

ПРОТИВОЛУЧЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТОВ ХИТОЗАНА С РАСТИТЕЛЬНЫМИ ЭКСТРАКТАМИ

*Н.Я. Костеша**, *Е.С. Гулик**, *А.И. Албулов***, *С.М. Шинкарев***,
*П.А. Кузнецов***, *Г.Е. Банникова****, *Т.А. Авдеева***

*НИИ биологии и биофизики, Томск

**Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт
биологической промышленности, Щелково, E-mail: biopro@shelkovo.comcor.ru

***Центр "Биоинженерия" РАН, Москва

RADIOPROTECTIVE ACTIVITY OF CHITOSAN PREPARATIONS IN ASSOCIATION WITH PLANT EXTRACTS

*N.Ya. Kostesha**, *E.S. Gulik**, *A.I. Albulov***, *S.M. Shinkarew***,
*P.A. Kuznetsow***, *G.E. Bannikova****, *T.A. Avdeewa****

*Research institute of biology and radiophysics, Tomsk

**Russian Federal Research and Technological Institute
of Biological Industry, Schyolkovo, E-mail: biopro@shelkovo.comcor.ru

***Centre "Bioengineering" of Russian Academy of Sciences, Moscow

ABSTRACT

In experiment with rats it was established that radioprotective effect of low weight chitosan (MM 23 kDa) in 5 mg/kg dosage (peroral, tenfold) is intensifies when using in solution with extract of Siberian fir-tree (Chitabis) in comparison with water solution of chitosan.

Введение

Применение веществ природного происхождения для повышения резистентности организма и эффективности лечения лучевой болезни актуально в связи с проблемами радиационного загрязнения и опасностью техногенных катастроф. Одним из таких веществ является аминополисахарид хитозан, особенностью которого является широкий спектр биологического действия в сочетании с отсутствием выраженной токсичности. Препараты хитозана обладают уникальной способностью образовывать комплексы как с электрофильными, так и с нуклеофильными веществами, что во многом определяет их детоксицирующие свойства.

Проведены исследования [2,3], показавшие высокую эффективность хитозана как радиопротектора. До сих пор не до конца ясным остается механизм радиопротекторного действия хитозана, несмотря на то что в литературе имеются многочисленные факты, объясняющие возможность такого эффекта. Хитозан ускоряет начало и интенсифицирует процесс восстановления кроветворной ткани [2-4]. По современным представлениям, это действие реализуется благодаря выработке различных цитокинов, принимающих участие в регуляции кроветворения и иммунитета. В наибольшей степени указанные выше закономерности проявляются при введении хитозана непосредственно в кровь. Однако более поздние исследования на мышах японские и корейские ученые продемонстрировали радиозащитный эффект хитозана при оральном способе введения его в организм [5].

В экспериментах на мышах было изучено влияние молекулярной массы хитозана (70, 10, и 5 кДа) на его радиозащитную активность [1]. Было показано, что хитозаны с MM 70 и 10 кДа обладают сходными, достаточно выраженными противолучевыми свойствами. При внутривенном введении за 15-30 мин до общего воздействия γ -лучами ^{137}Cs в дозе 8 Гр, близкой к минимальной абсолютно летальной, выживаемость мышей повышалась до 73 и 83% соответственно. Эти резуль-

таты свидетельствуют о том, что высокая радиозащитная активность хитозана проявляется в достаточно широком диапазоне молекулярных масс [8]. Минусом данной методики является то, что хитозан как природный полимер обладает потенциальной аллергенностью, а также нестабильностью биологических свойств, что может быть связано с качеством сырья, условиями производства и другими факторами [6], что особенно актуально при парентеральном введении.

Имеются данные об изменении динамики проникновения хитозана в ткани и органы при его применении совместно с экстрактами лекарственных трав [4], способность хитозана усиливать и пролонгировать действие растительных экстрактов [7].

В последние годы появились работы по изучению противолучевой активности препаратов на основе растительного сырья. Особое место в этом ряду занимают водный экстракт пихты сибирской ("Абисиб") [11] и экстракт хвои ели европейской [10]. Обладая способностью восстанавливать нарушенные функции пищеварительной, кроветворной и репродуктивной систем организма, они тем самым повышают устойчивость организма к действию ионизирующего излучения.

В настоящей работе приведены результаты сравнительного исследования противолучевой терапевтической активности низкомолекулярного хитозана, растворенного в дистиллированной воде и в "Абисиб" ("Хитабис").

Материалы и методы

Исследование выполнено на 145 белых беспородных крысах-самцах массой 180–200 г. Животных подвергали однократному общему воздействию рентгеновского излучения на аппарате РУМ-17 в дозе 7,5 Гр (напряжение 200 кВ, сила тока 15 мА, фильтры 0,5 мм Cu + 1 мм Al, фокусное расстояние 60 см). Препараты в объеме 1 мл вводили перорально 1 раз в сутки через зонд непосредственно после облучения и затем в течение 10 дней. Низкомолекулярный хитозан – гидрохлорид с молекулярной массой 23 кДа (препарат из ВНИИТИ биологической промышленности, г. Щелково) использовали в дозе 1 мг на 1 мл дистиллированной воды или на 1 мл "Абисиб" (ООО НПЦ "БИОЭПЛ", г. Томск), присвоив в последнем случае препарату название "Хитабис". Контрольным облученным животным вводили дистиллированную воду по той же схеме. Всех животных содержали на стандартном рационе вивария при неограниченном доступе воды.

Тяжесть лучевого поражения оценивали по внешнему виду животных, проявлениям кишечного синдрома, интегральному показателю выживаемости и средней продолжительности жизни (СПЖ) в 30-суточный период наблюдения [6]. Полученные результаты подвергали стандартной статистической обработке с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты

Исследования показали, что облучение крыс в дозе 7,5 Гр приводило к 90% смертности. СПЖ животных составляла 15,4 сут.

Применение водорастворимого хитозана в 2,5 раза повышало выживаемость и увеличивало СПЖ на 6,4 сут. по сравнению с облученным контролем. В нашем исследовании терапевтическое применение "Абисиб" незначительно увеличивало выживаемость и СПЖ облученных крыс (таблица). Противолучевая активность "Хитабиса" была достоверно выше, чем в контроле. Выживаемость крыс увеличилась в 3,5 раза, а показатель СПЖ – почти в 2 раза по сравнению с контролем. Действие "хитабиса" наиболее отчетливо проявлялось в сроки с 8-х по 19-е сутки после облучения, когда наблюдалась наибольшая смертность у животных контрольной группы.

Следует отметить, что симптомы желудочно-кишечного синдрома у животных, леченных хитозаном и "Хитабисом", были менее выражены, чем в контрольной группе. На 4-е сутки после облучения (в период максимальной выраженности желудочно-кишечных расстройств) диарея проявлялась у 54,6% крыс, получавших хитозан, и у 68,4% леченных "Хитабисом" животных по сравнению с 95,8% в кон-

троле. Проявления диареи сохранялись дольше и у большего числа контрольных животных, тогда как у крыс, получавших хитозан, они обнаруживались у 7,7% животных на 9-е сутки, а у крыс, получавших "Хитабис", всего у 3% животных на 8-е сутки после облучения. Усиление противолучевой активности хитозана при его растворении в "Абисиб" может быть связано с изменением динамики распределения и содержания хитозана в крови и различных органах опытных животных при совместном использовании хитозана и "Абисиб".

Противолучевая эффективность "Абисиб", хитозана и "Хитабиса"

Группа	Число животных	Выживаемость, %	Средняя продолжительность жизни, сут.
Облучение, 7,5 Гр (контророль)	48	9,75±7,75	15,44±2,31
Облучение +Абисиб	26	18,75±9,38	16,28±3,64
Облучение + хитозан	33	25,00±2,89	21,83±4,52
Облучение + Хитабис	38	34,00±3,49	28,37±3,09

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о повышении противолучевой эффективности хитозана при использовании его совместно с хвойным экстрактом. Данный эффект наблюдался при десятикратном приеме препарата внутрь даже в малых дозах (5 мг/кг), 1 раз в сутки.

Дальнейшие разработки в данной области могут быть продолжены по пути увеличения дозы хитозана, снижения кратности введения и более тщательного подбора его физико-химических характеристик.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ильин Л.А., Андрианова И.Е., Глушков В.А. Изучение зависимости радиозащитной активности хитозана от его молекулярной массы // Радиационная биология. Радиоэкология. 2004. Т. 44. № 2. С. 176-178
2. Белоусова О.И., Федотова М.И., Рождественский Л.М. // Бюлл. радиац. мед. 1969. № 2. С. 105-110.
3. Разоренова В.А., Сбитнева М.Ф., Андрианова И.Е. // Бюлл. радиац. мед. 1969. № 2. С. 96-105.
4. Жоголев К.Д., Цыган В.Н., Никитин В.Ю., Егоров В.Н. / Материалы конф. "Медицинские аспекты радиационной и химической безопасности". - С-Пб, 11-12 октября 2001 г. Военно-медицинская академия. 2001. С. 432-433.
5. Yoshikazu N., Hee-Sun K., Nobuo I., Hiromi A., Hee-Seung B., Young-Ho K., Yoshito W., Masae Y., Toshihiko O., J. // Rad. Res. 2003. V. 44. P. 53-58.
6. В.П. Варламов, Г.Е. Банникова, И.Е. Андрианова, В.А. Глушков, А.И.Албулов, А.В.Гриль, А.Я.Самуйленко. Предпосылки к созданию и возможности использования хитозана низкомолекулярного в качестве противолучевого средства // Сборник статей Международного симпозиума "Научные основы обеспечения защиты животных от экотоксикантов, радионуклидов и возбудителей опасных инфекционных заболеваний". Москва, 26-28 октября 2005 г. С. 289-294.
7. А.Б. Комаров, А.И. Албулов, С.М. Шинкарев, А.С. Фоменко. Качество хитозансодержащих препаратов для фитотерапии // Фитотерапия, биологически активные вещества естественного происхождения. Материалы 5-й Международной научной конференции. Черноголовка. 22-23 января, 2004. С. 279-289.
8. Чернов Г.А., Евдаков В.П., Кабанов В.А. // Бюл. радиац. мед. 1968. №3. С. 18-24.
9. Пат. 02188829 С1 20020910. Способ получения низкомолекулярного хитозана для противолучевых препаратов / Варламов В.П., Ильина А.В., Банникова Г.Е., Немцев С.В., Ильин Л.А., Чертков К.С., Андрианова И.Е., Платонов Ю.В., Скрябин К.Г. Заявл. 18.12.2000. Оpubл. 10.09.2002.
10. А.В. Кузьменкова, А.И.Албулов, А.С.Фоменко, М.А. Фролова, Н.Я. Костеша. Разработка нового витаминного и профилактического препарата из хвои ели европейской // Тезисы докладов конференции "Научные основы производства ветеринарных биологических препаратов", Щелково. 2000. С. 341-342.
11. Костеша Н.Я. Пути повышения резистентности организма при действии ионизирующего излучения. Автореф. дисс. д-ра биол. наук М., 2001. 56 с.