

УДК 615.8

DOI: 10.54503/0514-7484-2025-65.2-73

Проявление радиопротекторных свойств у органических комплексов $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ и $\text{C}_{46}\text{H}_{47}\text{CuF}_6\text{NP}_3$

А.Г. Карапетян¹, В.С. Григорян^{1,2}, К. Сантини³, М. Пеллеи³,
А.М. Даллакян¹, С.А. Фанарджян¹

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

²Университет традиционной медицины
0038, Ереван, ул. Бабаджаняна, 38,

³School of Science and Technology, University of Camerino, Italy

Ключевые слова: облучение, митотический индекс, хромосомные aberrации, процент полиплоидных клеток

Введение

Известно, что главным иницирующим событием после облучения организма является повреждение ДНК, на основании которого одним из первых и прямых признаков воздействия ионизирующего излучения (ИИ) на клетку рассматривается дестабилизация хромосом [5, 9]. На протяжении многих лет проводились исследования, направленные на поиск чувствительных биологических маркеров, специфичных для радиационного воздействия [3, 8].

Радиационно-индуцированные повреждения кариотипа являются важным показателем для биологической индикации тяжести лучевых повреждений. Радиационно-обусловленные нарушения цитогенетических показателей могут служить маркерами как неблагоприятных эффектов ИИ, так и восстановительных процессов при применении эффективных средств, обеспечивающих резистентность организма.

В настоящее время такими биологическими показателями – маркерами являются хромосомные aberrации в лимфоцитах периферической крови [4].

Одной из приоритетных задач современной радиобиологии является поиск новых 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.

Материал и методы

С целью исследования возможного благоприятного радиопротекторного действия комплексных соединений меди $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ (комплекс 1) и $\text{C}_{46}\text{H}_{47}\text{CuF}_6\text{NP}_3$ (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 (Тс), которым внутрибрюшинно вводили изотоп активностью 4,8 мКи в объеме 2 мл – «чистое» облучение; III группу составили животные, которым внутрибрюшинно вводили комплекс меди $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ дозой 50 мг/кг в объеме 2 мл за час до введения изотопа Тс – облучение + соединение меди $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ (комплекс 1). В IV группу были вовлечены животные, которые до облучения получили соединение $\text{C}_{46}\text{H}_{47}\text{CuF}_6\text{NP}_3$ (комплекс 2).

Изучали выживаемость и цитогенетические параметры (по методу Форда-Воллама), определяли митотический индекс (МИ), хромосомные аберрации (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 мультирегрессионный и корреляционный методы анализа.

Результаты и обсуждение

Была рассчитана выживаемость животных в 4 группах. В I группе интактных животных выживаемость составила 100%, выживаемость II группы составила 40%, в группе III – 90%, а в IV – 100%. Динамика выживаемости была описана регрессионными уравнениями:

$$y_1 = 100 + 0 \lg(x),$$

$$y_2 = 77,5018 - 30,38 \lg(x),$$

$$y_3 = 104,38 - 10,53 \lg(x),$$

$$y_4 = 100 + 0 \lg(x),$$

где x – день эксперимента, y_1 – выживаемость интактных животных, y_2 – выживаемость при «чистом» облучении Тс, y_3 – при облучении + инъекция $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$, а y_4 – при облучении + инъекция $\text{C}_{46}\text{H}_{47}\text{CuF}_6\text{NP}_3$. 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 (даны только достоверные значения изменений цитогенетических показателей).

Таблица

Цитогенетические показатели у 4 групп: норма, «чистое» облучение, комплекс 1 и комплекс 2 на 15-е и 30-е сутки эксперимента

Показатели	Норма (I группа)	Tc (II группа)	Tc+ Cu (L^{CF3}) ₂ (III группа), 15-е сутки	Tc+ Cu (L^{CF3}) ₂ (III группа), 30-е сутки	Tc+ C ₄₆ H ₄₇ CuF ₆ NP ₃ (IV группа), 15-е сутки	Tc+ C ₄₆ H ₄₇ CuF ₆ NP ₃ (IV группа), 30-е сутки
МИ, %	20,35±2,8	9,8±0,96	11,4±0,16	15,8±0,17*	14,8±1,6*	17,4±1,9*
ХА, %	2,6±0,26	6,8±0,74	5,0±0,51*	4,4±0,48*	4,2±0,52*	2,85±0,31*
ППК, %	0,5±0,08	4,6±0,53	2,2±0,24*	2,1±0,26*	3,2±0,41*	1,0±0,12*

* достоверное различие при сравнении показателей II группы с III и IV

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 ХА и ППК обнаружено достоверное различие у облученных по сравнению с группой облучение + Cu (L^{CF3})₂ (как спустя 15, так и 30 суток). По показателю МИ (пролиферативная активность) отмечены тенденция к нормализации спустя 15 суток и достоверное различие между группами II и III к концу исследования (спустя 30 суток). Выживаемость и изменение цитогенетических показателей при применении Cu (L^{CF3})₂ подтверждают наименьшую эффективность этого соединения относительно C₄₆H₄₇CuF₆NP₃. При применении C₄₆H₄₇CuF₆NP₃ в IV группе и сравнении было получено выраженное достоверное отличие от группы с «чистым» облучением по всем 3 показателям начиная с 15 суток.

На рис. 1 приведены результаты мультирегрессионных зависимостей взаимовлияния цитогенетических показателей при инъекции Cu (L^{CF3})₂ (а) и C₄₆H₄₇CuF₆NP₃ (б). Приведены также уравнения мультирегрессионной зависимости между МИ, ХА и ППК в норме (х), при «чистом» облучении (у) и применении медьорганических комплексов (z).

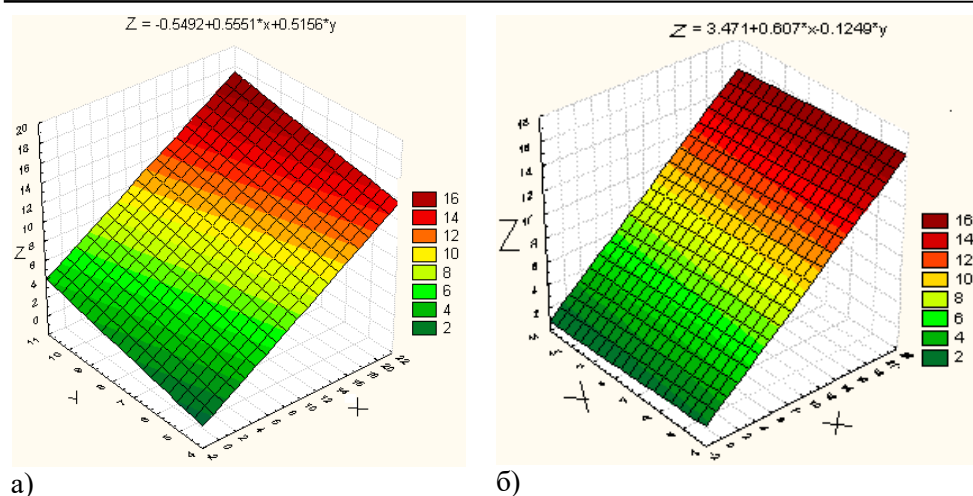


Рис.1. Результаты мультирегрессионного анализа взаимовлияния цитогенетических показателей при инъекции $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ (а) и $\text{C}_{46}\text{H}_{47}\text{CuF}_6\text{NP}_3$ (б)

Мультирегрессионный анализ цитогенетических показателей, наряду со стандартными статистическими методами, подтвердил наибольшую эффективность соединения $\text{C}_{46}\text{H}_{47}\text{CuF}_6\text{NP}_3$ относительно $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$.

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

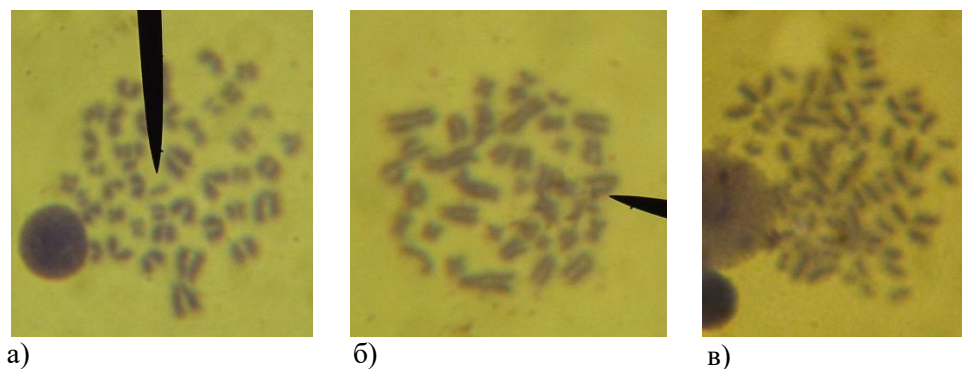


Рис. 2. Цитогенетические нарушения, обнаруженные при влиянии технеция:
а) двойной фрагмент, б) делеция, в) полиплоид

Заключение

Исследуя все 3 цитогенетических показателя, обнаружили достоверное различие между интактными и облученными животными, т.е. эти показатели могут рассматриваться как маркеры облучения изотопом Тс. Определив выживаемость и цитогенетические показатели: митотический индекс, хромо-

сомные аберрации и процент полиплоидных клеток в костномозговых клетках бедренной кости, выявили, что наибольшим значением выживаемости была отмечена группа с инъекцией комплекса 2.

По показателям ХА и ППК обнаружено достоверное различие у облученных по сравнению с группой облучение + $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ (как спустя 15, так и 30 суток), что свидетельствует о радиопротекторном свойстве соединения. По показателю митотического индекса (пролиферативная активность) при применении $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ отмечены тенденция к нормализации спустя 15 суток и достоверное различие между группами II и III к концу исследования (спустя 30 суток), что также доказывает благотворное влияние этого соединения. Анализ выживаемости, изменения цитогенетических показателей, мультирегрессионный анализ при использовании 2 комплексов подтверждает наибольшую эффективность $\text{C}_{46}\text{H}_{47}\text{CuF}_6\text{NP}_3$ относительно $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$, так как при применении $\text{C}_{46}\text{H}_{47}\text{CuF}_6\text{NP}_3$ в IV группе и сравнении с «чистым» облучением наблюдалось достоверное отличие этих групп по всем показателям и нормализация цитогенетических показателей с ранних сроков наблюдения, что свидетельствует о выраженном радиопротекторном свойстве соединения и более ранней нормализации цитогенетических показателей.

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

Поступила 31.01.25

Ռադիոպաշտպանության հատկությունների դրսևորում $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ և $\text{C}_{46}\text{H}_{47}\text{CuF}_6\text{NP}_3$ օրգանական համալիրներում

**Ա.Գ. Կարապետյան, Վ.Ս. Գրիգորյան, Կ. Սանտինի, Մ. Պելլեի,
Ա.Ս. Դավաթյան, Ս.Ա. Ֆանարջյան**

Բջջի վրա իոնացնող ճառագայթման ազդեցության առաջին և անմիջական նշաններից մեկը քրոմոսոմների ապակայունացումն է: Ուսումնասիրելով ցիտոգենետիկ պարամետրերը՝ միտոտիկ ինդեքսը, քրոմոսոմային շեղումները և ոսկրածուծի բջիջներում պոլիպլոիդ բջիջների քանակը, մենք գտանք հուսալի տարբերություն նորմայում գտնվող և ճառագայթված կենդանիների խմբերի միջև, այսինքն՝ այս ցուցանիշները կարելի է համարել որպես իզոտոպային տեխնեցիումով ճառագայթման մարկերներ: Որոշելով ապրելունակության մակարդակը՝ պարզվեց, որ 2-րդ միացության ներարկումով խումբն ուներ ապրելունակության ամենաբարձր մակարդակը:

Ըստ ցուցանիշների՝ քրոմոսոմային շեղումների և պոլիպլոիդ բջիջների քանակի, ճառագայթահարված խմբում հայտնաբերվել է հուսալի տարբե-

րություն «ճառագայթում + $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ » խմբի համեմատ (ինչպես 15, այնպես էլ 30 օր հետո), ինչը ցույց է տալիս միացության ռադիոպաշտպանության հատկությունը: Հստ միտոտիկ ինդեքսի՝ $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ կիրառելիս 15 օր հետո նշվել են նորմալացման միտում և 2-րդ և 3-րդ խմբերի միջև հուսալի տարբերություն մինչև հետազոտության ավարտը (30 օր հետո), ինչը նույնպես ապացուցում է օգտակար ազդեցությունը այս միացությունից: Ապրելունակության վերլուծությունը, ցիտոգենետիկ ցուցանիշների փոփոխությունները և 2 միացությունների օգտագործմամբ մոլտիթեզը սխիզոն վերլուծությունը հաստատում են $\text{C}_{46}\text{H}_{47}\text{CuF}_6\text{NP}_3$ -ի ամենաբարձր արդյունավետությունը $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ -ի համեմատ, քանի որ $\text{C}_{46}\text{H}_{47}\text{CuF}_6\text{NP}_3$ -ն օգտագործելիս և այն համեմատելով ճառագայթման հետ՝ այս խմբերի միջև նկատվել է հուսալի տարբերություն բոլոր ցուցանիշներում և ցիտոգենետիկ ցուցանիշների նորմալացում դիտարկման վաղ փուլերից, ինչը ցույց է տալիս միացության ընդգծված ռադիոպաշտպան հատկությունը և ցիտոգենետիկ պարամետրերի ավելի վաղ նորմալացումը:

Manifestation of Radioprotective Properties in Organic Complexes $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ and $\text{C}_{46}\text{H}_{47}\text{CuF}_6\text{NP}_3$

**A.G. Karapetyan, V.S. Grigoryan, K. Santini, M. Pelli, A.M. Dallakyan,
S.A. Fanarjyan**

One of the first and direct signs of the effect of ionizing radiation on a cell is chromosome destabilization. Studying the cytogenetic parameters: mitotic index, chromosomal aberrations, and the number of polyploid cells in the bone marrow cells of the femur, a reliable difference was found between intact and irradiated animals, i.e. these parameters can be considered as markers of irradiation with the isotope technetium. Having determined the survival rate, it was found that the highest survival value was noted in the group with the injection of complex 2. According to the parameters: chromosomal aberrations and the number of polyploid cells, a reliable difference was found in irradiated group compared to the group “irradiation + $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$ ” (both after 15 and after 30 days), which indicates the radioprotective property of the compound. According to the mitotic index, when using $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$, a tendency towards normalization was noted after 15 days and a reliable difference between groups 2 and 3 by the end of the study (after 30 days), which also proves the beneficial effect of this compound. Analysis of survival, changes in cytogenetic parameters, multiregression analysis using 2 compounds confirm the highest efficiency of $\text{C}_{46}\text{H}_{47}\text{CuF}_6\text{NP}_3$ relative to $\text{Cu}(\text{L}^{\text{CF}_3})_2$, since when using $\text{C}_{46}\text{H}_{47}\text{CuF}_6\text{NP}_3$ and comparing it with “pure irradiation” a reliable difference between these groups was observed for all parameters and normalization of cytogenetic parameters from the early stages of observation. This indicates a pronounced radioprotective property of the compound and earlier normalization of cytogenetic parameters.

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 аббераций 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.Дж., 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 perspectives. Environmental and Molecular Mutagenesis, 2005, v.45 (2), pp. 258–270.