

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ГЕМОСТИМУЛИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ОРГАНИЧЕСКОЙ СОЛИ ДИСУЛЬФИДА ГЛУТАТИОНА И ИНОЗИНА В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

¹ Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет
(Россия, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2);

² Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова (Россия, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 6)

В экспериментах на мышах, подвергнутых острому внешнему воздействию гамма-излучения, изучены механизмы гемостимулирующей активности органической соли дисульфида глутатиона и инозина – фармакопейного препарата «Моликсан». Моликсан вводили мышам внутривентрально в дозе 30 мг/кг 1 раз в день в течение 10 сут после облучения. Установлено, что облучение в дозе 3,5 Гр приводило к гибели 30 % мышей, а применение моликсана позволяло снизить летальность облученных животных до 10 %. Показана способность моликсана ускорять постлучевое восстановление костномозгового кроветворения за счет стимуляции миелоцитарного и мегакариоцитарного роста гемопоэза, что приводит к увеличению количества лейкоцитов и тромбоцитов в периферической крови. Выявлено, что гемостимулирующая активность моликсана может быть опосредована увеличением продукции спленоцитами гемопоэтических цитокинов: интерлейкина-1, интерлейкина-2, интерлейкина-6, гранулоцитарного и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующих факторов.

Ключевые слова: дисульфид глутатиона, инозин, моликсан, облучение, лечение, гемопоэз, лейкоциты, тромбоциты, цитокины.

Конец XX и начало XXI в., как это не печально звучит, стали эпохой многочисленных природных и техногенных чрезвычайных ситуаций, сопровождающихся нарушением экологического баланса окружающей среды и поражением большого числа людей. Наиболее грозным вариантом чрезвычайных ситуаций являются радиационные аварии – потеря управления источником ионизирующего излучения, вызванная неисправностью оборудования, неправильными действиями работников (персонала), стихийными бедствиями или иными причинами, которые могли привести или привели к облучению людей выше установленных норм или радиоактивному загрязнению окружающей среды [13].

Авария на Чернобыльской атомной электростанции, произошедшая 26 апреля 1986 г., стала одним из самых масштабных радиационных инцидентов, относящихся к 7-му уровню Международной шкалы ядерных событий (International Nuclear Event Scale, 2008). Ее последствия испытали на себе не менее 350 тыс. человек, участвовавших в спасательных и восстановительных работах, а также около 5 млн жителей Белоруссии, России и Украины [2]. У 134 человек развилась острая лучевая бо-

лезнь (ОЛБ), 28 из них умерли в течение первых 4 мес, несмотря на интенсивное лечение в специализированной клинике [7]. Основной причиной смерти пострадавших было угнетение костномозгового кроветворения, непосредственно связанное с высокими дозами радиации.

При ОЛБ судьба облученного организма определяется, прежде всего, глубиной и длительностью лейко- и тромбоцитопении, которые, в свою очередь, зависят от величины сохранившегося после облучения пула стволовых кроветворных клеток [6]. Именно это обстоятельство и определяет тактику лечения ОЛБ, которая базируется на проведении поддерживающей, заместительной и стимулирующей терапии – применении средств лечения инфекционных и геморрагических осложнений, а также использовании препаратов и процедур, направленных на ускорение восстановления угнетенного радиацией гемопоэза [3, 19, 25].

В настоящее время в основе патогенетической терапии лучевой гемодепрессии лежит применение цитокинов – интерлейкина-1 (ИЛ-1), ИЛ-3, гранулоцитарного (Г-КСФ) и гранулоцитарно-макрофагального (ГМ-КСФ) колониестимулирующих факторов,

Ярцева Анна Александровна – д-р мед. наук, ассистент каф. стоматологии, С.-Петерб. гос. педиатр. мед. ун-т (Россия, 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2); e-mail: antu-anna@yandex.ru;

Антушевич Александр Евгеньевич – д-р мед. наук проф., ст. науч. сотр. науч.-исслед. лаб. (воен. терапии) Науч.-исслед. центра Воен.-мед. акад. им. С. М. Кирова (Россия, 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 6);

✉ Гребенюк Александр Николаевич – д-р мед. наук проф., каф. воен. токсикологии и мед. защиты Воен.-мед. акад. им. С. М. Кирова (Россия, 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 6); e-mail: grebenyuk_an@mail.ru.

тромбопоэтина и др., регулирующих гемопоэз в условиях физиологической нормы и способствующих активации костномозгового кроветворения при радиационном воздействии [12, 14, 22]. Однако цитокины не всегда оказываются эффективными для лечения ОЛБ, при этом одним из факторов, лимитирующих их терапевтическую активность, является десенситизация соответствующих рецепторов к лигандам, в качестве которых выступают эти регуляторы гемопоэза [4, 16, 19]. Способностью восстанавливать чувствительность рецепторов кроветворных клеток к гемопоэтическим цитокинам, а также иммуностимулирующими свойствами и антимикробной активностью обладают препараты на основе дисульфида глутатиона [1, 15, 18], однако их эффективность на модели лучевой гемодепрессии до настоящего времени не изучена.

Цель исследования – изучить механизмы фармакологической активности органической соли дисульфида глутатиона и инозина по коррекции экспериментальной гемодепрессии в условиях острого внешнего воздействия гамма-излучения.

Материал и методы

Экспериментальные исследования выполняли на 120 белых беспородных мышах-самцах массой 18–22 г и 60 мышах-самцах линии СВА массой 18–20 г, полученных из питомника «Рапполово» (Ленинградская обл.) и выдержанных 2 нед до начала эксперимента в карантине. Животных содержали в стандартных условиях вивария, кормление осуществляли *ad libitum* в первой половине дня. Исследования осуществляли согласно требованиям нормативно-правовых документов о порядке проведения экспериментальных работ с применением животных.

В работе использовали органическую соль дисульфида глутатиона и инозина – препарат «Моликсан» производства ЗАО «ФармаВам» (действующее вещество: инозина глицил-цистеинил-глутамат динатриевая соль). Предварительно растворенный в физиологическом растворе моликсан мышам вводили внутрибрюшинно в дозе 30 мг/кг ежедневно 1 раз/сут в течение 10 сут после облучения. Животным контрольных групп (группа биологического контроля и контроля облучения – гамма-облучение в дозе 3,5 Гр без лечения) в те же сроки и в том же объеме внутрибрюшинно вводили физиологический раствор.

Фармакологические эффекты моликсана оценивали в модели гемо- и иммунодепрессии, индуцированной острым внешним гам-

ма-облучением. Облучение мышей осуществляли на исследовательской гамма-установке ИГУР-1 с источником гамма-квантов ^{137}Cs . Поглощенная доза гамма-излучения на каждое животное составляла 3,5 Гр, мощность дозы 1,1 Гр/мин. Дозиметрический контроль облучения осуществляли расчетным методом.

В ходе 1-го эксперимента изучали влияние курсового применения моликсана на динамику гематологических показателей у облученных белых беспородных мышей-самцов. Наблюдение за животными осуществляли в течение 30 сут после радиационного воздействия, оценку показателей периферической крови проводили на 3-и и 10-е сутки после облучения стандартными гематологическими методами [9].

В ходе 2-го эксперимента оценивали влияние моликсана на способность лимфоцитов селезенки облученных мышей-самцов линии СВА в условиях *in vitro* синтезировать и продуцировать интерлейкин-1 (ИЛ-1), ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, интерферон- α (ИНФ- α), фактор некроза опухолей- α (ФНО- α), Г-КСФ, моноцитарный (М-КСФ) и ГМ-КСФ колоние-стимулирующие факторы. Помимо этого, оценивали влияние препарата на клеточность периферической крови (число лейкоцитов и лимфоцитов) и костного мозга (число кариоцитов) на 10-е сутки после облучения.

После окончания 10-дневного курса применения моликсана мышей подвергали эвтаназии, извлекали у них селезенки, после чего в стерильных условиях готовили суспензию спленоцитов для оценки спонтанной продукции цитокинов лимфоцитами селезенки в условиях *in vitro*. Параллельно с этим у мышей забирали образцы крови и костного мозга для оценки их клеточности. Концентрацию цитокинов определяли по методу ELISA с использованием коммерческих наборов фирмы «Medgenix» (Бельгия) и «Endogen» (США) на анализаторе «EVOLIS TwinPlus» (BIORAD, США) и выражали в пкг/мл культуральных супернатантов.

Полученные данные обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики с применением пакета прикладных программ Statistica for Windows 6.0. Рассчитывали среднее значение и ошибку средней величины ($M \pm m$). Статистическую значимость различий средних значений абсолютных показателей оценивали с использованием t-критерия Стьюдента. Ошибку средней величины частоты встречаемости признаков (в процентах) с доверительным интервалом

Таблица 1

Влияние моликсана на показатели периферической крови белых беспородных мышей-самцов, подвергнутых острому гамма-облучению в дозе 3,5 Гр ($M \pm m$, $n = 20$)

Исследуемый показатель	Срок после облучения, сут	Биологический контроль (1)	Облучение (2)	Облучение + моликсан (3)	$p < 0,05$
Гемоглобин, г/л	3	$15,2 \pm 1,16$	$13,0 \pm 1,20$	$12,9 \pm 1,22$	
	10	$15,4 \pm 1,11$	$13,8 \pm 1,56$	$13,2 \pm 1,68$	
Эритроциты, $10^{12}/л$	3	$6,7 \pm 0,56$	$6,2 \pm 0,49$	$6,2 \pm 0,53$	
	10	$6,5 \pm 0,42$	$6,0 \pm 0,45$	$6,2 \pm 0,48$	
СОЭ, мм/ч	3	$2,5 \pm 0,85$	$2,0 \pm 0,37$	$3,3 \pm 0,80$	
	10	$2,8 \pm 0,90$	$1,8 \pm 0,31$	$3,2 \pm 0,80$	
Тромбоциты, $10^9/л$	3	$368 \pm 21,5$	$370 \pm 35,3$	$387 \pm 17,4$	
	10	$376 \pm 23,2$	$167 \pm 19,3$	$226 \pm 10,0$	1/2; 1/3; 2/3
Ретикулоциты, ‰	3	$1,8 \pm 0,2$	$0,1 \pm 0,01$	$0,3 \pm 0,06$	1/2; 1/3; 2/3
	10	$1,9 \pm 0,2$	$1,0 \pm 0,1$	$1,5 \pm 0,2$	1/2
Лейкоциты, $10^9/л$	3	$9,2 \pm 0,35$	$0,6 \pm 0,03$	$1,4 \pm 0,11$	1/2; 1/3; 2/3
	10	$9,5 \pm 0,42$	$2,5 \pm 0,15$	$3,4 \pm 0,09$	1/2; 1/3; 2/3
Палочкоядерные нейтрофилы, %	3	$0,3 \pm 0,1$	0,0	$2,5 \pm 0,3$	1/3; 2/3
	10	$0,5 \pm 0,1$	0,0	$2,0 \pm 0,3$	1/3; 2/3
Сегментоядерные нейтрофилы, %	3	$16,0 \pm 2,5$	$18,7 \pm 2,4$	$42,0 \pm 1,6$	1/3; 2/3
	10	$17,0 \pm 3,0$	$32,0 \pm 1,9$	$50,4 \pm 0,6$	1/2; 1/3; 2/3
Эозинофилы, %	3	$2,0 \pm 0,3$	0,0	0,0	
	10	$2,0 \pm 0,4$	$1,7 \pm 0,3$	$1,7 \pm 0,2$	
Моноциты, %	3	$5,7 \pm 0,5$	$11,6 \pm 0,6$	$10,3 \pm 0,5$	1/2; 1/3
	10	$5,5 \pm 0,8$	$8,7 \pm 0,4$	$5,3 \pm 0,5$	1/2
Лимфоциты, %	3	$75,5 \pm 1,4$	$71,1 \pm 1,8$	$45,3 \pm 1,6$	1/3; 2/3
	10	$74,5 \pm 2,6$	$57,7 \pm 1,1$	$41,2 \pm 0,9$	1/2; 1/3; 2/3

для вероятности 95 % определяли с помощью таблиц В.С. Генеса, достоверность различий средних значений относительных показателей оценивали с использованием точного метода Р.А. Фишера [11]. Различия сравниваемых показателей считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

Результаты и их анализ

В результате проведенных исследований установлено, что воздействие радиации приводило к существенным нарушениям гемопоэза у облученных мышей, а курсовое применение моликсана позволяло в значительной степени корректировать этот негативный эффект радиации (табл. 1, 2).

Установлено, что острое гамма-облучение мышей в дозе 3,5 Гр приводило к гибели 30 % белых беспородных мышей в течение 30 сут наблюдения, а применение моликсана позволяло снизить летальность облученных животных до 10 %. Судя по представленным в табл. 1 данным, одним из ведущих звеньев танатогенеза облученных мышей было нарушение миелоцитарного и мегакариоцитарного роста гемопоэза, что проявлялось в снижении количества лейкоцитов и тромбоцитов в периферической крови, вследствие чего у животных развивались инфекционные осложнения и кровотечения, приводящие их к гибели.

Моликсан проявлял гемостимулирующую активность и способствовал коррекции постлучевой миелосупрессии: на 3-и сутки после облучения у животных, получавших моликсан, количество лейкоцитов в периферической крови было более чем в 2 раза выше, чем у не-леченных мышей, а на 10-е сутки содержание лейкоцитов в опытной группе было в 1,36 раза выше, чем в контрольной группе (см. табл. 1). Следует отметить, что миелостимулирующий эффект моликсана реализовался в большей степени за счет увеличения числа гранулоцитов, в частности палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов.

Гемостимулирующая активность моликсана проявлялась и в отношении мегакариоцитарного роста гемопоэза: на 10-е сутки после облучения у мышей, получавших моликсан, количество тромбоцитов в периферической крови было в 1,35 раза выше, чем у животных контрольной группы, получавших вместо моликсана физиологический раствор (см. табл. 1).

Радиационное воздействие не вызывало существенных нарушений эритропоэза. Однако следует обратить внимание на тот факт, что применение моликсана приводило к существенному увеличению числа ретикулоцитов (см. табл. 1), что служит еще одним подтверждением гемостимулирующей активности этого препарата.

Таблица 2

Влияние моликсана на количество клеток в периферической крови, клеточность костного мозга и продукцию цитокинов спленocyтами мышей-самцов линии СВА на 10-е сутки после острого гамма-облучения в дозе 3,5 Гр ($M \pm m$, $n = 20$)

Показатель	Биологический контроль (1)	Облучение (2)	Облучение + моликсан (3)	$p < 0,05$
Лейкоциты крови, $10^9/\text{л}$	$11,9 \pm 1,81$	$4,7 \pm 1,25$	$10,4 \pm 1,2$	1/2; 1/3
Лимфоциты крови, $10^9/\text{л}$	$7,4 \pm 0,85$	$3,1 \pm 0,56$	$6,9 \pm 1,14$	1/2; 1/3
Кариоциты костного мозга, $10^6/\text{л}$	$53,7 \pm 8,7$	$23,8 \pm 5,0$	$62,3 \pm 4,74$	1/2; 1/3
ИЛ-1, пкг/мл	$54,2 \pm 3,71$	$10,2 \pm 1,6$	$49,7 \pm 5,24$	1/2; 1/3
ИЛ-2, пкг/мл	$76,3 \pm 6,84$	$14,6 \pm 1,3$	$74,1 \pm 7,24$	1/2; 1/3
ИЛ-4, пкг/мл	$89,5 \pm 18,92$	$113,8 \pm 14,6$	$87 \pm 17,44$	
ИЛ-6, пкг/мл	$98,1 \pm 8,73$	$19,6 \pm 1,8$	$95,7 \pm 9,44$	1/2; 1/3
ИЛ-10, пкг/мл	$86,8 \pm 17,31$	$137,8 \pm 14,9$	$84,0 \pm 8,94$	
ИНФ- α , пкг/мл	$126,4 \pm 11,95$	$24,8 \pm 2,26$	$118,6 \pm 12,04$	1/2; 1/3
ФНО- α , пкг/мл	$93,2 \pm 8,57$	$17,4 \pm 1,64$	$89,7 \pm 9,1$	1/2; 1/3
ГМ-КСФ, пкг/мл	$180,1 \pm 14,21$	$48,2 \pm 7,23$	$178,2 \pm 18,1$	1/2; 1/3
Г-КСФ, пкг/мл	$150,5 \pm 13,73$	$26,7 \pm 3,14$	$148,4 \pm 14,24$	1/2; 1/3
М-КСФ, пкг/мл	$130,3 \pm 10,36$	$34,2 \pm 2,72$	$125,7 \pm 11,40$	1/2; 1/3

Судя по данным литературы [1, 8, 23], механизм гемостимулирующего действия дисульфидов глутатиона может реализовываться не только путем снижения выраженности первичных радиационно-химических процессов в костном мозге, но и посредством индукции синтеза эндогенных гемопоэтических цитокинов, прежде всего ИЛ-1, Г-КСФ и ГМ-КСФ. Для проверки этой гипотезы были проведены исследования на мышах-самцах линии СВА, подвергнутых острому внешнему гамма-облучению в дозе 3,5 Гр (см. табл. 2).

Как видно из табл. 2, острое внешнее гамма-облучение в дозе 3,5 Гр вызывало резкое снижение клеточности костного мозга у мышей, что проявлялось также в уменьшении числа клеток в периферической крови. Так, на 10-е сутки после радиационного воздействия количество ядросодержащих клеток костного мозга (кариоцитов) снизилось до 45 %, количество лейкоцитов – до 39 %, а количество лимфоцитов – до 42 % от уровня интактных животных (биологический контроль). Лечебное применение моликсана позволяло существенно уменьшить выраженность радиационно-индуцированной гемодепрессии и восстановить число клеток в костном мозге и периферической крови практически до нормальных (физиологических) значений.

Кроме того, радиационное воздействие приводило к нарушению способности селезенки у облученных мышей продуцировать гемопоэтические цитокины. Моликсан оказывал позитивное влияние на синтетическую функцию лимфоцитов в селезенке, что проявлялось в практически полной нормализации продукции цитокинов спленocyтами (см. табл. 2).

Полученные в ходе проведенных исследований результаты указывают на способность моликсана стимулировать продукцию гемопоэтических цитокинов спленocyтами, что позволяет объяснить ряд фармакологических эффектов препарата опосредованным действием этих эндогенных биорегуляторов [1, 8, 17]. Еще одной точкой приложения моликсана могут являться сульфгидрильные группы регуляторных молекул пептидной природы [10, 20]. В результате воздействия моликсана на сульфгидрильные группы происходит образование дисульфидной связи в регуляторных пептидных молекулах, что позволяет восстанавливать функционально-активную конформацию рецепторов цитокинов и, соответственно, чувствительность кроветворных клеток к воздействию этих эндогенных регуляторов гемопоэза [5, 21, 24].

Заключение

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о способности органической соли дисульфида глутатиона и инозина – фармакопейного препарата «Моликсан» ускорять постлучевое восстановление костномозгового кроветворения за счет стимуляции миелоцитарного и мегакариоцитарного ростков гемопоэза, что приводит к увеличению количества лейкоцитов и тромбоцитов в периферической крови у облученных животных.

Гемостимулирующая активность моликсана может быть опосредована увеличением продукции спленocyтами ряда гемопоэтических цитокинов, в частности ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, Г-КСФ и ГМ-КСФ.

Литература

1. Антонов В.Г., Антушевич А.Е., Бурова Е.Б., Василенко К.П. Возможный механизм модулирующего влияния препарата глутоксим на регуляторное действие цитокинов // Цитокины и воспаление. 2005. № 2. С. 75–76.
2. Балонов М.И. Последствия Чернобыля: 20 лет спустя // Радиация и риск. 2006. Т. 15, № 3/4. С. 97–119.
3. Баранов А.Е., Рождественский Л.М. Аналитический обзор схем лечения острой лучевой болезни, используемых в эксперименте и клинике // Радиационная биология. Радиоэкология. 2008. Т. 48, № 3. С. 287–302.
4. Берман А.Е., Козлова Н.И., Морозевич Г.Е. Структура и сигнальные функции интегринов (обзор) // Биохимия. 2003. Т. 68, № 12. С. 1597–1615.
5. Бурова Е.Б., Василенко К.П., Никольский Н.Н., Антонов В.Г. Окисленный глутатион вызывает активацию рецептора эпидермального фактора роста и MAP-киназ ERK-1,2 // Цитология. 2006. Т. 48, № 6. С. 500–507.
6. Бутомо Н.В., Гребенюк А.Н., Легеза В.И. [и др.]. Основы медицинской радиобиологии / под ред. И.Б. Ушакова. СПб.: Фолиант, 2004. 384 с.
7. Гуськова А.К. Медицинские последствия аварии на Чернобыльской АЭС. Основные итоги и нерешенные проблемы // Мед. радиология и радиац. безопасность. 2010. Т. 55, № 3. С. 17–28.
8. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб.: Фолиант, 2008. 552 с.
9. Козинец Г.И., Макарова В.А. Исследование системы крови в клинической практике. М.: Трида-Х, 1997. 480 с.
10. Кулинский В.И. Система глутатиона // Биомед. химия. 2009. Т. 55, вып. 3. С. 365–380.
11. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных: применение пакета прикладных программ Statistica. М.: Медиосфера, 2002. 312 с.
12. Рождественский Л.М. Актуальные вопросы поиска и исследования противолучевых средств // Радиационная биология. Радиоэкология. 2013. Т. 53, № 5. С. 513–520.
13. Федеральный закон от 09.01.1996 № 3-ФЗ (ред. от 19.07.2011) «О радиационной безопасности населения» // Рос. газета. № 160 от 25.07.2011.
14. Dainiak N. Rationale and recommendations for treatment of radiation injury with cytokines // Health Phys. 2010. Vol. 98, N6. P. 838–842.
15. Diaz-Montero C.M., Wang Y., Shao L. [et al.]. The glutathione disulfide mimetic NOV-002 inhibits cyclophosphamide-induced hematopoietic and immune suppression by reducing oxidative stress // Free Radical Biology & Medicine. 2012. Vol. 52. P. 1560–1568.
16. Drouet M., Hérodin F. Radiation victim management and the haematologist in the future: time to revisit therapeutic guidelines? // Int. J. Radiat. Biol. 2010. Vol. 86. P. 636–648.
17. Filomeni G., Rotilio G., Ciriolo M.R. Cell signaling and the glutathione redox system // Biochem. Pharmacol. 2002. Vol. 64. P. 1057–1064.
18. Filomeni G., Rotilio G., Ciriolo M.R. Glutathione disulfide induces apoptosis in U937 cells by a redox-mediated p38 MAP kinase pathway // FASEB J. 2003. Vol. 17. P. 64–66.
19. Flidner T.M., Friesecke I., Beyrer K. [et al.]. Medical management of radiation accidents: Manual on the acute radiation syndrome (METREPOL). Oxford: The British Institute of Radiology, 2001. 66 p.
20. Jordan P.A., Gibbins J.M. Extracellular disulfide exchange and the regulation of cellular function // Antioxid. Redox Signal. 2006. Vol. 8, N3/4. P. 312–324.
21. Kluczyk A., Cebrat M., Zbozien-Pacamaj R. [et al.]. On the peptide-antipeptide interactions in interleukin-1 receptor system // Acta Biochem. Pol. 2004. Vol. 51, N1. P. 57–66.
22. Koenig K.L., Goans R.E., Hatchett R.J. [et al.]. Medical treatment of radiological casualties: current concepts // Ann. Emergency Med. 2005. Vol. 45. P. 643–652.
23. Pompella A., Visvikis A., Paolicchi A. [et al.]. The changing faces of glutathione, a cellular protagonist // Biochem. Pharmacol. 2003. Vol. 66. P. 1499–1503.
24. Townsend D.M., He L., Hutchens S. [et al.]. NOV002, a glutathione disulfide mimetic, as a modulator of cellular redox balance // Cancer Res. 2008. Vol. 68. P. 2870–2877.
25. Waselenko J.K., McVittie T.J., Blakely W.F. [et al.]. Medical management of the acute radiation syndrome: recommendations of the Strategic National Stockpile Radiation Working Group // Ann. Intern. Med. 2004. Vol. 140, N12. P. 1037–1051.

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией статьи.

Experimental study of glutathione disulfide organic salt and inosine hemostimulating activity mechanisms in conditions of acute radiation exposure

Yartseva A.A.¹, Antushevich A.E.², Grebenyuk A.N.²

¹Saint-Petersburg State Pediatric Medical University (Russia, 194100, Saint-Petersburg, Litovskaya Str., 2);

²The Kirov Military Medical Academy (Russia, 194044, Saint-Petersburg, Academica Lebedeva Str., 6)

Anna Aleksandrovna Yartseva – Dr. Med. Sci., Assistant of the Department of Dentistry, Saint-Petersburg State Pediatric Medical University (Russia, 194100, Saint-Petersburg, Litovskaya Str., 2); e-mail: antu-anna@yandex.ru;

Aleksandr Evgenievich Antushevich – Dr. Med. Sci. Prof., Senior Researcher of the Research Laboratory of the Military Therapy, Kirov Military Medical Academy (Russia, 194044, Saint-Petersburg, Academica Lebedeva Str., 6);

✉ Aleksandr Nikolaevich Grebenyuk – Dr. Med. Sci. Prof., Professor of the Department of Military Toxicology and Medical Defense, Kirov Military Medical Academy (Russia, 194044, Saint-Petersburg, Academica Lebedeva Str., 6); e-mail: grebenyuk_an@mail.ru.

Abstract. In experiments on mice exposed to acute external gamma radiation, hemostimulating activity mechanisms of glutathione disulfide organic salt and inosine – the medicament molixan – were studied. Molixan was administered intraperitoneally at a dose of 30 mg / kg 1 time a day for 10 days after irradiation. It was found that irradiation at a dose of 3.5 Gy caused the death of 30 % of the mice, and molixan reduced mortality in irradiated animals to 10 %. The ability of molixan to accelerate post-radiation recovery of bone marrow hematopoiesis by stimulating myelocytic and megakaryocytic cell lines was demonstrated, with resulting increase in the number of white blood cells and platelets in the peripheral blood. Hemostimulating activity of molixan can be mediated by increased production of hematopoietic cytokines– interleukin-1, interleukin-2, interleukin-6, granulocyte-macrophage and granulocyte colony-stimulating factors – by splenocytes

Keywords: glutathione disulfide, inosine, molixan, irradiation, treatment, hematopoiesis, leukocytes, platelets, cytokines.

References

1. Antonov V.G., Antushevich A.E., Burova E.B., Vasilenko K.P. Vozmozhnyi mekhanizm moduliruyushchego vliyaniya preparata glutoksim na regulaturnoe deistvie tsitokinov [A possible mechanism of the modulating effect of glutoxim on the regulatory action of cytokines]. *Tsitokiny i vospalenie* [Cytokines & Inflammation]. 2005. N 2. Pp. 75–76. (In Russ.)
2. Balonov M.I. Posledstviya Chernobylya: 20 let spustya [Consequences of Chernobyl: 20 years later]. *Radiatsiya i risk* [Radiation & Risk]. 2006. Vol. 15, N 3/4. Pp. 97–119. (In Russ.)
3. Baranov A.E., Rozhdestvenskii L.M. Analiticheskii obzor skhem lecheniya ostroi luchevoi bolezni, ispol'zuemykh v eksperimente i klinike [Analytical review of the treatment regimens of acute radiation sickness, used in the experiment and clinic]. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya* [Radiation Biology. Radioecology]. 2008. Pp. 287–302. (In Russ.)
4. Berman A.E., Kozlova N.I., Morozovich G.E. Struktura i signal'nye funktsii integrinov (obzor) [Structure and signaling function of integrins (review)]. *Biokhimiya* [Biochemistry]. 2003. Vol. 68. N 12. Pp. 1597–1615. (In Russ.)
5. Burova E.B., Vasilenko K.P., Nikol'skii N.N., Antonov V.G. Okislennyy glutation vyzvaet aktivatsiyu retseptora epidermal'nogo faktora rosta i MAR-kinaz ERK-1,2 [Oxidized glutathione causes activation of the epidermal growth factor receptor and MAP kinase ERK-1,2]. *Tsitologiya* [Cytology]. 2006. Vol. 48, N 6. Pp. 500–507. (In Russ.)
6. Butomo N.V., Grebenyuk A.N., Legeza V.I. [et al.]. Osnovy meditsinskoj radiobiologii [Basics of Medical Radiobiology]. Ed. by I.B. Ushakov. Sankt-Peterburg. 2004. 384 p.
7. Gus'kova A.K. Meditsinskie posledstviya avarii na Chernobyl'skoi AES. Osnovnye itogi i nereshennye problemy [Health effects of the Chernobyl accident. Main results and unsolved problems] *Meditsinskaya radiologiya i radiatsionnaya bezopasnost* [Medical Radiology and Radiation Safety]. 2010. Vol. 55, N 3. Pp. 17–28.
8. Ketlinskii S.A., Simbirtsev A.S. Tsitokiny [Cytokines]. Sankt-Peterburg. 2008. 552 p. (In Russ.)
9. Kozinets G.I., Makarova V.A. Issledovanie sistemy krovi v klinicheskoi praktike [Blood system analysis in clinical practice]. Moskva. 1997. 480 p. (In Russ.)
10. Kulinskii V.I. Sistema glutationa [Glutathione system]. *Biomeditsinskaya khimiya* [Biomedical Chemistry]. 2009. Vol. 55, N 3. Pp. 365–380. (In Russ.)
11. Rebroya O.Yu. Statisticheskii analiz meditsinskikh dannykh: primeneniye paketa prikladnykh programm Statistica [Statistical analysis of medical data: Statistica package applications]. Moskva. 2002. 312 p. (In Russ.)
12. Rozhdestvenskii L.M. Aktual'nye voprosy poiska i issledovaniya protivoluchevykh sredstv [Actual questions of research and study of radioprotective agents]. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya* [Radiation Biology. Radioecology]. 2013. Vol. 53, N 5. Pp. 513–520. (In Russ.)
13. Federal'nyi zakon ot 09.01.1996 N 3-FZ «O radiatsionnoy bezopasnosti naseleniya» [Federal Law from 09.01.1996 number 3-FZ (ed. from 19.07.2011) «On Radiation Safety of the Population»]. *Rossiiskaya gazeta* [Russian Newspaper]. N 160, 25.07.2011. (In Russ.)
14. Dainiak N. Rationale and recommendations for treatment of radiation injury with cytokines. *Health Phys.* 2010. Vol. 98, N 6. Pp. 838–842.
15. Diaz-Montero C.M., Wang Y., Shao L. [et al.]. The glutathione disulfide mimetic NOV-002 inhibits cyclophosphamide-induced hematopoietic and immune suppression by reducing oxidative stress. *Free Radical Biology & Medicine*. 2012. Vol. 52. Pp. 1560–1568.
16. Drouet M., Hérodin F. Radiation victim management and the haematologist in the future: time to revisit therapeutic guidelines? *Int. J. Radiat. Biol.* 2010. Vol. 86. Pp. 636–648.
17. Filomeni G., Rotilio G., Ciriolo M.R. Cell signaling and the glutathione redox system. *Biochem. Pharmacol.* 2002. Vol. 64. Pp. 1057–1064.
18. Filomeni G., Rotilio G., Ciriolo M.R. Glutathione disulfide induces apoptosis in U937 cells by a redox-mediated p38 MAP kinase pathway. *FASEB J.* 2003. Vol. 17. Pp. 64–66.
19. Flidner T.M., Friesecke I., Beyrer K. [et al.]. Medical management of radiation accidents: Manual on the acute radiation syndrome (METREPOL). Oxford : The British Institute of Radiology, 2001. 66 p.
20. Jordan P.A., Gibbins J.M. Extracellular disulfide exchange and the regulation of cellular function. *Antioxid. Redox Signal.* 2006. Vol. 8, N 3/4. Pp. 312–324.
21. Kluczyk A., Cebrat M., Zbozien-Pacamaj R. [et al.]. On the peptide-antipeptide interactions in interleukin-1 receptor system. *Acta Biochem. Pol.* 2004. Vol. 51, N 1. Pp. 57–66.
22. Koenig K.L., Goans R.E., Hatchett R.J. [et al.]. Medical treatment of radiological casualties: current concepts. *Ann. Emergency Med.* 2005. Vol. 45. Pp. 643–652.
23. Pompella A., Visvikis A., Paolicchi A. [et al.]. The changing faces of glutathione, a cellular protagonist. *Biochem. Pharmacol.* 2003. Vol. 66. Pp. 1499–1503.
24. Townsend D.M., He L., Hutchens S. [et al.]. NOV002, a glutathione disulfide mimetic, as a modulator of cellular redox balance. *Cancer Res.* 2008. Vol. 68. Pp. 2870–2877.
25. Wasilenko J.K., McVittie T.J., Blakely W.F. [et al.]. Medical management of the acute radiation syndrome: recommendations of the Strategic National Stockpile Radiation Working Group. *Ann. Intern. Med.* 2004. Vol. 140, N 12. Pp. 1037–1051.

Received 03.03.2016

For citing. Yartseva A.A., Antushevich A.E., Grebenyuk A.N. Eksperimental'noe izucheniye mekhanizmov gemostimuliruyushchei aktivnosti organicheskoi soli disul'fida glutationa i inozina v usloviyakh ostrogo radiatsionnogo vozdeistviya. *Mediko-biologicheskie i sotsial'no-psikhologicheskie problemy bezopasnosti v chrezvychaynykh situatsiyakh*. 2016. N 1. Pp. 79–84. (In Russ.)

Yartseva A.A., Antushevich A.E., Grebenyuk A.N. Experimental study of glutathione disulfide organic salt and inosine hemostimulating activity mechanisms in conditions of acute radiation exposure. *Medico-Biological and Socio-Psychological Problems of Safety in Emergency Situations*. 2016. N 1. Pp. 79–84. DOI 10.25016/2541-7487-2016-0-1-79-84