



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **88072** (13) **U**
(51) МПК

A61H 31/02 (2006.01)

G01N 33/48 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2013 12396	(72) Винахідник(и): Горбань Євген Миколайович (UA), Топольнікова Наталія Віталіївна (UA), Под'яченко Олена Вікторівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 22.10.2013	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.02.2014	(73) Власник(и): ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ГЕРОНТОЛОГІЇ ІМ. Д.Ф. ЧЕБОТАРЬОВА НАМН УКРАЇНИ", вул. Вишгородська, 67, м. Київ, 04114 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.02.2014, Бюл.№ 4	

(54) СПОСІБ ЗАПОБІГАННЯ ПРОЯВІВ МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ ПРИ ДІЇ ІОНІЗУЮЧОГО ОПРОМІНЕННЯ

(57) Реферат:

Спосіб запобігання проявів метаболічного синдрому при дії іонізуючого опромінення шляхом застосування нормобаричного гіпоксичного впливу. Гіпоксичний вплив газовою сумішшю 10 об % O₂ здійснюють протягом 5 хв. до R-опромінювання та у процесі опромінювання при дозі 5 Гр - 10 хв.

UA 88072 U

Корисна модель належить до радіобіології та профілактичної медицини, зокрема ендокринології, геронтології.

Іонізуюче опромінення (ІО) стрибкоподібно викликає множинні зміни на різних рівнях біологічної організації, що прискорює розвиток вікових змін, сприяє формуванню патологічних станів і є фактором ризику розвитку так званих "звичайних" хвороб старості: атеросклерозу, артеріальної гіпертензії, ожиріння, цукрового діабету (ЦД) та метаболічного синдрому (МС), серед ознак якого провідними є: 1) інсулінорезистентність (ІР) з наступною компенсаторною гіперінсулінемією та порушенням толерантності організму до глюкози, 2) дисліпопротеїнемія; 3) патологія серцево-судинної системи (ССС). Тому велике значення має дослідження вікових змін проявів МС, зумовлених впливом ІО, а також пошук заходів, які б ефективно їх попереджували або зменшували.

Відомий "Спосіб лікування екстремальною гіпоксією та гіперкапнією" (Патент РФ № 2387463) з використанням газової суміші із вмістом кисню 10 об %, який відноситься до екстремальної гіпоксії, діє на генетичні механізми та сприяє росту апоптозу в першу чергу тих клітин, які мають генетичні порушення. При екстремальній гіпоксії відбувається виведення із судинного русла дефектних еритроцитів, що покращує реологічні властивості крові; відбувається виведення дефектних клітин макрофагами з різних органів та тканин, що сприяє оновленню тканин організму. Однак, поряд з цим відбувається ряд змін, що мають негативний ефект за умов дії ІО. У результаті довготривалого екстремального гіпоксичного впливу (ГВ, протягом 30 хв. з наступним продовженням сеансу до виникнення перших ознак декомпенсації серцевої діяльності) виявлена значна активація глюкортикоїдної функції кори надниркових залоз та ріст стресіндукованої гіперглікемії. Підвищення у внутрішньому середовищі організму концентрації глюкози та продуктів гліколізу спричиняє негативний вплив у віддалені строки після дії ІО та може сприяти виникненню радіаційно-обумовленої ІР.

За прототип вибраний "Спосіб комбінованого лікування хворих на гіпертонічну хворобу із супутнім ЦД 2 типу" (Пат. України № 23842, МПК А61В10/02. Опубл. 11.06.2007, Бюл. № 8), що включає застосування фармакологічних засобів, які пригнічують активність симпатичної нервової системи, на фоні гіпоксичних тренувань. Таким чином, гіпоксичне тренування тут є лише доповненням до фармакологічного лікування, але його дія направлена на зниження глікемії, базального рівня інсуліну (Інс) в крові, рівня глікозилизованого гемоглобіну (HbA_{1c}) та зменшення індексу ІР. Недоліком цього методу є те, що він не дозволяє запобігти виникненню ІР за умов дії ІО, а застосовується лише для лікування вже хворих на ЦД 2 типу та гіпертонічну хворобу.

В основу даної корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб запобігання проявів МС організму за допомогою екстремального ГВ до та в процесі опромінювання. Вирішення поставленої задачі досягається тим, що в спосіб застосовують ГВ (кисневу суміш з концентрацією O₂ 10 об %) до та в процесі рентгенівського опромінювання (R-опромінювання) в сублетальній дозі.

Спосіб здійснюється наступним чином

Самців щурів різних вікових груп піддають гіпоксичному впливу до та в процесі R-опромінювання (в сублетальній дозі 5 Гр). ГВ здійснюють наступним чином: кисневу подушку об'ємом 42 л наповнюють газовою сумішшю (виробництво ОАО "Линдегаз Україна"). На клітку з тваринами надягають великий поліетиленовий пакет та роблять знизу отвір, до якого під'єднують кисневу подушку. На подушку надавлюють зверху, газова суміш з 10 об % O₂ наповнює пакет та витискує в отвір знизу більш важке повітря. Ця процедура продовжується 5 хв. до та 10 хв. протягом R-опромінювання. Тварин піддавали дії R-опромінювання в сублетальній дозі 5 Гр, яка може призводити до розвитку гострої променевої хвороби. Опромінювання здійснювалось за допомогою рентгенівського апарату "РУМ-17" за наступних умов: напруга на трубці - 170 кВ; сила струму - 12 мА; фільтр - 0,5 мм Cu і 1,0 мм Al; фокусна відстань - 45 см; потужність дози - 0,5 Гр за хв.; тривалість опромінювання - 10 хв.

Розроблення даного способу стало можливим завдяки проведеним експериментальним дослідженням на нелінійних щурах-самцях двох вікових груп: дорослих (6 міс.) та старих (24 міс.). Забій тварин проводили за допомогою цервікальної дислокації через 30 діб після R-опромінювання. Для оцінки стану чутливості тканин до Інс був використаний розрахунковий показник - індекс НОМА, який визначається наступним чином: $I \times G / 22,5$, де I - рівень Інс натще; G - рівень глюкози крові натще. [Matthews D.R., Hosker J.P., Rudenski A.S. et. al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man // Diabetology. - 1985. - V.28. - P. 412-419]. В крові натще визначали рівні Інс - радіоімунологічним методом, глюкози - глюкозооксидазним, HbA_{1c} - колориметричним методом. Рівень холестерину (ХС) в тканині печінки визначали спектрофотометричним

методом. Рівень стабільних метаболітів оксиду азоту (NO): нітрит (NO₂) - аніонів в плазмі крові та в гомогенатах тканин аорти і міокарда - визначали спектрофотометричним методом з використанням реактиву Грісса за методом Гріна [Analysis of nitrate, nitrite, and [¹⁵N] nitrate in biological fluids / L.C. Green, D.A. Wagner, J. Glogowski [et al.] // Analyt. Biochem. - 1982. - V. 126. - P. 131-138]. Дослідження скорочувальної здатності ізольованих сегментів грудної аорти проводили за модифікованою методикою [Sjolin L., Hellstrand P., Clementz B. An apparatus for mechanical experiments on isolated smooth muscle // Acta Physiol. Scand. - 1978. - № 102. - P. 32A-33A]. Скорочувальну активність гладеньких м'язів ізольованих сегментів грудної аорти реєстрували в режимі, близькому до ізометричного, за допомогою механоелектричного перетворювача 6MX-1C. У роботі були використані норадреналін (НА, Serva, Німеччина) та Інс (ЗАТ "Фармацевтична фірма "Дарниця", Україна). Для визначення скорочувальної здатності ізольованих сегментів грудної аорти в буферний розчин додавали НА у кінцевій концентрації 100 нмоль/л. Інс використовували в кінцевій концентрації - 600 мОд/мл. Для визначення вазодилаторної дії Інс сегменти аорти попередньо активували НА (100 нмоль/л).

У дорослих щурів через 30 діб після R-опромінювання в зазначеній дозі була виявлена виражена тенденція до зниження рівня Інс у плазмі крові. Це може бути передумовою до розвитку ЦД 1 типу у дорослих тварин у відставлені терміни після дії ІО. Як було показано нашими попередніми дослідженнями, в ранні строки (через 2 доби) після R-опромінювання в зазначеній дозі виявлено вірогідне підвищення рівня Інс у плазмі крові порівняно з контролем (Патент України № 59419). Таким чином, тривала стимуляція інсулярного апарату прогностично несприятлива через можливість його виснаження і подальшого виникнення інсулінової недостатності. У старих опромінених щурів не спостерігалось достовірних змін рівня Інс у плазмі крові. При цьому рівень глюкози в плазмі крові дорослих щурів через 30 діб після дії ІО не змінювався, а у старих достовірно підвищувався. Це дозволяє зробити висновок про виражену передумову до розвитку радіаційно-індукованого ЦД у старих тварин у відставлені строки після дії ІО. Підвищення рівня глюкози в крові супроводжується активацією утворення різних сполук глюкози з білками. Рівень HbA_{1c} відображає середню концентрацію глюкози в організмі за останні 2-3 міс. 10 підвищувало рівень HbA_{1c} в плазмі крові дорослих щурів, що свідчить про високий рівень гіперглікемії протягом 30 діб після дії ІО. У старих опромінених тварин не було виявлено достовірних змін зазначеного показника. Можна припустити, що підвищення рівня глюкози в крові старих опромінених щурів є наслідком зниження утилізації глюкози тканинами внаслідок підвищення ІР організму. Це й засвідчили наші дослідження: у старих щурів, на відміну від дорослих, через 30 діб після впливу ІО індекс НОМА підвищувався, що свідчить про підвищення ІР і може бути передумовою розвитку ЦД 2 типу. ГВ до та в процесі опромінювання запобігав виникненню тенденції до зниження рівня Інс та підвищення рівня HbA_{1c} у плазмі крові дорослих щурів в зазначений термін після дії ІО в сублетальній дозі та істотно не впливав на вказані показники у старих опромінених тварин. ГВ запобігав підвищенню рівня глюкози в крові та підвищенню ІР у старих щурів, що оцінювалась за індексом НОМА, та істотно не впливав на вказані показники у дорослих тварин після дії ІО.

Таблиця

Показник	Контроль		Опромінення		Гіпоксія+опромінення	
	дорослі n=6	старі n=6	дорослі n=6	старі n=6	дорослі n=6	старі n=6
Інсулін, мкМО/мл	2,97±0,43	2,52±0,20	2,03±0,04	2,31±0,16	2,92±0,21 [#]	2,56±0,25
Глюкоза, ммоль/л	3,33±0,33	3,44±0,34	3,67±0,33	4,69±0,35 [*]	3,47±0,34	3,67±0,36
Глікозильований гемоглобін, мкмоль/л	7,06±0,24	6,96±0,28	7,88±0,18 [*]	7,76±0,27	7,18±0,38	7,56±0,27
Індекс НОМА	4,39±0,44	3,85±0,30	3,68±0,38	4,98±0,38 [*]	4,28±0,45	4,22±0,42
Маса тіла, г	258±20	287±10	264±27	305±21	254±29	281±12
Холестерин в печінці, ммоль/л	2,14±0,09	2,66±0,04	2,56±0,06 [*]	2,80±0,25	2,12±0,04 [#]	2,28±0,22
NO ₂ -аніон в крові, мкмоль/л	2,08±0,58	1,60±0,14	0,70±0,18 [*]	1,78±0,68	1,22±0,17	2,07±0,23
NO ₂ -аніон в аорті, мкмоль/г	1,78±0,43	0,60±0,06	0,78±0,08 [*]	0,38±0,07 [*]	1,42±0,17 [#]	0,57±0,09
NO ₂ -аніон в серці, мкмоль/г	2,71±0,03	2,31±0,02	2,42±0,06 [*]	2,55±0,11	2,72±0,07 [#]	2,86±0,08 ^{*#}

Продовження таблиці

Показник	Контроль		Опромінення		Гіпоксія+опромінення	
	дорослі n=6	старі n=6	дорослі n=6	старі n=6	дорослі n=6	старі n=6
Скорочувальна здатність аорти на НА, мН	5,42±0,91	5,99±0,64	2,73±0,18*	2,77±0,28*	3,19±0,17*	6,26±0,37 [#]
Дилататорна здатність аорти на Інс, %	32,6±4,2	33,9±3,3	66,7±4,5*	44,0±3,1*	58,5±4,8*	62,9±1,6 [#]

Примітки: * - достовірна відмінність порівняно з контролем.

- достовірна відмінність порівняно з групою опромінених тварин.

Одним з проявів розвитку МС є порушення жирового обміну, що, в кінцевому підсумку, може сприяти збільшенню маси тіла. Через 30 діб після дії ІО виявлено запобігання тенденції до підвищення маси тіла у старих щурів, підданих ГВ до і в процесі опромінювання. Рівень ХС в тканині печінки дорослих опромінених щурів підвищувався порівняно з контролем, що є проявом порушення ліпідного обміну і ознакою розвитку МС. Можливо, причиною підвищення рівня ХС в тканині печінки опромінених щурів є радіаційно-індукована активація процесів ПОЛ в тканині печінки. В результаті оксидативного стресу може відбуватися некроз і апоптоз гепатоцитів з розвитком жирової дистрофії в печінковій тканині. ГВ запобігав підвищенню рівня ХС в тканині печінки дорослих щурів у зазначений термін після R-опромінювання.

З усіх факторів, що синтезуються ендотелієм, найбільш істотна роль в регуляції основних його функцій належить NO. Відомо, що дефіцит NO відіграє особливу роль у виникненні та патогенезі багатьох захворювань ССС. ГВ запобігав зниженню рівня NO₂-аніону в плазмі крові дорослих опромінених щурів. ГВ не приводив до достовірних змін рівнів стабільних метаболітів NO в плазмі крові старих опромінених щурів. ГВ запобігав зниженню рівня NO₂-аніону в тканині аорти опромінених щурів обох вікових груп. ГВ запобігав зниженню рівня NO₂-аніону в тканині серця дорослих опромінених щурів. Рівень NO₂-аніону в тканині серця старих опромінених щурів, підданих ГВ, підвищувався як порівняно з контролем, так і порівняно з групою опромінених тварин.

Велике значення у формуванні судинного тону мають вазоконстрикторні реакції. Для вивчення реакційної здатності гладеньком'язових клітин (ГМК) судин до скорочення використовували α-адреноміметик НА. Через 30 діб після одноразового R-опромінення зменшувалась скоротлива реакція ізольованих сегментів грудної аорти на дію НА як дорослих, так і старих тварин. Можливо ослаблення ендотелієзалежної скорочувальної реакції судинних сегментів опромінених тварин обох вікових груп на НА порівняно з контролем пов'язано з радіоіндукованим зниженням скорочувальної здатності міоцитів судин. ГВ не впливав на знижену вазоконстрикторну реакцію на НА сегментів грудної аорти дорослих опромінених щурів та запобігав зниженню вазоконстрикторної реакції у старих опромінених щурів на НА, тобто справляв радіопротекторний вплив на ГМК судин. Відомо, що Інс крім специфічної дії, спричиняє також судинорозширювальну дію і таким чином справляє виражений вплив на метаболізм і тонус судинної стінки. Через 30 діб після одноразового R-опромінювання збільшувалась чутливість судинної стінки до вазодилаторної дії Інс як у дорослих, так і у старих щурів, що можна розглядати як компенсаторний механізм, спрямований на адаптацію до несприятливого впливу ІО. ГВ істотно не впливав на вазодилаторну реакцію аорти на дію Інс у дорослих опромінених щурів та достовірно її підвищував у старих опромінених тварин як в порівнянні з контролем, так і з групою опромінювання. Отже, ГВ у старих опромінених тварин сприяв збільшенню судинорозширювальної дії Інс. Таким чином, ГВ у процесі опромінювання справляв позитивний вплив на судини старих опромінених щурів, а саме: запобігав зниженню вазоконстрикторної реакції сегментів аорти на НА, тобто справляв радіопротекторний вплив на ГМК судин та підвищував вазодилаторну реакцію на Інс.

Таким чином, ГВ у дорослих опромінених тварин запобігав тенденції до зниження рівня Інс та підвищенню рівня HbA_{1c} у плазмі крові, підвищенню рівня ХС в тканині печінки та зниженню рівня NO₂-аніонів у плазмі крові, тканинах аорти та серця. ГВ у старих опромінених тварин запобігав підвищенню рівня глюкози у плазмі крові та ІР, тенденції до підвищення маси тіла та підвищував рівні NO₂-аніонів в тканинах аорти та серця, запобігав зниженню вазоконстрикторної реакції сегментів аорти на НА та підвищував вазодилаторну реакцію аорти на Інс.

Результати наших досліджень підтверджують актуальність пошуку немедикаментозних, нешкідливих, такого, як, наприклад, екстремальний ГВ (використання газової суміші з 10 об % O_2), заходів, які б ефективно зменшували (або гальмували) радіаційно-обумовлені діабетогенні порушення ендокринної функції підшлункової залози та/або вуглеводного та ліпідного обміну, зниження рівня стабільних метаболітів NO та порушення скорочувальної здатності судин. Запобігання за допомогою ГВ, сполученого з опромінюванням, ряду проявів радіоіндукованого МС у дорослих і старих тварин свідчить про перспективність дослідження можливості корекції відповідних порушень, обумовлених впливом ІО, у осіб дорослого та похилого віку.

10

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб запобігання проявів метаболічного синдрому при дії іонізуючого опромінення шляхом застосування нормобаричного гіпоксичного впливу, який **відрізняється** тим, що гіпоксичний вплив газовою сумішшю 10 об % O_2 здійснюють протягом 5 хв. до R-опромінювання та у процесі опромінювання при дозі 5 Гр - 10 хв., що приводить до запобігання проявів метаболічного синдрому, а саме: до зниження радіаційно-обумовлених гіперглікемії, інсулінорезистентності, тенденції до підвищення маси тіла, та до підвищення рівнів стабільних метаболітів оксиду азоту в тканинах аорти та серця, нормалізації вазоконстрикторної реакції аорти на норадреналін, покращання вазодилататорної реакції на інсулін у старих щурів; до зниження рівнів глікозильованого гемоглобіну в крові та холестерину в тканині печінки, підвищення рівнів інсуліну та стабільних метаболітів оксиду азоту в крові та тканинах аорти і серця дорослих опромінених тварин.

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601