

ОЦЕНКА АНТИМУТАГЕННОГО ЭФФЕКТА ТРИТЕРПЕНОИДА МИЛИАЦИНА У МЫШЕЙ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Сарычева Ю.А.¹, Токарева А.А.¹, Штиль А.А.², Колыванова М.А.³, Морозов В.Н.³, Панфилова Т.В.¹, Фролов Б.А.¹

¹ ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Оренбург, Россия

² Научно-исследовательский институт канцерогенеза ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

³ ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Россия

Резюме. В условиях воздействия ионизирующего излучения изучен антимутагенный эффект три-терпеноида милиацина для оценки его протекторных свойств при радиационной иммуносупрессии. Использованы мыши (CBAxС57Bl6)F1, разделенные на 4 группы: 1) интактные; 2) подвергнутые облучению; 3) подвергнутые облучению после предварительного введения милиацина; 4) облученные после предварительного введения растворителя для милиацина. Облучение животных проведено на рентгеновской установке «РУСТ-М1» при дозе 4 Гр и экспозиции 288 с. Тест-системой служили милокарициты, анализ которых был проведен через 24 часа после облучения. Трехкратное предварительное введение милиацина в разовой дозе 4 мг/кг ослабляло мутагенный эффект облучения как по содержанию аберрантных клеток, так и по количеству аберраций на 100 метафазных пластинок. Вместе с тем эта протекция была существенно менее выраженной, чем при ранее установленной в условиях химического мутагенеза, что свидетельствует об ограниченных возможностях милиацина в защите центрального органа системы иммунитета – красного костного мозга при лучевом воздействии.

Ключевые слова: милокарициты, ионизирующее излучение, мутагенный эффект, милиацин

EVALUATION OF TRITERPENOID MILIACIN-RELATED ANTI-MUTAGENIC EFFECT IN MICE EXPOSED TO IONISING RADIATION

Sarycheva Yu.A.^a, Tokareva A.A.^a, Shtil A.A.^b, Kolyvanova M.A.^c, Morozov V.N.^c, Panfilova T.V.^a, Frolov B.A.^a

^a Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation

^b Institute of Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russian Federation

^c Russian State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russian Federation

Abstract. Triterpenoid miliacin-related anti-mutagenic effect after exposure to ionizing radiation was studied to assess its protective properties against radiation-induced immunosuppression. (CBAxС57Bl6)F1

Адрес для переписки:

Сарычева Юлия Александровна
ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ
460000, Россия, г. Оренбург, Парковый пр., 7.
Тел.: 8 (922) 550-47-57.
E-mail: djsarycheva1985@mail.ru

Address for correspondence:

Sarycheva Yuliya A.
Orenburg State Medical University
460000, Russian Federation, Orenburg, Park ave., 7.
Phone: 7 (922) 550-47-57.
E-mail: djsarycheva1985@mail.ru

Образец цитирования:

Ю.А. Сарычева, А.А. Токарева, А.А. Штиль, М.А. Колыванова, В.Н. Морозов, Т.В. Панфилова, Б.А. Фролов «Оценка антимутагенного эффекта три-терпеноида милиацина у мышей при воздействии ионизирующего излучения» // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 2. С. 153-156.
doi: 10.46235/1028-7221-331-EOT

© Сарычева Ю.А. и соавт., 2020

For citation:

Yu.A. Sarycheva, A.A. Tokareva, A.A. Shtil, M.A. Kolyvanova, V.N. Morozov, T.V. Panfilova, B.A. Frolov "Evaluation of triterpenoid miliacin-related anti-mutagenic effect in mice exposed to ionising radiation", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 2, pp. 153-156.
doi: 10.46235/1028-7221-331-EOT

DOI: 10.46235/1028-7221-331-EOT

mice were subdivided into four groups: 1) intact mice; 2) irradiated mice; 3) miliacin-pretreated irradiated mice; and 4) miliacin-solvent-pretreated irradiated mice. Irradiation of animals was performed on the X-ray device "RUST-M1" (4 Gy; exposure time 288 sec.). Twenty four hours post irradiation myelokaryocytes were isolated for analysis. Chromosome preparations were examined by light microscopy. Injections of miliacin (4 mg/kg daily for 3 consecutive days) attenuated the irradiation-triggered mutagenic effect assessed by counting cells with chromosomal aberrations as well as number of aberrations per 100 metaphase plates. Miliacin exerted a protective effect on radiation-induced chromosomal aberrations, although degree of protection was less pronounced compared to chemically induced mutagenesis. These data indicate about limited potential for miliacin to protect central immune organs such as red bone marrow upon radiation exposure.

Keywords: myelokaryocytes, ionizing radiation, mutagenic effect, miliacin

Введение

Протекция структурно-функциональных нарушений иммунной системы при воздействии различных факторов среды служит важным подходом к предупреждению/ограничению развития вторичных иммунодефицитов и связанных с ними осложнений. Не меньшую актуальность эта проблема имеет и в клинической практике, где иммуносупрессия выступает неблагоприятным побочным результатом при использовании методов химио- и лучевой терапии, существенно ограничивая возможности лечения больных вплоть до его отмены [5]. Среди разрабатываемых иммунопротекторов интерес исследователей в последнее время все больше проявляется в отношении веществ растительного происхождения в силу их определенной эффективности и высокой переносимости [1]. К числу таких веществ относится пентациклический тритерпеноид – милиацин (3- β -метокси- Δ^{18} -олеанен), содержащийся в просяном масле. В ранее выполненных экспериментальных работах был определен защитный эффект милиацина в виде ослабления супрессии гуморального и клеточного иммунного ответа, снижения выраженности клеточного опустошения тимуса, красного костного мозга и селезенки, сокращения скорости восстановления клеточных популяций органов иммуногенеза при иммобилизационном стрессе [4], действии ксенобиотика – метотрексата [2, 3], бактериальной инфекции [8] у животных. Вместе с тем защитная способность милиацина в отношении иммунной системы при лучевом воздействии не исследовалась. Как известно, ключевой характеристикой повреждающего влияния такого воздействия является мутагенный эффект, наиболее полно реализуемый на уровне миелокариоцитов, которые служат источником различных популяций лейкоцитов, определяющих становление естественного и адаптивного иммунитета [9].

Очевидно, что нарушения генетического аппарата клеток красного костного мозга могут рассматриваться в качестве приоритетного механизма радиационной иммуносупрессии, а огра-

ничение таких нарушений – в качестве механизма иммунопротекции.

Ранее была показана способность милиацина существенно снижать относительное содержание аберрантных клеток и число aberrаций в клетках костного мозга мышей в условиях применения циклофосфана [6].

Целью работы является оценка антимуtagenного эффекта милиацина при действии ионизирующего излучения.

Материалы и методы

Исследования выполнены на 40 особях мышей-самцов (СВАхС57Вl6) F1, массой около 20 г, разделенных на 4 группы: 1) интактные (фоновая группа); 2) подвергнутые только облучению (группа сравнения); 3) подвергнутые облучению после предварительного введения милиацина (опытная группа); 4) подвергнутые облучению после предварительного введения растворителя для милиацина – твина 21 ($1,6 \times 10^{-7}$ моль/кг) (контроль). Милиацин вводили трехкратно, внутрибрюшинно, в разовой дозе 4 мг/кг в объеме 0,5 мл с 24-часовыми интервалами между введениями, завершавшимися за 1 сутки до облучения. По аналогичной схеме проводилось введение растворителя. Тотальное облучение мышей осуществляли однократно с помощью рентгеновской установки «РУСТ-М1». Доза облучения – 4 Гр при экспозиции 288 секунд. Животных 2-й, 3-й, 4-й групп выводили из эксперимента (дислокация шейных позвонков) через 24 часа после облучения. В эти же сроки осуществлялся забой интактных мышей.

Для фиксации хромосом в метафазе раствор колхицина (0,04%) вводили мышам внутрибрюшинно (0,1 мл / 10,0 г веса) за 1 час до забоя. Получение, обработка клеток костного мозга, изготовление препаратов и их окрашивание проводились ранее описанными методами [6]. Анализ хромосомных нарушений выполняли методом световой микроскопии (10 \times 10), исследуя клетки округлой формы с видимым разбросом хромосом и модульным числом 40. В препаратах от каждого животного подсчитывали не менее 100 метафазных пластинок (МП), определяя от-

носительное количество МП (%) с абберациями и суммарное число аббераций на 100 МП. Статистическую обработку проводили методами вариационной статистики с оценкой различий между средними величинами по t-критерию Стьюдента. Различия считались статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Миелокарициты интактных мышей характеризовались низким удельным содержанием клеток с хромосомными абберациями (0,37%) при минимальном значении количества аббераций на 100 МП (0-1). Облучение оказывало резко выраженный мутагенный эффект, проявлявшийся возрастанием содержания абберантных клеток практически до абсолютных значений: $91,6 \pm 0,9\%$ (min – 87, max – 94), при высоком количестве самих аббераций, составившим $351,0 \pm 14,9$ (min – 293, max – 413) на 100 МП. У животных, получавших перед облучением растворитель, исследуемые параметры мутагенеза были идентичны группе сравнения, составляя, соответственно, $93,3 \pm 0,4\%$ (min – 92, max – 95) и $351,7 \pm 20,9$ (min – 289, max – 458) аббераций на 100 МП. Применение милиацина обеспечивало ограничение мутагенного эффекта. Показатели относительного количества абберантных клеток и суммарного количества аббераций снизились до $80,1 \pm 0,5\%$ (min – 78, max – 82) и $285,2 \pm 4,6$ аббераций (min – 266, max – 305) на 100 МП, что значимо ($p < 0,05$) отличало эти сдвиги от соответствующих значений контроля и группы сравнения.

Список литературы / References

1. Барияк И.Р., Исаева А.В. Антимутагенные и генопротекторные свойства препаратов растительного происхождения // Цитология и генетика, 1994. Т. 28, № 3. С. 3-17. [Barilyak I.R., Isaeva A.V. *Antimutagenic and genoprotective properties of herbal drugs. Tsitologiya i genetika = Cytology and Genetics, 1994, Vol. 28, no. 3, pp. 3-17.* (In Russ.)]
2. Железнова А.Д., Железнов Л.М., Штиль А.А., Фролов Б.А. Морфологические проявления защитного влияния милиацина в органах иммуногенеза при действии метотрексата // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2007. Т. 144, № 10. С. 458-463. [Zheleznova A.D., Zheleznov L.M., Shtil A.A., Frolov B.A. Morphological manifestations for the protective effect of miliacin in organs of immunogenesis after treatment with methotrexate. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2007, Vol. 144, no. 10, pp. 458-463.* (In Russ.)]
3. Железнова А.Д., Панфилова Т.В., Смолягин А.И., Чайникова И.Н., Штиль А.А., Фролов Б.А. Влияние милиацина на дисфункцию иммунной системы у мышей при действии метотрексата // Иммунология, 2009. Т. 30, № 5. С. 298-302. [Zheleznova A.D., Panfilova T.V., Smolyagin A.I., Chainikova I.N., Shtil A.A., Frolov B.A. The influence of miliacin on dysfunction of the immune system during administration of methotrexate to mice. *Immunologiya = Immunology, 2009, Vol. 30, no. 5, pp. 298-302.* (In Russ.)]
4. Панфилова Т.В., Штиль А.А., Фролов Б.А. Тритерпеноид милиацин снижает индуцированное стрессом ПОЛ // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2006. Т. 141, № 6. С. 633-635. [Panfilova T.V., Shtil A.A., Frolov B.A. Triterpenoid miliacin inhibits stress-induced lipid peroxidation. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2006, Vol. 141, no. 6, pp. 633-635.* (In Russ.)]
5. Репин М.В., Говорун Р.О., Красавин Е.А. Хромосомные нарушения в лимфоцитах человека при действии ускоренных заряженных частиц // Физика элементарных частиц и атомного ядра, 2002. Т. 33, № 3. С. 747-766. [Repin M.V., Govorun R.O., Krasavin E.A. Chromosomal abnormalities in human lymphocytes

Обсуждение

Сопоставление результатов проведенного исследования с ранее полученными данными относительно антимутагенной активности милиацина при использовании циклофосфана [6] свидетельствуют о том, протективное действие тритерпеноида при лучевом воздействии существенно менее выражено, чем при химическом мутагенезе. При оценке этого факта следует принять во внимание два обстоятельства. Во-первых, степень мутагенного эффекта, который при ионизирующем излучении был гораздо интенсивнее, чем при применении циклофосфана, когда соответствующие показатели мутагенеза составляли $35,5 \pm 1,5\%$ (min – 32, max – 44) абберантных клеток и $50,1 \pm 6,3$ (min – 37, max – 88) аббераций на 100 МП. Очевидно, что столь выраженное повреждающее действие облучения могло лимитировать антимутагенный потенциал тритерпеноида. Во-вторых, особенности реализации защиты при разных воздействиях. При химическом мутагенезе такая защита связана с регуляцией проницаемости плазматической мембраны для ксенобиотиков, где мембранопротекторные свойства милиацина [7] могли играть существенную роль. При ионизирующем излучении роль данного механизма менее значима, поскольку преобладает прямое повреждение ДНК (и других макромолекул), что существенно снижает защитные возможности тритерпеноида в отношении генетических повреждений миелокарицитов и, соответственно, радиационной иммуносупрессии.

induced by accelerated charged particles. *Fizika elementarnykh chastits i atomnogo yadra = Physics of Elementary Particles and Atomic Nuclei*, 2002, Vol. 33, no. 3, pp. 747-766. (In Russ.)]

6. Сарычева Ю.А., Токарева А.А., Панфилова Т.В., Железнова А.Д., Фролов Б.А. Тритерпеноид милиацин как протектор хромосомных aberrаций, индуцированных циклофосфаном в клетках костного мозга мышей // Российский иммунологический журнал, 2019. Т. 13 (22), № 2. С. 527-529. [Sarycheva Yu.A., Tokareva A.A., Panfilova T.V., Zheleznova A.D., Frolov B.A. Triterpenoid miliacin as a protector of chromosomal aberrations induced by cyclophosphamide in mice bone marrow cells. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2019, Vol. 13 (22), no. 2, pp. 527-529. (In Russ.)]

7. Фролов Б.А., Кириллова А.В. Милиацин как мембранопротектор. Защитное действие милиацина при детергент-индуцированной иммуносупрессии // Российский аллергологический журнал, 2011. Т. 4, № 1. С. 402-403. [Frolov B.A., Kirillova A.V. Miliacin as a membrane protector. The protective effect of miliacin action under detergent-induced immunosuppression. *Rossiyskiy allergologicheskii zhurnal = Russian Allergology Journal*, 2011, Vol. 4, no. 1, pp. 402-403. (In Russ.)]

8. Фролов Б.А., Чайникова И.Н., Железнова А.Д., Панфилова Т.В., Медведева И.П., Филиппова Ю.В., Смолягин А.И. Защитный эффект милиацина при экспериментальной сальмонеллезной инфекции // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2013. № 6. С. 3-8. [Frolov B.A., Chainikova I.N., Zheleznova A.D., Panfilova T.V., Medvedeva I.P., Filippova Yu.V., Smolyagin A.I. Protective effect of miliacin during experimental salmonellosis infection. *Zhurnal mikrobiologii epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2013, no. 6, pp. 3-8. (In Russ.)]

9. Zhao E., Xu H., Wang L., Kryczek I., Wu K., Hu Y., Wang G., Zou W. Bone marrow and the control of immunity. *Cell. Mol. Immunol.*, 2012, Vol. 9, no. 1, pp. 11-19.

Авторы:

Сарычева Ю.А. — к.м.н., доцент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Оренбург, Россия

Токарева А.А. — ассистент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Оренбург, Россия

Штиль А.А. — д.м.н., заведующий лабораторией механизмов гибели опухолевых клеток, Научно-исследовательский институт канцерогенеза ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Колыванова М.А. — заведующая отделом медицинской физики и лучевых технологий ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Россия

Морозов В.Н. — научный сотрудник отдела медицинской физики и лучевых технологий ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Россия

Панфилова Т.В. — к.м.н., доцент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Оренбург, Россия

Фролов Б.А. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Оренбург, Россия

Authors:

Sarycheva Yu.A., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Pathological Physiology, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation

Tokareva A.A., Assistant Professor, Department of Pathological Physiology, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation

Shtil A.A., PhD, MD (Medicine), Head, Laboratory of Tumor Cell Death, Institute of Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russian Federation

Kolyvanova M.A., Head, Department of Medical Physics and Radiation Technologies, Russian State Research Center — Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russian Federation

Morozov V.N., Research Associate, Department of Medical Physics and Radiation Technologies, Russian State Research Center — Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russian Federation

Panfilova T.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Pathological Physiology, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation

Frolov B.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Pathological Physiology, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation