

УДК 616-03:615:577:612.014.464:539.1.047

РОЛЬ БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ЦИСТАМИНА В РЕАЛИЗАЦИИ ПОТЕНЦИРОВАНИЯ ПРОТИВОЛУЧЕВЫХ СВОЙСТВ РАДИОПРОТЕКТОРА В РЕЖИМЕ ЕГО ПОВТОРНОГО ПРИМЕНЕНИЯ

© 2024 г. М. В. Васин^{1,2,*}, И. Б. Ушаков³, Р. В. Афанасьев²

¹Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава РФ, Москва, Россия

²Научно-исследовательский испытательный центр (авиационно-космической медицины и военной эргономики) ЦНИИ ВВС МО РФ, Москва, Россия

³Государственный научный центр – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА РФ, Москва, Россия

*E-mail: vv4sin80@yandex.ru

Поступила в редакцию 27.02.2023 г.

После доработки 03.08.2023 г.

Принята к публикации 24.07.2024 г.

Ранее был обнаружен феномен (Б.И. Давыдов, 1971, М.В. Васин, В.В. Антипов, 1972) по потенцированию противолучевых свойств аминотиолов (цистамина) при повторном применении в первые 7 ч последействия препарата с увеличением его активности в 2 раза. Предложена гипотеза по объяснению данного феномена. Механизм противолучевых свойств цистамина связан с частичной нейтрализацией кислородного эффекта с развитием в клетке восстановительного стресса, который не завершается после прекращения защитного действия радиопротектора. В организме на уровне клетки осуществляются механизмы с обратной отрицательной связью, препятствующие в полной мере осуществлению пагубных последствий восстановительного стресса, где ведущую роль занимает транскрипционный индуцируемой гипоксией фактор HIF-1, который усиливает в этих условиях продукцию АТФ за счет гликолиза и тем самым снижает нагрузку на процессы окислительного фосфорилирования в условиях острой гипоксии. При повторном применении цистамина в первые 7 ч его последействия после прекращения его противолучевой активности имеет место усиление проявления восстановительного стресса в виде метаболических сдвигов с развитием глубокой гипотермии у животных до 29°C ректальной температуры, что препятствует реализации действия HIF-1. Эти процессы способствуют более полной реализации пострadiационной репарации разрывов ДНК за счет предоставления для нее большего времени в условиях более длительной гипотермии и митотической блокады под действием цистамина.

Ключевые слова: потенцирование противолучевых свойств, цистамин, повторное применение радиопротектора, гипотермия, острая гипоксия, восстановительный стресс, HIF-1

DOI: 10.31857/S0869803124050048, EDN: LNVYNF

Радиопротектор цистамин нашел применение в практике медицины как наиболее активный блокатор тканевой транслугтаминазы для лечения нейродегенеративных заболеваний [1–3]. Кроме того, цистамин как блокатор расщепления глицина проходит доклинические испытания в виде средства лечения вирусной пневмонии, включая осложнения при COVID-19 [4]. Цистамин также является ингибитором соматостатина с последующим усилением функции ростовых гормонов, щитовидной железы, секреции инсулина, и в итоге приводящим к росту массы тела, что находит применение в животноводстве [5].

По этой причине все ранее проведенные разносторонние исследования по фармакокинетике и фармакодинамике цистамина могут представлять

интерес для анализа специфических фармакологических свойств препарата. Одна из особенностей действия цистамина связана с метаболическими сдвигами в организме под его воздействием при реализации его противолучевых свойств.

Впервые на роль метаболических сдвигов под действием цистамина в механизме его действия обратил внимание бельгийский фармаколог З. Бак, предложивший гипотезу «биохимического шока», важными компонентами которого он рассматривал рост концентрации тиольных групп в клетке и, второе, высвобождение из тканей биогенных аминов (серотонина и гистамина) и ряда ферментов [6–8]. В этих условиях также было отмечено повышение в организме потребления кислорода [9]. Данный факт повышения потребления кислорода на разных моде-

лях, а также расщепление окислительного фосфорилирования под действием цистамина были подтверждены на уровне клетки [10–14].

В настоящем мини-обзоре проведен анализ возможной роли метаболических эффектов в реализации обнаруженного Б.И. Давыдовым [15], а также М.В. Васиным и В.В. Антиповым [16] феномена потенцирования противолучевого эффекта цистамина при его повторном применении в первые часы последствия первой дозы радиопротектора во время завершения его радиозащитного действия.

ПРОЯВЛЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКОГО ШОКА НА ПРОЦЕССАХ КЛЕТОЧНОГО ДЫХАНИЯ

При морфологическом исследовании феномена биохимического шока выявлено набухание митохондрий с дезорганизацией их структур с фрагментацией крист [17–19]. Набухание митохондрий — частый, неспецифический и обратимый феномен, возникающий при воздействии острой гипоксии, отравлениях химическими веществами, а также сопровождающийся острыми паталогическими состояниями.

Изменение состояния тиол/дисульфидного равновесия в дыхательной цепи с увеличением числа SH-групп ведет к повышенной продукции реактивных форм кислорода, повреждающих мембраны митохондрии с развитием их отека и дезорганизацией крист, что нарушает, прежде всего, функционирование дыхательной цепи [20]. Набухание митохондрий обусловлено также их деполяризацией при активном участии митохондриального калиевого цикла [21, 22] и стимулируется ионами кальция и тироксином. Коллапс митохондриального потенциала мембраны характеризуется расщеплением окислительного фосфорилирования, повышением проницаемости внутренней мембраны митохондрий и появлением их набухания [23].

Под действием природных антиоксидантов, каталазы, глутатионпероксидазы, АДФ, АТФ и Mg^{2+} митохондрии восстанавливают свою исходную структуру. Большая часть АТФ генерируется митохондриальным электрохимическим градиентом $\Delta\Psi$ и комплексом АТФ-синтаз. Метаболизм сукцината в электронном потоке комплекса II дыхательной цепи восстанавливает в условиях гипоксии мембранный потенциал и содержание АТФ [24].

Изменение структуры митохондрий в виде набухания непосредственно отражается на работе ее дыхательной цепи, а именно на степени сопряжения процессов переноса электронов и окисли-

тельного фосфорилирования, измеряемого отношением Р/О. Максимальные значения Р/О отмечаются при наибольшей целостности митохондрий. При расщеплении окислительного фосфорилирования под действием острой гипоксии значения Р/О уменьшаются. При набухании митохондрий расстояние между наружной и внутренней мембранами сокращается, и усиливается энергетический поток прохождения электронами мембран с освобождением энергии в виде тепла за счет интенсификации процессов свободного окисления кислорода. Данное явление сопровождается интенсивным потреблением кислорода и выделением энергии, стимулируется адреналином и глюкагоном, а также избытком субстрата для окисления (сукцинатом) [25, 26].

Ключевую роль в данном процессе играет активация K^+ АТФ-каналов под действием острой гипоксии, которая приводит к ускорению функционирования комплекса IV дыхательной цепи при подавлении комплекса III, что сопровождается расщеплением окислительного фосфорилирования и ростом потребления кислорода [27].

Под действием радиопротекторов из ряда аминокислот также происходит разобщение окислительного фосфорилирования, сопровождающееся набуханием митохондрий и интенсификацией процессов свободного окисления [10–14]. Аминокислоты увеличивают содержание восстановленных эквивалентов в митохондриях вплоть до развития клеточного восстановительного стресса, препятствующего реализации окислительного стресса в первые часы после облучения. После прекращения действия радиопротектора тиоловый восстановительный стресс еще продолжается в течение нескольких часов, что находит свое проявление в повышении общей радиорезистентности организма на 20–25% по тесту выживаемости мелких лабораторных животных в первые часы после воздействия смертельных доз радиации [28–32].

Резкое снижение содержания АТФ в клетке в этих условиях — итог и объективный признак развития острой клеточной гипоксии. Такое состояние может поддерживаться только определенное время и завершается либо развитием адаптивных реакций, расширяющих возможности жизнедеятельности клетки в новых условиях, либо необратимыми сдвигами, ведущими к ее гибели. Митохондриальная деполяризация и образование в них пор — черты апоптотической и некротической гибели клетки, вызванной, в частности, реперфузионными повреждениями после ишемии тканей.

Завершение адаптивных процессов в клетках и выход из состояния биохимического шока должны вести к снижению и прекращению реализации противолучевого эффекта острой гипоксии и радиопротекторов. В итоге нарушение клеточного дыхания, сопровождающееся ростом восстановительных эквивалентов в радиочувствительной ткани до развития восстановительного стресса, —

неизбежное условие реализации противолучевого эффекта радиопротекторов [29]. По этой же причине пролонгация гипоксического воздействия с формированием адаптивных реакций приводит к снижению его противолучевого эффекта [33, 34]. К адаптивным реакциям можно отнести реализацию гормонального компонента биохимического шока: выброса в кровь катехоламинов и глюкокортикои-

Таблица 1. Зависимость противолучевого эффекта цистамина от дозы препарата и величины временного интервала между его повторными введениями в условиях γ -облучения при мощности дозы 44–53 сГр/мин в опытах на белых беспородных мышках-самках [16]

Table 1. Dependence of radioprotective effect of cystamine on the dose of the drug and the time interval between its repeated injections under conditions of γ radiation at a dose rate of 44–53 cGy/min in experiments on white outbred female mice [16]

Доза, мг/кг	Кратность введения	T , ч	n	ЛД _{50/30} с доверительным интервалом при $p = 0.05$. сГр	ФУД	ФУД ₂ /ФУД ₁
Контроль	-	-	139	724.1 (705.0-747.8)	-	
200	1	-	67	1040.0 (1002.6-1077.4)	1.43 (1.34-1.52)	-
150	1	-	59	950.0 (875.0-1030.0)	1.31 (1.17-1.46)	-
100	1	-	40	871.0 (803.5-944.1)	1.20 (1.08-1.34)	-
75	1	-	78	809.6 (781.7-837.5)	1.11 (1.05-1.19)	-
50	1	-	60	777.3 (751.8-803.5)	1.07 (1.01-1.14)	-
100	2	1	69	1049.1 (1014.4-1084.4)	1.44 (1.36-1.54)	2.2
75	2	1	61	895.4 (806.8-924.0)	1.23 (1.08-1.31)	2.0
50	2	1	57	843.3 (822.2-867.0)	1.16 (1.10-1.23)	2.3
150	2	2	63	1126.2 (1067.6-1188.4)	1.55 (1.43-1.69)	-
100	2	2	57	1028.0 (945.8-1110.2)	1.41 (1.27-1.58)	2.0
75	2	2	58	891.3 (871.6-911.0)	1.23 (1.17-1.29)	2.0
50	2	2	30	831.8 (788.9-879.0)	1.15 (1.06-1.25)	2.0
150	2	3	53	1112.0 (1031.2-1200.2)	1.53 (1.38-1.70)	-
100	2	3	59	988.6 (963.9-1013.3)	1.36 (1.29-1.44)	1.8
75	2	3	59	880.0 (852.2-907.8)	1.21 (1.14-1.29)	2.0
50	2	3	60	809.1 (785.0-831.8)	1.11 (1.05-1.18)	1.6
150	2	4	62	1094.0 (1019.0-1175.0)	1.51 (1.36-1.67)	-
100	2	4	80	944.1 (908.2-980.0)	1.30 (1.22-1.39)	1.5
50	2	4	50	799.8 (790.2-827.9)	1.10 (1.06-1.17)	1.4
150	2	5	66	1054.0 (990.8-1122.0)	1.45 (1.33-1.59)	-
100	2	5	60	933.3 (861.0-1012.8)	1.28 (1.15-1.44)	1.4
150	2	7	55	990.8 (941.9-1042.0)	1.36 (1.26-1.48)	-
150	2	10	59	900.0 (818.5-988.6)	1.24 (1.10-1.40)	-
150	2	24	59	933.3 (885.1-984.0)	1.29 (1.18-1.40)	-
50	2	24	30	759.1 (729.5-793.2)	1.05 (0.98-1.13)	-

Примечание. n — число животных, T — интервал времени между введениями препарата, ФУД₁ и ФУД₂ для однократно-го и двукратно-го применения цистамина перед облучением в одной и той же дозе препарата.

дов [35]. Причем адренергическая стимуляция после введения цистамина продолжается не менее 1 ч [36]. Цистамин, вызывая вазодилатацию через блокаду трансглутаминазы, препятствует тем самым вазоконстрикторному действию альфа1-адреноагонистов о и серотонина [37].

ПОТЕНЦИРОВАНИЕ ПРОТИВОЛУЧЕВЫХ СВОЙСТВ ЦИСТАМИНА ПРИ ЕГО ПОВТОРНОМ ПРИМЕНЕНИИ

По представленным в табл. 1 данным предварительное применение цистамина за несколько часов до введения второй такой же по величине дозы препарата приводит к суммации эффектов двух доз радиопротектора [16]. Зависимость доза—эффект имеет место как по проявлению противолучевой активности, так и по его продолжительности. В данном случае суммация эффектов двух доз происходит в условиях, когда время проявления противолучевых свойств первой дозы радиопротектора завершается (табл. 2) [31]. Снижение величины первой дозы цистамина сокращает время возможного потенцирования его эффекта при повторном применении радиопротектора.

Вторую дозу цистамина вводили внутрибрюшинно за 5 мин до облучения.

Повторное через 1 ч применение цистамина в малоэффективной дозе 20 мг/кг после введения оптимальной радиозащитной дозы 150 мг/кг в опытах на мышах позволяет сохранять противо-

лучевое действие в течение нескольких часов к моменту завершения проявления активности радиопротектора при его однократном введении к этому сроку [15]. В этот период последствий первой дозы цистамина имеется повышенная чувствительность к токсическим дозам препарата, которая усиливается под действием смертельных доз радиации [38, 39].

СВЯЗЬ ЭФФЕКТА ПОТЕНЦИРОВАНИЯ ПРОТИВОЛУЧЕВЫХ СВОЙСТВ ЦИСТАМИНА ПРИ ЕГО ПОВТОРНОМ ПРИМЕНЕНИИ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМИ СДВИГАМИ В ОРГАНИЗМЕ

Реализация противолучевого эффекта цистамина при его повторном применении происходит на фоне метаболических сдвигов в организме, имеющих место по завершении противолучевого действия первой дозы препарата. Аминотиолы, прежде всего, восстановленная их форма, после преобразования молекулы в организме со свободной тиольной группой сдвигают тиол-дисульфидное равновесие с усилением восстановительных эквивалентов. Это воздействие сопровождается увеличением концентрации в клетках эндогенного восстановленного глутатиона [40]. Данный сдвиг в редокс-системе сохраняется в течение нескольких часов после прекращения противолучевого действия аминотиола вследствие его распада и выведения из организма [40]. Экзогенный аминотиол может вытеснять эндогенные тиолы из смешанных с белками дисульфидов и одновременно повышать синтез

Таблица 2. Противолучевая эффективность цистамина (150 мг/кг, в/бр) при различных сроках его применения до γ -облучения в дозе 9 Гр при мощности дозы 1.4–1.6 Гр/мин в опытах на белых беспородных мышах-самках [31]
Table 2. Radioprotective efficacy of cystamine (150 mg/kg, i.p.) for various periods of its use before γ irradiation at a dose of 9 Gy at a dose rate of 1.4–1.6 Gy/min in experiments on white outbred female mice [31]

Группа	Срок применения препарата	n	Выживаемость к 30-м сут после облучения, %	СПЖ, сут
Биологический контроль	—	40	100	—
Контроль на облучение	—	171	0.6	6.7 ± 0.2
Цистамин	5 мин	47	91.5*	13.8 ± 1.0*
	30 мин	57	75.4*	13.8 ± 2.1*
	1 ч	29	10.3	13.6 ± 0.9*
	3 ч	66	19.3*	11.0 ± 0.4*
	5 ч	20	25.0*	9.2 ± 0.8*
	8 ч	19	0	7.2 ± 0.4
	12 ч	20	0	8.9 ± 0.6

* $p < 0.05$.

глутатиона, лимитирующим фактором которого является глутамат-цистеиновая лигаза. Активация данного синтеза во многом предопределена острой тканевой гипоксией под действием аминотиола и, прежде всего, инициирована повышенной в этих условиях продукцией фактора HIF-1 [41–43].

Для синтеза глутатиона необходимы глутамат и цистеин. Блокада синтеза цистеина устраняет увеличение содержания в ткани глутатиона под действием цистеамина, но не устраняет противолучевой эффект радиопротектора и не влияет на его токсичность [44, 45]. Эндогенные тиолы важны для поддержания природной радиорезистентности организма, но тем не менее двукратное увеличение их содержания в ткани не оказывает выраженного противолучевого эффекта, свойственного радиопротекторам [46, 47]. Аминотиолы, вступая во

взаимодействие в виде дисульфидных связей с ферментами дыхательной цепи, моделируют их активность. Данные процессы сопровождаются расщеплением окислительного фосфорилирования, что после кратковременного повышения потребления кислорода тканями завершается глубокой тканевой гипоксией [48], снижением потребления кислорода и температуры тела животных. При повторном применении цистамина имеет место усугубление гипотермического состояния мышей и увеличение его продолжительности в течение многих часов (рис. 1) [49].

Биохимические сдвиги при реализации восстановительного стресса под действием аминотиолов, приводящие к потенцированию противолучевого эффекта радиопротектора при его повторном применении, одновременно усиливают его токсические проявления [16], т.е. имеет место своеобразная форма сенсibilизации к воздействию препарата. Цистеамин способен подавлять активность глутатионпероксидазы и усиливать продукцию H_2O_2 в токсических дозах.

В основные компоненты, обеспечивающие функционирование редокс-системы, входят в соотношения окисленных и восстановленных форм НАД⁺/НАДН, НАДФ⁺/НАДФН и GSH/(GSSG). Они ответственны за транспорт электронов, необходимый для генерации энергии в виде АТФ, и за ряд синтетических процессов. Дисбаланс в этих отношениях в условиях острой гипоксии приводит к развитию восстановительного стресса и связанным с ним сдвигам в биоэнергетических метаболических процессах, которые завершаются повышенной продукцией активных форм кислорода (АФК) и перекисных продуктов [50].

Наблюдаемое усиление противолучевого действия цистамина при повторном применении препарата с интервалом 1–7 ч связано с развитием в этих условиях более глубокой и длительной тканевой гипотермии под действием радиопротектора, что может потенцировать его защитный эффект [51]. При этом предшествующая в течение 2 ч гипотермия, вызванная нахождением мышей в камере при $-13^{\circ}C$, не усиливала гипотермию под действием радиопротектора (рис. 1) [49]. Это свидетельствует о специфических особенностях в сдвиге метаболизма под действием цистамина, приводящих к столь пролонгированному нарушению терморегуляции организма.

Таким образом, при равных первой и второй дозах от второй дозы происходят более глубокие изменения в метаболизме организма. Можно пред-

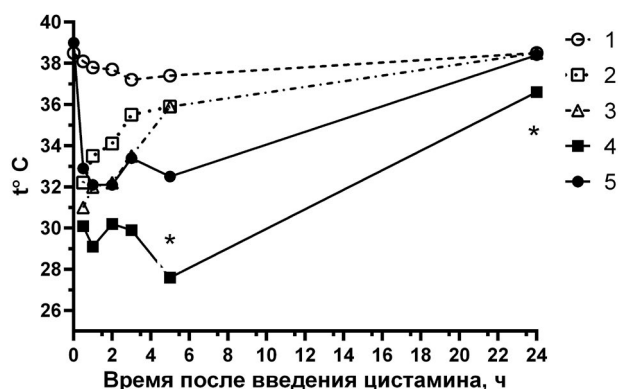


Рис. 1. Динамика снижения ректальной температуры у мышей после однократного или двукратного (с интервалом 2 ч) применения цистамина (100 мг/кг) за 5 мин перед γ -облучением в дозе 10 Гр [49]: 1 — биологический контроль при отсутствии кормления в течение 5 ч; 2 — пребывание мышей в термокамере при температуре $-13^{\circ}C$ в течение 2 ч; 3 — пребывание мышей в термокамере при температуре $-13^{\circ}C$ в течение 2 ч + цистамин; 4 — цистамин + через 2 ч цистамин; 5 — цистамин.

Примечание. Цистамин вводили внутривенно в дозе 100 мг/кг за 5 мин до облучения животных.

* $p < 0.05$ по сравнению с группой 5.

Fig. 1. Dynamics of rectal temperature decrease in mice after single or double (with an interval of 2 hours) administration of cystamine (100 mg/kg) before γ -irradiation at a dose of 10 Gy: 1 — biological control in the absence of feeding for 5 hours; 2 — mice stay in a thermal chamber at a temperature of $-13^{\circ}C$ for 2 hours; 3 — mice staying in a thermal chamber at $-13^{\circ}C$ for 2 hours + cystamine; 4 — cystamine + after 2 hours cystamine; 5 — cystamine.

Note. Cystamine was administered intraperitoneally at a dose of 100 mg/kg 5 min prior to irradiation of animals.

* $p < 0.05$ vs group 5.

положить, что острая гипоксия под действием аминотиола в принципе частично ограничена определенными эндогенными механизмами с обратной связью, которые полностью не срабатывают при повторном применении радиопротектора. Неизвестна только их потенциальная возможность в модификации его эффекта.

Одним из ответов на острую гипоксию является активация транскрипционного фактора HIF-1 [43], который усиливает в этих условиях продукцию АТФ за счет гликолиза и тем самым снижает нагрузку на процессы окислительного фосфорилирования [52]. В свою очередь HIF-1, наряду с ядерным фактором NF-κB, повышает активность индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS), ведущей к повышенной продукции NO, подавляющей тканевое дыхание [53]. Защитная роль NO от воздействия острой гипоксии связана с активацией K^+ -АТФазы, препятствующей перегрузке митохондрий потоком Ca^{2+} , что снижает их повреждения и интенсивность тканевого дыхания [54, 55]. Кроме того, в условиях острой гипоксии нитраты способны взаимодействовать с тиолами с образованием нитрозотиолов, в том числе нитрозоцистемина [56]. Все эти события могут препятствовать проявлению действия цистамина.

В то же время активированная первой дозой цистамина iNOS может быть подавлена повторным применением радиопротектора, что снимает одно из ограничений его противолучевого действия [57]. Важным компонентом является то, что аминотиолы наряду с торможением активности iNOS защищают ДНК клеток от повреждающего действия пероксинитрита, продукта реакции NO с супероксидным анионом из группы АФК [58].

Одним из итогов последствий восстановительного стресса является подавление митотической активности клеток и пролиферации тканей. Цистамин блокирует митоз на фазе перехода G_0-G_1 , для чего необходимо присутствие в среде H_2O_2 , а также блокирование связанного с протеинкиназой окисления [59–62]. Более длительная блокада клеточного цикла цистамином при его повторном применении может благоприятствовать ранней пострadiационной репарации в радиочувствительных тканях в ближайшие сутки после облучения. В опытах на бактериях было показано, что наряду с ведущей ролью гипоксического фактора в механизме действия цистамина немалое место занимает реализация его прямого эффекта на пострadiационную репарацию ДНК [63]. Роль индуцированной гипотермии в этих процессах весьма существ-

венна. Гипертермия в опытах *in vitro* существенно снижает радиозащитное действие цистамина [64].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Роль метаболических сдвигов при развитии восстановительного стресса под действием препаратов из семейства аминотиолов в реализации их специфических, в том числе противолучевых свойств представляет повышенный интерес на современном этапе в связи с расширением спектра их практического применения. Ранее обнаруженный феномен (Б.И. Давыдов, 1971; М.В. Васин, В.В. Антипов, 1972) по потенцированию противолучевых свойств цистамина при повторном применении не привлек должного внимания к механизму его реализации. Важно подчеркнуть, что данный факт отмечен во временные интервалы (несколько часов после применения цистамина), когда уже завершается противолучевое действие препарата вследствие его метаболизма. Остается сложный период его последствий, биофизический смысл которого был недостаточно ясен. Именно в этот период отмечено резкое, практически двукратное увеличение защитного эффекта цистамина при его повторном применении. Зависимость доза–эффект имеет место как по проявлению активности радиопротектора, так и по продолжительности его реализации. Это явление необходимо учитывать с целью фармакологической защиты в условиях пролонгированного облучения и при микрофракционировании облучения в целях радиотерапии онкологических больных. Предложена гипотеза по объяснению данного феномена. Механизм противолучевых свойств аминотиолов, включая цистамин, связан с частичной нейтрализацией кислородного эффекта как радиобиологического феномена с развитием в клетке восстановительного стресса, который не завершается после прекращения действия радиопротектора через 1 ч, а длится, как видно из табл. 1 на примере цистамина в дозе 150 мг/кг, до 5 ч после введения препарата. В организме на уровне клетки осуществляются механизмы с обратной отрицательной связью, препятствующие в полной мере осуществлению пагубных последствий восстановительного стресса. В нем ключевую роль занимает транскрипционный фактор HIF-1, который усиливает в этих условиях продукцию АТФ за счет гликолиза и тем самым снижает нагрузку на процессы окислительного фосфорилирования в условиях острой гипоксии. В свою очередь HIF-1 наряду с ядерным фактором NF-κB повышает активность индуцибельной

нитрооксидной синтазы (iNOS), ведущей к повышенной продукции NO, подавляющей тканевое дыхание. В условиях острой гипоксии нитраты способны взаимодействовать с тиолами с образованием нитрозотиолов, в том числе, нитрозоцистеамина, что может препятствовать проявлению действия цистамина. При повторном применении цистамина можно ожидать истощения мощности данных механизмов и усиления проявления защитных свойств аминотиола, как и его токсичности. Острая гипоксия у мелких лабораторных животных сопровождается снижением температуры тела. При повторном применении цистамина имеет место резкое усиление гипотермии у животных, что свидетельствует о более глубоком и продолжительном нарушении метаболизма. Это способствует более полной реализации пострadiационной репарации разрывов ДНК. Задержка в этих условиях митотического цикла под действием цистамина благоприятствует этим процессам.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Paul B.D., Snyder D.H. Therapeutic applications of cysteamine and cystamine in neurodegenerative and neuropsychiatric diseases. *Front. Neurol.* 2019;10:1315. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.01315>
- Jeitner T.M., Pinto J.T., Cooper A.J.L. Cystamine and cysteamine as inhibitors of transglutaminase activity *in vivo*. *Biosci. Rep.* 2018;38(5):BSR20180691. <https://doi.org/10.1042/BSR20180691>
- Palanski B.A., Khosla C. Cystamine and disulfiram inhibit human transglutaminase 2 via an oxidative mechanism. *Biochem.* 2018;57(24):3359–3363. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.8b00204>
- Fraser-Pitt D., Mercer D.K., Francis M.-L. et al. Cysteamine-mediated blockade of the glycine cleavage system modulates epithelial cell inflammatory and innate immune responses to viral infection. *Biochem. Biophys. Res. Commun. (BBRC)*. 2023;677:168–181.
- Shokrollahi B., Fazli A., Morammazi S. et al. Cysteamine administration in lambs grazing on mountain pastures: Effects on the body weight, antioxidant capacity, thyroid hormones and growth hormone secretion. *Vet. Med. Sci.* 2022;8(1):328–335. <https://doi.org/10.1002/vms3.644>
- Bacq Z.M., Beaumariage M.L., Van Caneghem P. Importance for radioprotective effect in mammals of pharmacological and biochemical actions of cysteamine and related substances. *Ann. Ist. Super. Sanita.* 1965;1(9):639–645.
- Bacq Z.M., Beaumariage M.L., Goutier R., Caneghem P. Van. The state of shock induced by cystamine and cysteamine. *Br. J. Pharmacol.* 1968;34:202–203.
- Plomteux G., Beaumariage M.L., Heusghem C., Bacq Z.M. Increase of certain enzymes in rat plasma following injection of a radioprotective dose of cysteamine. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 1966;163(1):230–231. [French]
- Bacq Z.M. Chemical protection against ionizing radiation. N.Y.: Tomas Press. Springfield, 1965.
- Ярмоненко С.П. Влияние цистамина на эндогенное дыхание. *Радиобиология.* 1961;1(6):903–905. [Yarmonenko S.P. The effect of cystamine on endogenous respiration. *Radiobiologiya.* 1961;1(6):903–905. (In Russ.)]
- Владимиров В.Г. Действие цистамина на окислительное фосфорилирование в селезенке облученных крыс. *Бюлл. эксперим. биол. мед.* 1962;54(11):55–58. [Vladimirov V.G. Effect of cystamine on oxidative phosphorylation in spleen of irradiated rats. *Bull. Exp. Biol. Med.* 1962;54(11):55–58. (In Russ.)]
- Кузнецов В.И., Танк Л.И. Изменение потребления кислорода эритроцитами под влиянием цистамина. *Радиобиология.* 1962;4(1):2–4. [Kuznesov V.I., Tank L.I. The change in oxygen consumption by red blood cells under the influence of cystamine. *Radiobiologiya.* 1962;4(1):2–4. (In Russ.)]
- Lelièvre P. Action of cystamine and cysteamine on the oxygen consumption and coupled oxidative phosphorylation of the liver mitochondria of rats. *Int. J. Radiat. Biol.* 1965;9(2):107–113.
- Skrede S. Effects of cystamine and cysteamine on the adenosine-triphosphatase activity and oxidative phosphorylation of rat liver mitochondria. *Biochem. J.* 1966;98(3):702–710.
- Давыдов Б.И. Элиминация цистамина в организме и пролонгирование его радиозащитного действия. Проблемы космической биологии Т. 14 (ред. П.П. Саксонов и Б.И. Давыдов). М.: Наука, 1971. С. 137–158. [Davydov B.I. Eliminaciya cistamina v organizme i prolongirovanie ego radiozashhitnogo dejstviya. Problems of space biology (Ed. P.P. Saksonov and B.I. Davydov), Moscow: Nauka, 1971. P. 137–158. (In Russ.)]
- Васин М.В., Антипов В.В. Противолучевая эффективность цистамина при его повторном применении перед воздействием облучения. *Радиобиология.* 1972;12(6):924–927. [Vasin M.V., Antipov V.V. Radioprotective efficacy of cystamine during its repeated administration before irradiation. *Radiobiologiya.* 1972;12(6):924–927. (In Russ.)]
- Lehninger A.L., Remmert L.F. An endogenous uncoupling and swelling agent in liver mitochondria and its enzymic formation. *J. Biol. Chem.* 1959;234:2459–2464.
- Lehninger A.L., Schneider M. Mitochondrial swelling induced by glutathione. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1959;5(1):109–116.
- Firket H., Lelièvre P. Effect of cystamine on the respiration, oxidative phosphorylation and ultrastructure of the mitochondria of the rat. *Int. J. Radiat. Biol. Relat. Stud. Phys. Chem. Med.* 1966;10(4):403–415.
- Dawson T.L., Gores G.J., Nieminen A.L. et al. Mitochondria as a source of reactive oxygen species during reductive stress in rat hepatocytes. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 1993;264(4. Pt. 1):C961–967. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1993.264.4.C961>
- Garlid K.D., Paucek P. The mitochondrial potassium cycle. *IUBMB Life.* 2001;52(3–5):153–158. <https://doi.org/10.1080/15216540152845948>
- Kaasik A.I., Safiulina D., Zharkovsky A., Veksler V. Regulation of mitochondrial matrix volume. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2007;292(1): C157–C63. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00272.2006>
- Fernandez-Gomez F.J., Galindo M.F., Gómez-Lázaro M. et al. Malonate induces cell death via mitochondrial potential collapse and delayed swelling

- through an ROS-dependent pathway. *Br. J. Pharmacol.* 2005;144(4):528–537.
<https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706069>
24. Hawkins B.J., Levin M.D., Doonan P.J. et al. Mitochondria I complex II prevents hypoxic but not calcium- and proapoptotic Bcl-2 protein-induced mitochondrial membrane potential loss. *J. Biol. Chem.* 2010;285(34):26494–26505.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M110.143164>
 25. Kraus-Friedmann N. Glucagon-stimulated respiration and intracellular Ca^{2+} . *FEBS Lett.* 1986;201(1):133–136.
[https://doi.org/10.1016/0014-5793\(86\)80585-3](https://doi.org/10.1016/0014-5793(86)80585-3)
 26. Mohan C., Memon A.R., Bessman S.P. Differential effects of insulin, epinephrine, and glucagon on rat hepatocyte mitochondrial activity. *Arch. Biochem. Biophys.* 1991;287(1):18–23.
[https://doi.org/10.1016/0003-9861\(91\)90382-s](https://doi.org/10.1016/0003-9861(91)90382-s)
 27. Akopova O., Nosar V., Gavenauskas B. et al. The effect of ATP-dependent potassium uptake on mitochondrial functions under acute hypoxia. *Bioenerg. Biomembr.* 2016;48(1):67–75.
<https://doi.org/10.1007/s10863-015-9642-8>
 28. Kehrer J.P., Lund L.G. Cellular reducing equivalents and oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.* 1994;17(1):65–75.
[https://doi.org/10.1016/0891-5849\(94\)90008-6](https://doi.org/10.1016/0891-5849(94)90008-6)
 29. Васин М.В., Ушаков И.Б., Бухтияров И.В. Стресс-реакция и состояние биохимического шока как взаимосвязанные и неизбежные компоненты при формировании повышенной радиорезистентности организма в условиях острой гипоксии. *Изв. РАН. Серия биол.* 2018(1):83–92.
<https://doi.org/10.7868/S0002332918010113>
 [Vasin M.V., Ushakov I.B., Bukhtiyarov I.V. Stress reaction and biochemical shock as interrelated and unavoidable components in the formation of high radioresistance of the body in acute hypoxia. *Biol. Bull.* 2018;45(1):73–81.
<https://doi.org/10.7868/S0002332918010113>
 30. Manford A.G., Rodriguez-Perez F., Karen Y. et al. A cellular mechanism to detect and alleviate reductive stress. *Cell.* 2020;183:46–61.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.08.034>
 31. Васин М.В., Саксонов П.П., Антипов В.В., Шашков В.С. Противолучевая активность аминотиолов и зависимость от дозы и срока его применения при различных условиях облучения. *Радиобиология.* 1970;10(3):380–385 [Vasin M.V., Saksonov P.P., Antipov V.V., Shashkov V.S. Radioprotective activity of aminothiols and dependence on the dose and duration of its administration under various radiation conditions. *Radiobiologiya.* 1970;10(3):380–385. (In Russ.)]
 32. Гребенюк А.Н., Удинцев А.В. Влияние цистамина на систему глутатиона. *Радиац. биология. Радиоэкология.* 1997;37(6):905–909 [Grebennyuk A.N., Udintsev A.V. Effect of cystamine on the state of glutathione system. *Radiats. biol. Radioecol.* 1997;37(6):905–909. (In Russ.)]
 33. Овакимов В.Н., Ярмоненко С.П. Адаптация к гипоксии как фактор, модифицирующий ее радиозащитный эффект. *Мед. радиол.* 1974;19(6):49–53. [Ovakimov V.N., Yarmonenko S.P. Adaptation to hypoxia as a factor modifying its radioprotective effect. *Med. Radiol.* 1974;19(6):49–53. (In Russ.)]
 34. Ярмоненко С.П., Эпштейн И.М. Кислородный эффект и внутриклеточное содержание кислорода (адаптационная гипотеза). *Радиобиология.* 1977;17(3):323–335 [Yarmonenko S.P., Epshtein I.M. Oxygen effect and the intracellular oxygen content (adaptation hypothesis). *Radiobiologiya.* 1977;17(3):323–335. (In Russ.)]
 35. Mundy R., Heiffer M., Melmann B. The pharmacology of radioprotectant medical. Biological changes in the dog following mercaptoethylamine (MEA). *Arch. Int. Pharmacodyn.* 1961;30(3):354–367.
 36. Васин М.В., Ушаков И.Б., Антипов В.В. Потенциальная роль реакции катехоламинов на острую гипоксию в модификации противолучевого действия радиопротекторов. *Бюлл. эксперим. биол. мед.* 2015;159(5):549–552. [Vasin M.V., Ushakov I.B., Antipov V.V. The potential role of the reaction of catecholamines to acute hypoxia in the modification of the radioprotective effect of radioprotectants. *Bull. exp. biol. med.* 2015;159(5):549–552. (In Russ.)]
 37. Engholm M., Pinilla E., Mogensen S. et al. Involvement of transglutaminase 2 and voltage-gated potassium channels in cystamine vasodilatation in rat mesenteric small arteries. *Br. J. Pharmacol.* 2016;173(5):839–855.
 38. Васин М.В., Давыдов Б.И., Антипов В.В., Саксонов П.П. Влияние γ -облучения на элиминацию токсического эффекта цистамина. В кн.: Проблемы космической биологии, Т. 14 (Ред. П.П. Саксонов, Б.И. Давыдов), М.: Наука, 1971. С. 158–163. [Vasin M.V., Davydov B.I., Antipov V.V., Saksonov P.P. Effect of γ -exposure on elimination of toxic effect of cystamine. In: Problems of space biology. V. 14 (ed. P.P. Saksonov, B.I. Davydov). Moscow: Nauka, 1971. P. 158–163. (In Russ.)]
 39. Васин М.В., Давыдов Б.И., Антипов В.В. Сравнительная элиминация радиозащитного и токсического эффекта цистамина. *Радиобиология.* 1971;11(4):51–521. [Vasin M.V., Davydov B.I., Antipov V.V. Comparative elimination of the radioprotective and toxic effects of cystamine. *Radiobiologiya.* 1971;11(4):517–521. (In Russ.)]
 40. Utley J.F., Seaver N., Newton G.L., Fahey R.C. Pharmacokinetics of WR-1065 in mouse tissue following treatment with WR-2721. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1984;10(9):1525–528.
[https://doi.org/10.1016/0360-3016\(84\)90495-4](https://doi.org/10.1016/0360-3016(84)90495-4)
 41. Khomenko T., Deng X., Sandor Z. et al. Cysteamine alters redox state, HIF-1 α transcriptional interactions and reduces duodenal mucosal oxygenation: novel insight into the mechanisms of duodenal ulceration. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004;317(1):121–127.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.03.017>
 42. Chee N.T., Lohse I., S. P. Brothers S.P. mRNA-to-protein translation in hypoxia. *Mol. Cancer.* 2019;18(1):49.
<https://doi.org/10.1186/s12943-019-0968-4>
 43. Ravi, Kumar A., Bhattacharyya S., Singh J. Thiol reductive stress activates the hypoxia response pathway. *EMBO J.* 2023;42(22):e114093
 44. Murray D. Aminothiols. In Radioprotectors. Chemical, Biological and Clinical perspectives. Ed. E.A. Bump, and K. Malaker. N.Y.: CRC Press, 1997. P. 53–91.
 45. Jeitner T.M., Lawrence D.A. Mechanisms for the cytotoxicity of cysteamine. *Toxicol. Sci.* 2001;63(1):57–64.
<https://doi.org/10.1093/toxsci/63.1.57>
 46. Vos O. Role of endogenous thiols in protection. *Adv. Space Res.* 1992;12(2-3):201–207.
[https://doi.org/10.1016/0273-1177\(92\)90109-b](https://doi.org/10.1016/0273-1177(92)90109-b)
 47. Prager A., Terry H.A., Murray D. Influence of intracellular thiol and polyamine levels on radioprotection by aminothiols. *Int. J. Radiat. Biol.* 1993;64(1):71–81.
<https://doi.org/10.1080/09553009314551121>

48. Allalunis-Turner M.J. Reduced bone marrow pO₂ following treatment with radioprotective drug. *Radiat. Res.* 1990;122(3):262–267.
49. Васин М.В. Сравнительное изучение влияния цистамина, цистафоса, мексамина на потребление кислорода, температуру тела и на устойчивость организма к гипоксической гипоксии. *Радиобиология.* 1975;15(5):795. ВИНТИ, № 1467–75 (М., 1975) [Vasin M.V. Comparative study of the effects of cystamine, cystaphos, mexamine on oxygen consumption, body temperature and on body resistance to hypoxic hypoxia. *Radiobiologia.* 1975;15(5):795. VINITI, Moscow. 1975. № 1467–75. (In Russ.)]
50. Xiao W., Wang R.S., Handy D.E., Loscalzo J. NAD(H) and NADP(H) redox couples and cellular energy metabolism. *Antioxid. Redox Signal.* 2018;28(3):251–172. <https://doi.org/10.1089/ars.2017.7216>
51. Hrycushko B.A., Chopra R., Sayre J.W. et al. Local hypothermia as a radioprotector of the rectal wall during prostate stereotactic body radiation therapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2017;98(1):75–82. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2017.01.017>
52. Xiao W., Loscalzo J. Metabolic responses to reductive stress. *Antioxid. Redox Signal.* 2020;32:1330–1347. <https://doi.org/10.1089/ars.2019.7803>
53. Michiels C. Physiological and pathological responses to hypoxia. *Am. J. Pathol.* 2004;164(6):1875–1882. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63747-9](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63747-9)
54. Corbucci G.G., Marchi A., Lettieri B., Luongo C. Mechanisms of cell protection by adaptation to chronic and acute hypoxia: molecular biology and clinical practice. *Minerva Anesthesiol.* 2005;71(11):727–740.
55. Brown G.C. Regulation of mitochondrial respiration by nitric oxide inhibition of cytochrome c oxidase. *Biochim. Biophys. Acta (BBA) – Bioenergetics.* 2001;1504(1):46–57. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63747-9](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63747-9)
56. Morakinyo M.K., Chipinda I., Hettick J. et al. Detailed mechanistic investigation into the S-nitrosation of cysteamine. *Can. J. Chem.* 2012;9(9):724–738. <https://doi.org/10.1139/v2012-051>
57. Ozaki T., Kaibori M., Matsui K. et al. Effect of thiol-containing molecule cysteamine on the induction of inducible nitric oxide synthase in hepatocytes. *J. Parenter. Enteral. Nutr.* 2007;31(5):366–371. <https://doi.org/10.1177/0148607107031005366>
58. Szabó C., Ferrer-Sueta G., Zingarelli B. et al. Mercaptoethylguanidine and guanidine inhibitors of nitric-oxide synthase react with peroxynitrite and protect against peroxynitrite-induced oxidative damage. *J. Biol. Chem.* 1997;272(14):9030–9036. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.14.903>
59. Eker P., Pihl A. Studies on the growth-inhibiting and radioprotective effect of cystamine, cysteamine, and aet on mammalian cells in tissue culture. *Radiat. Res.* 1964;21:165–179.
60. Jeitner T.M., Delikatny E.J., Bartier W.A. et al. Inhibition of drug-naïve and -resistant leukemia cell proliferation by low molecular weight thiols. *Biochem. Pharmacol.* 1998;55(6):793–802. [https://doi.org/10.1016/S0006-2952\(97\)00575-3](https://doi.org/10.1016/S0006-2952(97)00575-3)
61. Jeitner T.M., Renton F.J. Inhibition of the proliferation of human neural neoplastic cell lines by cysteamine. *Cancer Letters.* 1996;103(1):85–90. [https://doi.org/10.1016/0304-3835\(96\)04200-0](https://doi.org/10.1016/0304-3835(96)04200-0)
62. Jeitner T.M., Kneale C.L. Thiol-bearing compounds selectively inhibit protein kinase C-dependent oxidative events and proliferation in human T cells. *Biochim. Biophys. Acta.* 1994;1223(1):15–22. [https://doi.org/10.1016/0167-4889\(94\)90068-X](https://doi.org/10.1016/0167-4889(94)90068-X)
63. Korystov Yu.N., Vexler F.B. Mechanisms of the radioprotective effect of cysteamine in Escherichia coli. *Radiat. Res.* 1998;114(3):550–555.
64. Сайкова В.А., Сverdlov A.G. Влияние гипертермии на радиозащитное действие цистамина и изопроterenоло. *Радиобиология.* 1985;25(6):798–801. [Saikova V.A., Sverdlov A.G. Effect of hyperthermia on radioprotective properties of cystamine and isoproterenole. *Radiobiologia.* 1985;25(6):798–801. (In Russ.)]

Role of Bioenergy Effects of Cystamine in Realising Potentiation of Radioprotective Properties of the Radioprotector in its Repeated Administration

M. V. Vasin^{1,2,*}, I. B. Ushakov³, R. V. Afanasyev²

¹Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

²Research and Testing Center (Aerospace Medicine and Military Ergonomics) Central Research Institute of the Air Force of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Moscow, Russia

³State Scientific Center – A.I. Burnazyan Federal Medical Biophysical Center of the FMBA of the Russian Federation, Moscow, Russia

*E-mail: vv4sin80@yandex.ru

Early phenomenon on the potentiation of radioprotective properties of aminothiols (cystamine) during repeated application in the first 7 h of drug's after-effect by increasing their activity by 2 times was discovered (B.I. Davydov, 1971, M.V. Vasin, V.V. Antipov, 1972). A hypothesis has been proposed to explain this phenomenon. The mechanism of radioprotective properties cystamine is associated with partial neutralization of oxygen effect with the development of reductive stress in the cell, which does not end after the cessation of protective effect of radioprotector. In the body, negative feedback mechanisms are implemented at the cell, which prevent full implementation of naked consequences of reductive stress. In it, the transcription factor HIF-1 plays a key role, which enhances the production of ATP due to glycolysis and, thereby, reduces the burden on oxidative phosphorylation processes under conditions of acute hypoxia with repeated use of cystamine over the first 7 h after the cessation of its radioprotective activity. There is an increase in metabolic shifts in the body with the development of deep

hypothermia in animals up to 29°C rectal temperature which can lead to depletion of these restrictive mechanisms and, thereby allowing aminothiols to fully exhibit its protective properties without excluding the increase in its toxicity. In addition, this contributes to a more complete implementation of post-radiation repair of DNA. These processes contribute to a more complete realization of the affected repair of DNA breaks by providing more time for it in conditions of longer hypothermia and mitotic blockade under the action of cystamine.

Keywords: potentiation of radioprotective properties, cystamine, repeated application of radioprotectant, hypothermia, acute hypoxia, reductive stress, HIF-1

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Васин Михаил Витальевич: Научно-исследовательский испытательный центр (авиационно-космической медицины и военной эргономики) ЦНИИ ВВС МО РФ, Москва, Россия;
e-mail: vv4sin80@yandex.ru

Vasin Mikhail Vitalyevich: Research and Testing Center (Aerospace Medicine and Military Ergonomics) Central Research Institute of the Air Force of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Moscow, Russia;
e-mail: vv4sin80@yandex.ru

Ушаков Игорь Борисович: Государственный научный центр – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА РФ, Москва, Россия.

Ushakov Igor Borisovich: State Scientific Center – Burnazyan Federal Medical Biophysical Center of the FMBA of the Russian Federation, Moscow, Russia

Афанасьев Роман Владимирович: Научно-исследовательский испытательный центр (авиационно-косми-

ческой медицины и военной эргономики) ЦНИИ ВВС МО РФ, Москва, Россия.

Afanasyev Roman Vladimirovich: Research and Testing Center (Aerospace Medicine and Military Ergonomics) Central Research Institute of the Air Force of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Moscow, Russia.

ВКЛАД АВТОРОВ

Все авторы внесли эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Authors' contribution: all authors contributed equivalently to the preparation of the publication.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

The authors declare no conflicts of interests.