [3,8].

В настоящее время одними из немногих биологических показателей – маркеров (наряду с ЭПР-спектроскопией эмали зубов), являются хромосомные aberrации (ХА) в лимфоцитах периферической крови [4].

Одной из приоритетных задач современной радиобиологии является поиск новых, эффективных радиозащитных соединений. В этой области особый интерес представляют металлоорганические комплексы, обладающие высокой антиоксидантной активностью. Возможность защитить организм от поражающего действия ионизирующей радиации у подобных комплексов была отмечена как в научных трудах некоторых авторов [6,7], так и в работах сотрудников Института физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА [1,2].

В работе проведен цитогенетический скрининг новых синтезированных химических комплексов: $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ и $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$.

Материал и методы

С целью исследования возможного благоприятного радиопротекторного действия комплексных соединений меди $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ (комплекс 1) и $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ (комплекс 2) на облученный организм, мы изучили цитогенетические показатели в 4 группах экспериментальных животных (белые, беспородные, половозрелые крысы-самцы средней массой 180 г, по 10 крыс в каждой группе). Цитогенетическое обследование включало анализ хромосом с окраской Гимза.

В I группу вошли интактные животные; II группу составили животные, находившиеся под воздействием радиоизотопа технеция (Tc), которым внутрибрюшинно вводили изотоп активностью 4,8 мКи в объеме 2 мл – чистое облучение; III группу составили животные, которым внутрибрюшинно вводили комплекс меди $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ дозой 50 мг/кг в объеме 2 мл за час до введения изотопа Tc (облучение + соединение меди $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ (комплекс 1, рис. 1а); в IV группу были вовлечены животные, которые до облучения получили соединение $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ (комплекс 2, рис. 1б).

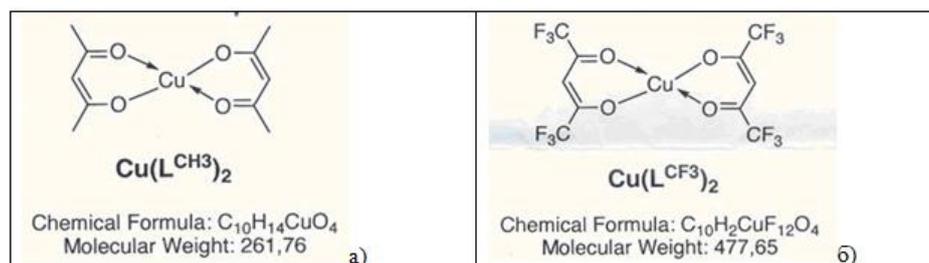


Рис. 1. Структуры и формулы $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ (а) и $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ (б)

Изучали выживаемость и цитогенетические параметры (по методу Форда-Воллама), определяли митотический индекс (МИ), ХА и процент полиплоидных клеток (ППК) в костномозговых клетках бедренной кости (подсчет в 1000 клетках в каждом препарате).

Анализ данных проводился с помощью ряда специализированных статистических пакетов: Statsoft и SPSS-10.0. Использовали регрессионный и корреляционный методы анализа.

Результаты и обсуждение

Была рассчитана выживаемость животных в 4 группах. В группе интактных животных выживаемость составила 100%, во II группе составила 40%, в III группе при инъекции соединения $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ – 100%, а

в группе IV– 90%. Динамика выживаемости была описана регрессионными уравнениями:

$$\begin{aligned} y_1 &= y_4 = 100 + 0 \lg(x), \\ y_2 &= 77,5018 - 30,38 \lg(x), \\ y_3 &= 104,38 - 10,53 \lg(x), \end{aligned}$$

где x – день эксперимента, y_1 – выживаемость интактных животных, y_2 – выживаемость при чистом облучении, y_3 – при облучении + инъекция $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$, а y_4 – при облучении + инъекция $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$. Приведенные регрессионные уравнения дают возможность с помощью экстраполяции определять изменение процента выживаемости в отдаленных сроках эксперимента и прогнозировать дальнейший исход эксперимента.

Анализируя кариотип и пролиферативную активность вышеуказанных клеток, мы получили цитогенетические показатели этих групп, результаты которых приведены в таблице (приведены только достоверные значения изменений цитогенетических показателей).

Таблица

Цитогенетические показатели 4 групп: норма, чистое облучение, облучение + $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ и облучение + $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ на 30-е сутки эксперимента

Показатели	Норма (I группа)	Tc (II группа)	Tc+ $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ (III группа)	Tc+ $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ (IV группа)
МИ, %	20,35±2,8	9,8±0,96	19,1±0,8*	15,8±0,17*
ХА, %	2,6±0,26	6,8±0,74	3,7±0,4*	4,4±0,48*
ППК, %	0,5±0,08	4,6±0,53	1,2±0,3*	2,1±0,26*

* достоверное различие при сравнении показателей II группы (чистое облучение с III и IV группами)

При анализе результатов исследования групп животных – чистое облучение, облучение + комплекс 1 и облучение + комплекс 2, мы обнаружили значительную разницу в цитогенетических показателях между этими группами. Так, по всем 3 показателям наблюдается достоверное различие между интактными и облученными животными ($p < 0,05$), т.е. эти показатели могут рассматриваться как маркеры облучения Tc. По показателям МИ, ХА и ППК обнаружено достоверное различие у облученных по сравнению с группами: облучение + $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ и облучение + $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ спустя 30 суток, что свидетельствует о радиопротекторном свойстве соединений. Показатель выживаемости и результаты мультирегрессионной зависимости при применении $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ подтверждают наибольшую эффективность этого соединения относительно $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$.

На рис. 2 приведены результаты мультирегрессионных зависимостей взаимовлияния цитогенетических показателей при инъекции $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$

и $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$. Приведены также уравнения мультирегрессионной зависимости между МИ, ХА и ППК в норме (x), при чистом облучении (y) и применении медьорганических комплексов (z) до облучения.

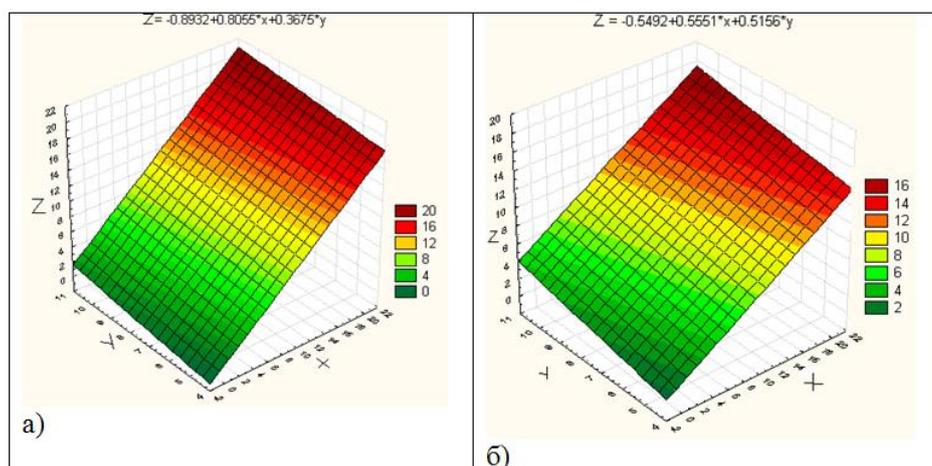


Рис. 2. Результаты мультирегрессионного анализа взаимовлияния цитогенетических показателей при инъекции $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ (а) и $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ (б)

Мультирегрессионный анализ цитогенетических показателей, наряду со стандартными статистическими методами, подтвердил наибольшую эффективность соединения $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ относительно $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$.

При облучении Тс были обнаружены следующие нарушения: двойной фрагмент, делеция, полиплоид (рис. 3). Их количество было резко уменьшено после введения комплексов 1 и 2, что также подтверждает эффективность их благотворного (радиопротекторного) действия.

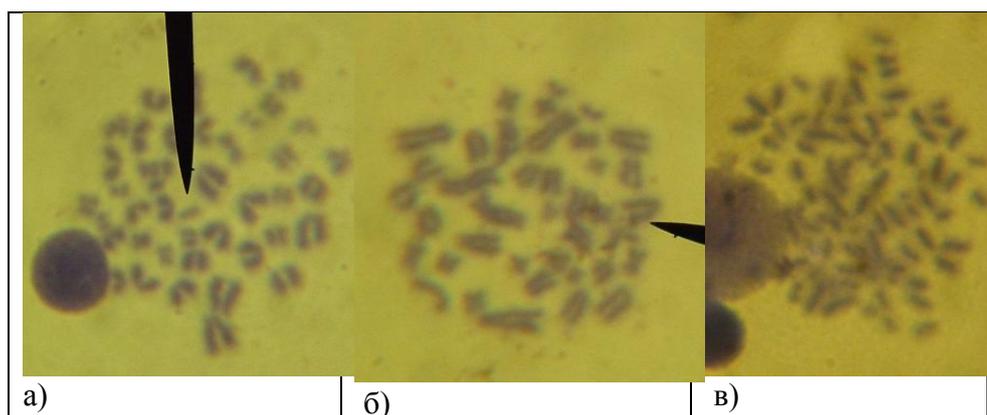


Рис. 3. Цитогенетические нарушения, обнаруженные при влиянии технеция: а) двойной фрагмент, б) делеция, в) полиплоид

Исследуя все 3 цитогенетических показателя, мы обнаружили достоверное различие между интактными и облученными животными, т.е. эти показатели могут рассматриваться как маркеры облучения изотопом Тс. Определив выживаемость и цитогенетические показатели МИ, ХА и ППК в костномозговых клетках бедренной кости, выявили, что наибольшим значением выживаемости была отмечена группа с инъекцией комплекса 1.

По этим 3 показателям обнаружено достоверное различие у облученных по сравнению с группой облучение + $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ и облучение + $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ спустя 30 суток, что свидетельствует о радиопротекторном свойстве обоих соединений и доказывает благотворное влияние этих соединений. Анализ выживаемости, изменения цитогенетических показателей, мультирегрессионный анализ при использовании 2 комплексов также подтверждает наибольшую эффективность $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ относительно $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$.

Результаты исследований свидетельствуют о необходимости продолжения работ в направлении поиска средств, обладающих терапевтическим воздействием при радиационных поражениях.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Комитета по науке РА в рамках научного проекта № 21Т-1F126

Поступила 28.03.24

**$\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ և $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ պղնձի համալիրների ազդեցությունը
ռադիոիզոտոպ տեխնեցիումով ճառագայթված առնետների
օրգանիզմի վրա**

**Ա.Գ. Կարապետյան, Վ.Ս. Գրիգորյան, Ա.Մ. Դավլաթյան ,
Գ.Հ. Խաչատրյան**

Բջջի վրա իոնացնող ճառագայթման (ԻՃ) ազդեցության առաջին և անմիջական նշաններից մեկը քրոմոսոմների ապակայունացումն է: Կարիոտիպի ճառագայթահարման հետևանքով առաջացած վնասը կարևոր ցուցանիշ է ինչպես ճառագայթային վնասվածքների ծանրության կենսաբանական ցուցման, այնպես էլ ԻՃ երկարաժամկետ անբարենպաստ հետևանքների զարգացումը կանխատեսելու համար:

Նոր, արդյունավետ ռադիոպաշտպանիչ միացությունների որոնումը ժամանակակից ռադիոկենսաբանության առաջնահերթ խնդիրն է: Այս ոլորտում առանձնահատուկ հետաքրքրություն են ներկայացնում բարձր հակաօքսիդանտ ակտիվությամբ օրգանամետաղական համալիրները:

Այս աշխատանքի նպատակն է որոշել $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ և $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ համալիրների հնարավոր ռադիոպաշտպանիչ հատկությունները:

Որոշված են ապրելունակության և ցիտոգենետիկ պարամետրերը՝ միտոտիկ ինդեքսը, քրոմոսոմային շեղումները և պոլիպլոիդ բջիջների տոկոսը ոսկրածուծի բջիջներում (յուրաքանչյուր պատրաստուկում 1000 բջջի հաշվարկ):

I խումբը ներառում էր ինտակտ կենդանիներ, II խումբը բաղկացած էր ռադիոիզոտոպային տեխնեցիումի ազդեցության ենթարկված կենդանիներից, III խումբը բաղկացած էր կենդանիներից, որոնց ներերակային ներարկվել է պղնձի կոմպլեքս $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ 50 մգ/կգ 2 մլ ծավալով Tc-ի ընդունումից մեկ ժամ առաջ իզոտոպ (ճառագայթում + պղնձի միացություն՝ $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$, (կոմպլեքս 1): IV խմբում ներառված էին կենդանիներ, որոնք ստացել էին $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$, (կոմպլեքս 2) միացությունը մինչև ճառագայթումը:

$\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ համալիրի ներարկումով խմբերն ունեցել են ամենաբարձր ապրելունակությունը:

Ցուցանիշների առումով՝ քրոմոսոմային շեղումներ և պոլիպլոիդ բջիջների քանակ, զգալի տարբերություն է հայտնաբերվել ճառագայթվածների մեջ՝ համեմատած «ճառագայթում + $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ », «ճառագայթում + $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ » խմբերի հետ (30 օր հետո), ինչը ցույց է տալիս միացությունների ռադիոպաշտպանիչ հատկության առկայությունը: Ապրելունակության վերլուծությունը, բջջագենետիկ պարամետրերի փոփոխությունները, մուլտիոեգրեսիոն վերլուծությունը 2 կոմպլեքսների օգտագործմամբ հաստատում են $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ -ի ամենամեծ արդյունավետությունը $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ -ի համեմատ:

Ցիտոգենետիկ պարամետրերի մուլտիոեգրեսիոն վերլուծությունը նույնպես հաստատեց $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ միացության ամենաբարձր ճառագայթապաշտպանիչ հատկությունը $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ -ի համեմատ:

Հետազոտության արդյունքները վկայում են ճառագայթային վնասվածքների դեպքում բուժական ազդեցություն ունեցող միացությունների որոնման ուղղությամբ աշխատանքները շարունակելու անհրաժեշտության մասին:

Effect of Copper Complexes $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ and $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ on the Organism of Rats Irradiated with Radioisotope Technetium

A.G. Karapetyan, V.S. Grigoryan, A.M. Dallakyan, G.H. Khachatryan

One of the first and direct signs of the impact of ionizing radiation (IR) on a cell is the destabilization of chromosomes. Radiation-induced damage to the karyotype is an important indicator both for biological indication of the severity of radiation injuries and for predicting the development of long-term adverse effects of IR.

The search for new, effective radioprotective compounds is a priority task of modern radiobiology. In this area, organometallic complexes with high antioxidant activity are of particular interest.

The purpose of this work is to determine the possible radioprotective properties of the $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ and $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ complexes.

Determined survival, life expectancy and cytogenetic parameters: mitotic index, chromosome aberrations and % of polyploid cells in the bone marrow cells of the femur (count in 1000 cells in each preparation).

Group I included intact animals; Group II consisted of animals exposed to the radioisotope technetium, group III consisted of animals that were intraperitoneally injected with copper complex $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ at a dose of 50 mg/kg in a volume of 2 ml one hour before the administration of the Tc isotope (“irradiation + copper compound $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ (complex 1). Group IV included animals that received the compound $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ (complex2) before irradiation.

The groups with the injection of $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ complex had the highest survival .

In terms of indicators: chromosomal aberrations and the number of polyploid cells, a significant difference was found in those irradiated compared with the “irradiation + $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ ” group (after 30 days), which indicates the radioprotective property of the compound. Analysis of survival, changes in cytogenetic parameters, multiregression analysis using 2 complexes confirms the greatest efficiency of $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ relative to $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$.

Multiregression analysis of cytogenetic parameters also confirmed the highest efficiency of the $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CH}_3})_2$ compound relative to $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$.

The results of the research indicate the need to continue work in the direction of searching for agents that have a therapeutic effect in radiation injuries.

Литература

1. *Карапетян А.Г., Сантини К., Малакян М.Г.* Оценка длительности и эффективности радиозащитного действия новых синтезированных соединений. Мед. наука Армении НАН РА, 2019, т. LIX, 2, с.12– 19.
2. *Карапетян А.Г., Даллакян А.М., Тоноян В.Д.* Цитогенетическая оценка радиозащитных свойств Cu и Mn хелатов Шиффовых оснований Никотинил-L-аминокислот. Мед. наука Армении НАН РА, 2019, т. LIX, 3, с.34– 40.
3. *Мазник Н.А., Винников В.А.* Уровень aberrаций хромосом в лимфоцитах периферической крови у эвакуантов из 30-км зоны ЧАЭС, у жителей радиоактивно-загрязненных территорий в отдаленные сроки после Чернобыльской аварии. Радиационная биология. Радиоэкология, 2002, т.42, 6, с.704 –710.
4. *Мазник Н.А.* Результаты динамического цитогенетического обследования и биологической дозиметрии у лиц, эвакуированных из 30-километровой зоны ЧАЭС, Радиационная биология. Радиоэкология, 2004, т.44, 5, с. 566–573.
5. *Мазурик В.К., Михайлов В.Ф.* Радиационно-индуцируемая нестабильность генома феномен, молекулярные механизмы, патогенетическое значение. Радиобиология и радиоэкология, 2001, т.41, 3, с. 272–289.
6. *Малакян М.Г., Баджиян С.А., Матосян В.А., Тоноян В.Д., Бабаян К.Н., Егиазарян Д.Э.* Аминокислотные Шиффовы основания и их Cu(II) хелаты – новые высокоэффективные радиопротекторы. Вестник Российской военно-медицинской академии, 2008, т.3, 23, с. 219.
7. *Малакян М.Г., Баджиян С.А., Матосян В.А.* Исследование радиозащитной и антирадикальной активности Шиффовых оснований, производных никотинальдегида и L-аминокислот. Новые технологии в медицине и экспериментальной биологии, 2007, с.44–46.
8. *Нугис В.Ю., Дудочкина Н.Е.* Цитогенетические показатели в отдаленные сроки после острого облучения людей. Компьютерный метод ретроспективной оценки дозы. Радиационная биология. Радиоэкология, 2007, т.47, 1, с.74–79.
9. *Bonassi S., Kirsh-Volders M., Stromberg U. et al.* Human population studies with cytogenetic biomarkers; review of literature and future prospectives. Environmental and Molecular Mutagenesis, 2005, v.45 (2), p. 258–270.