

О.А. Главін
 Е.А. Дьоміна
 В.М. Михайленко
 Л.І. Маковецька
 М.О. Дружина
 О.О. Грінченко

Інститут експериментальної
 патології, онкології
 і радіобіології
 ім. Р.Є. Кавецького
 НАН України, Київ, Україна

Ключові слова: метформін, периферична кров, лімфоцити, іонізуюче випромінювання, апоптоз, проліферативний потенціал, вільні радикали, пероксидне окиснення ліпідів, баланс про- і антиоксидантних процесів, трансмембранний потенціал мітохондрій.

МЕТФОРМІН ЯК МОДИФІКАТОР ОКИСНОГО СТАНУ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ТА ЖИТТЄЗДАТНОСТІ ЛІМФОЦИТІВ ЛЮДИНИ ПІД ДІЄЮ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ

Мета: визначити особливості впливу метформіну (МФ) *in vitro* на транс-мембранний потенціал мітохондрій (ТМП), загальну продукцію вільнорадикальних сполук (ВРС) і супероксидного аніона-радикала ($O_2^{\cdot-}$) у лімфоцитах периферичної крові (ЛПК) умовно здорових осіб, мітохондриальний потенціал та апоптотичну загибель цих клітин, а також на баланс про- і антиоксидантних процесів (ПАС) та інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів у крові залежно від концентрації МФ і дози опромінення. **Об'єкт і методи:** у дослідженні використовували зразки периферичної крові 37 умовно здорових осіб віком від 22 до 58 років (18 жінок та 19 чоловіків). МФ вносили у концентраціях 2 та 20 мМ за 1 год до рентгенівського опромінення периферичної крові у діапазоні доз 0,5–3,0 Гр. За допомогою загальноприйнятих методів визначали вміст малонового діальдегіду (МДА) і ПАС в крові, напрацювання ВРС і $O_2^{\cdot-}$ у ЛПК, а також ТМП, проліферативний потенціал і рівень апоптозу цих клітин. **Результати:** зміни напрацювання $O_2^{\cdot-}$ у ЛПК та вмісту МДА у плазмі крові свідчать про антиоксидантний вплив МФ, що був більш вираженим за його концентрації 2 мМ та при тест-опроміненні крові в дозах 1,0 та 2,0 Гр. Істотних змін ПАС у крові та утворення ВРС і ТМП у ЛПК не відзначали, лише спостерігали тенденцію до зниження ПАС та зростання ТМП за концентрації МФ 2 мМ. МФ підвищував рівень апоптотичної загибелі ЛПК та знижував їх проліферативний потенціал. Цей ефект спостерігали як за відсутності опромінення, так і за проведення тест-опромінення крові у діапазоні доз 0,5–3,0 Гр. **Висновок:** одержані в системі *in vitro* дані свідчать про можливість використання МФ як модифікатора вільнорадикальних процесів, що викликає зсув у бік антиоксидантних реакцій, у тому числі при опроміненні в діапазоні доз 0,5–3,0 Гр. МФ у дозах 2 і 20 мМ зменшує *in vitro* проліферативний потенціал ЛПК та активує їх вступ до апоптозу.

Останніми роками намітився певний прогрес у вирішенні проблеми профілактики віддалених стохастичних наслідків опромінення переважно завдяки вивченню і використанню хімічних сполук, що мають радіомітигуючу дію. Радіомітигатори (РМ) знижують шкідливу дію іонізуючого випромінювання на клітини критичних систем організму (передусім гемато-імунної системи) шляхом прискорення відновлення радіочутливих тканин і посилення секреції гемопоетичних ростових факторів [1–3].

Відповідно до сучасних уявлень перспективним для подальшого вивчення механізмів дії РМ є метформін гідрохлорид (МФ), який належить до класу бігуанідів і застосовується при лікуванні пацієнтів із цукровим діабетом II типу [4–6]. Встановле-

но антиапоптотичну дію МФ та зниження кількості хромосомних аберацій і мікроядер у лімфоцитах периферичної крові (ЛПК) людини після їх опромінення [7]. Подібна дія МФ була показана і при індукованій етанолом дегенерації пренатальних кортикальних нейронів шурів [8], викликаній дією Cd загибелі нейрональних клітин [9], на моделі безалкогольної жирової дегенерації печінки [10]. На мишах лінії C57Bl/6J та лінії клітин H9C2 показано, що МФ також інгібує апоптоз клітин серця [11]. Наслідки впливу МФ на нормальні та пухлинні клітини зазвичай мають протилежний характер, показано його проапоптотичну дію на різних лініях і в культурах ракових клітин людини та експериментальних тварин [12–17].

Застосування МФ у модельних дослідженнях на різних лініях нормальних [18–19] і пухлинних клітин [13, 14, 20, 21] у більшості призводило до пригнічення їх проліферації. У хворих на рак ендометрія та молочної залози, які приймали МФ, було відзначено суттєве зниження рівня ядерного білка KI-67, що асоціюється із проліферацією клітин [22–23].

Показано, що МФ специфічно пригнічує комплекс I дихального ланцюга мітохондрій, знижуючи окиснення НАДФ, швидкість споживання кисню та синтез АТФ з АДФ; активує 5'АМФ-активовану протеїнкіназу, пригнічує комплекс mTOR і мітоген-активовані кінази (МАРК), які беруть участь у регуляції процесів біосинтезу білка, енергетичного обміну, проліферації, експресії генів, диференціювання, мітозу, виживання клітин та апоптозу [24–27]. Також у реалізації ефектів МФ задіяні фосфатидилінозитол-3-кіназа, сімейство протеїнкіназ B, c-Jun-N-кінцева кіназа та сигнальні каскади, пов'язані із АФК [16, 28]. Виявлено, що дія МФ на клітини злоякісних новоутворень пов'язана зі значними різноспрямованими змінами експресії низки білків та некодуєчих miRNAs [29–30].

МФ значно змінює баланс вільнорадикальних процесів. У результаті інгібування НАДФН-оксидази зменшується продукція АФК [31], а внаслідок зниження експресії FOXO3 активуються ферменти антиоксидантного захисту: супероксиддисмутаза (СОД) і каталаза (КАТ) [32]. Однак ефекти щодо змін про- та антиоксидантних процесів, що спостерігаються за дії МФ, для нормальних та пухлинних клітин істотно відрізняються. Так, застосування МФ *in vitro* та *in vivo* ефективно запобігало апоптотичній загибелі нормальних клітин, індукованої різними чинниками, що супроводжувалося також антиоксидантною дією [9, 19, 33–35]. Водночас у клітинах ліній гепатоцелюлярної карциноми щурів H4П та остеосаркоми U2OS і 143В МФ стимулював напрацювання АФК, проапоптотичні зміни та зупинку клітинного циклу, а застосування антиоксиданта N-ацетилцистеїну нівелювало зазначені ефекти [12, 28]. Показано, що антиоксидантний вплив МФ може знижувати рівень пошкоджень ДНК у результаті дії гідропероксиду кумолу [36], але в дослідженні [37] подібний захисний ефект препарату не виявлений.

Вираженість ефектів МФ залежить від особливостей обмінних процесів в організмі та, зокрема, від обміну глюкози. Так, показано, що при культивуванні кардіоміобластів H9c2 у середовищі з високим вмістом глюкози у разі дії МФ значно покращувався стан клітин: повністю відновлювався рівень АТФ, нормалізувався вміст ліпідів, GSH і рівень утворення АФК, частково відновлювалися рівень поглинання глюкози, інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), активність СОД, поляризація мембран мітохондрій та знижувалася частка фрагментованої ДНК [38]. Для пухлинних клітин, навпаки, показано підвищення їх чутли-

вості до антипроліферативної та проапоптотичної дії МФ і вищу цитотоксичність препарату в разі низького вмісту глюкози або при надмірній масі тіла експериментальних тварин [21, 39].

Показано, що МФ може модифікувати дію іонізуючого випромінювання. За впливу радіації ефекти препарату також відрізняються. Так, МФ знижував негативний вплив радіації на тканини серця щурів, діючи як захисний фактор щодо окисного стресу та ефектів медіаторів запалення та ендотеліальної дисфункції [40]. У разі внутрішньовенного введення мишам радіаційно мічених пептидів МФ значно зменшував їх накопичення в нирках і прискорював їх виведення із сечею. Це може бути перспективним для захисту від нефротоксичності при терапії із застосуванням радіонуклідів [41]. Радіаційно індукована токсичність при проведенні ад'ювантної променевої терапії у жінок на ранній стадії раку молочної залози значно знижувалась у когорти обстежених, які приймали МФ [42]. З іншого боку, в дослідженнях *in vivo* та *in vitro* на лініях пухлинних клітин раку прямої кишки, товстої кишки, раку підшлункової залози, карциноми легені показано, що МФ підвищував їх чутливість до опромінення [43–46]. При цьому посилення радіочутливості пухлинних клітин за модифікуючої дії препарату може бути пов'язано з інгібуванням епітеліально-мезенхімального переходу [47], впливом на сигнальний шлях Hedgehog [48] та підвищенням ступеня оксигенації пухлин [49]. Найбільш радіочутливими клітинами людини, що визнані біодозиметрами/біоіндикаторами опромінення, є ЛПК [50, 51]. На культурі ЛПК показано, що МФ у концентраціях 12,5–50,0 мкМ не викликав змін у показниках мікроядерного тесту, при визначенні кількості та спектра хромосомних аберацій і не впливав на мітичний потенціал клітин [52]. Введення МФ експериментальним щурам із гліомою (лінія С6) відновлювало чисельність ЛПК майже до рівня інтактних тварин [53]. На культурі ЛПК здорових чоловіків показано, що МФ збільшував частку життєздатних клітин після впливу радіації, що супроводжувалося значним зменшенням аберацій хромосом, зниженням частоти апоптозу. МФ зменшував викликані дією іонізуючого випромінювання зміни експресії генів *BAX*, *CASP3* і *BCL2* [54, 55]. Радіозахисні властивості МФ виявлені у хворих на рак щитоподібної залози, які отримували терапію із застосуванням радіоактивного ¹³¹I [56]. Водночас, слід зазначити, що залишаються нез'ясованими особливості дії МФ як РМ залежно від його концентрації, дози опромінення та радіочутливості клітин.

Оскільки радіаційно-індуковані біохімічні зміни передують реалізації пошкоджень на генетичному рівні клітин, а надалі підтримують сформовану нестабільність геному, то доцільним є також детальне вивчення особливостей впливу МФ на активність ферментів та процесів, які визначають оксидативний стан периферичної крові людини.

Враховуючи викладене, мета проведеного дослідження — визначити особливості впливу МФ *in vitro* на трансмембранний потенціал мітохондрії (ТМП), загальну продукцію вільнорадикальних сполук (ВРС) і супероксидного аніона-радикала ($O_2^{\cdot-}$) у ЛПК умовно здорових осіб (УЗО), мітотичний потенціал та апоптотичну загибель цих клітин, а також на баланс про- і антиоксидантних процесів та інтенсивність процесів ПОЛ у крові залежно від концентрації МФ і дози опромінення.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дослідженні використані зразки периферичної крові 37 умовно здорових осіб (19 чоловіків віком від 22 до 41 років та 18 жінок віком від 22 до 58 років), від яких отримано інформовану згоду відповідно до принципів проведення біомедичних досліджень, що викладені в Гельсінській декларації Всесвітньої медичної асоціації. Периферичну кров збирали у стандартні стерильні пробірки Vacutainer об'ємом 6 мл із антикоагулянтом Li-гепарин. Зразки крові зберігали і транспортували при 3–5 °С.

Розчин МФ (1,1-Диметилбігуанід гідрохлорид, Santa Cruz Biotechnology, Inc.) в ізотонічному натрій-фосфатному буфері із рН 7,4 (PBS) вносили у кров у співвідношенні 1:20 (фінальна концентрація 2 або 20 мМ, тривалість інкубації 1 год при 19–21 °С). Тест-опромінення крові (дози 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 Гр) проводили через 1 год після внесення МФ на рентгенівському апараті РУМ-17. Умови опромінення: напруга на трубці — 180 кВ, струм — 10 мА, фільтр — 0,5 мм Cu + 1 мм Al, шкірно-фокусна відстань — 50 см, потужність дози опромінення — 0,55 Гр/хв.

Виділення плазми крові та ЛПК і підрахунок кількості клітин. Плазму крові отримували центрифугуванням (15 хв при 1500 об./хв; 19–21 °С) і зберігали при –20 °С. Виділення ЛПК виконували з використанням ПІСТОПАК-1077 HYBRI-MAX згідно з інструкцією виробника (BioReagent) [57]. Підрахунок кількості життєздатних клітин проводили за стандартною методикою, використовуючи суправітальне фарбування трипановим синім (Sigma) [58].

Прооксидантно-антиоксидантне співвідношення (ПАС) у крові визначали у гемолізатах (кров розведена дистильованою водою у 400 разів) методом індукованої перексидом водню хемілюмінесценції (ХЛ) [59] із модифікаціями [60] на приладі AutoLumat LB 953 (Germany). До 0,6 мл гемолізату додавали 50 мкл 10 % розчину H_2O_2 і вимірювали ХЛ упродовж 180 с (18 вимірів з інтервалом 10 с). Дані виражали в імпульсах (імп.) за 180 с (імп./180 с).

Інтенсивність ПОЛ оцінювали за концентрацією його кінцевого продукту — малонового диальдегіду (МДА) в плазмі крові. Вміст визначали за утворенням забарвленого триметинового комплексу з 2-тіобарбітуровою кислотою [61, 62]. Вимірювання забарвлення проводили у 1 см кварцевій кюветі при довжині хвилі 532 нм на спектрофото-

метрі Agilent 8453 (США). При проведенні розрахунків використовували молярний коефіцієнт екстинкції МДА ($\epsilon=1,56 \cdot 10^5 \text{ см}^{-1} \cdot \text{моль}^{-1}$) та перераховували його вміст на кількість білка. Концентрацію білка визначали за методом Greenberg [63]. До 2 мл розведеної дистильованої води у 200 разів плазми крові додавали 1 мл реактиву Greenberg та через 15–20 хв проводили вимірювання інтенсивності забарвлення з використанням фотоелектро-калориметра (довжина хвилі 590 нм, кювета 0,5 см). Як контроль використовували зразок із дистильованою водою замість дослідного зразка. Розрахунки проводили згідно з калібрувальною кривою з використанням стандартних розчинів білка.

Інтенсивність генерування $O_2^{\cdot-}$ ЛПК оцінювали ХЛ методом, що базується на використанні індикатора люцигеніну, який реагуючи з $O_2^{\cdot-}$ висвічує кванти світла [64]. Зразок для вимірювань містив 40 мкл 0,05% люцигеніну та 1 мл суспензії клітин у PBS (1 млн/мл). Вимірювання проводили на приладі AutoLumat LB 953 (Germany) упродовж 72 с (18 вимірів з інтервалом у 4 с). Дані виражали в імп. за 72 с (імп./72 с).

Інтенсивність напрацювання ВРС визначали з використанням флуоресцентного зонда дихлорофлуоресцеїн-діацетату (DCFH-DA), що дає можливість оцінити загальний рівень утворення активних форм кисню та азоту [65, 66]. Вимірювання флуоресценції ($I_{ex} = 485 \text{ нм}$, $I_{em} = 528 \text{ нм}$) проводили у 96-лункових чорних планшетах (кожні 7,5 хв упродовж 90 хв при 37 °С) з використанням рідера Sinergy HT (США). Вміст лунки: 100 мкл суспензії клітин (1 млн/мл), 150 мкл PBS та 50 мкл розчину DCFH-DA у збалансованому сольовому розчині (фінальна концентрація — 50 мкМ). Для підрахунків використовували період 30–90 хв. Результати перераховували у мМ перексиду водню на 1000 кл. за год (мМ/тис. кл./год) за калібрувальною кривою.

Для визначення ТМП використовували барвник JC-1 згідно [67, 68] з деякими модифікаціями. До 0,5 мл суспензії ЛПК (1,0 млн/мл) додавали 5 мкл 1 мМ розчину JC-1 у ДМСО та інкубували клітини 20–25 хв при 37 °С у темряві. Двічі відмивали клітини від залишків барвника 2,5 мл PBS з подальшим центрифугуванням 10 хв при 1000 об./хв та доводили їх концентрацію до 0,5 млн/мл. Вимірювання проводили з використанням рідера Sinergy HT (США) у 96-лункових чорних планшетах при внесенні у лунки 100 мкл суспензії клітин ($I_{ex} = 485 \text{ нм}$, $I_{em} = 528 \text{ нм}$ та $I_{em} = 590 \text{ нм}$). Контролем слугували інтактні клітини без забарвлення. Рівень ТМП підраховували за співвідношенням J-агрегатів та J-мономерів (інтенсивності червоної ($I_{em} = 590 \text{ нм}$) та зеленої ($I_{em} = 528 \text{ нм}$) флуоресценції клітин).

Вміст гіподиплоїдних клітин у зразках ЛПК визначали методом проточної цитометрії [69]. Для проведення аналізу клітини інкубували 30 хв у розчині пропідія йодиду (5 мкг/мл, Sigma, США) з 0,1 % цитратом натрію та 0,1% тритоном X-100 при тем-

пературі 19–21 °С. Для запобігання зв'язування пропідію йодиду з РНК в інкубаційну суміш додавали РНКазу А без ДНКаз (Rnase A, DNase-free, activity — min 90 units/mg, Neo Froxx, Німеччина) в кінцевій концентрації 250 мкг/мл. Флуоресценцію клітин оцінювали з використанням проточного цитофлуориметра Beckman Coulter EPICS XL (Beckman Coulter, США). У кожній пробі підраховували не менш ніж 10 тис. клітин. Мертві клітини та їх фрагменти не враховували. Для кількісного аналізу даних застосовували програму CELLQuest («BD Biosciences Pharmingen», США).

З метою оцінки проліферативного потенціалу ЛПК у заданих експериментальних умовах визначали мітотичний індекс (МІ) мітоген-стимульованих (Phytohemagglutinin M-form (Gibco, USA), 0,1–0,15 мл/мл крові) лімфоцитів на підставі формули [70]:

$$MI = (M_1/M_2) \cdot 1000 \%,$$

де M_1 — кількість клітин у стадії метафази, M_2 — загальна кількість бластних клітин (рис. 1).

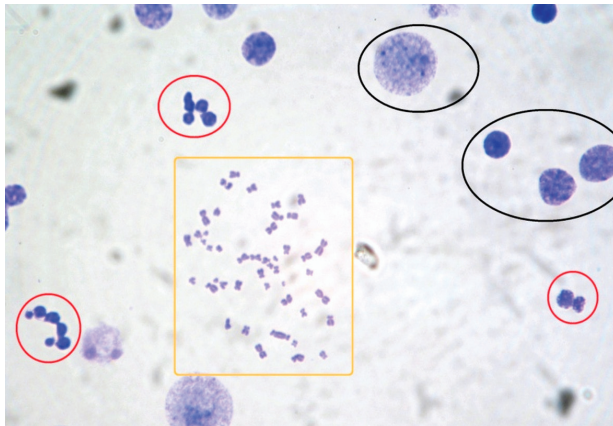


Рис. 1. Аналіз мітотичної активності опроміненних ЛПК людини (мікрофото, х 400). Цитогенетичний препарат: чорні кола — ядра, аналізовані як бласти; червоні кола — не аналізовані ядра (що не вступили в реакцію бласттрансформації); прямокутник — метафазна пластинка

З метою зменшення величини стандартної помилки аналізували не менш як 2000 клітин на одне спостереження [71].

Статистичну обробку результатів проводили з використанням програм «MS Excel» та «OriginPro 2015». Підраховували стандартні статистичні показники. Достовірність відмінностей визначали із використанням t-критерію Student та парного рангового критерію Wilcoxon. Різницю між одержаними показниками вважали достовірною при $p \leq 0,05$ [72].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Вплив МФ на інтенсивність утворення реактивних сполук у ЛПК оцінювали за напрацюванням $O_2^{\cdot -}$ та загальним рівнем продукції ВРС. Також оцінювали зміни ТМП цих клітин, оскільки цей показник пов'язаний зі змінами енергетичного стану клітин, інтенсивністю окисно-відновних реакцій. За ви-

браних у дослідженні умов не виявлено впливу МФ на інтенсивність напрацювання ВРС як у неопромінених ЛПК, так і після тест-опромінення. Спостерігали лише тенденцію до зниження рівня утворення $O_2^{\cdot -}$ у неопромінених ЛПК (у 1,64 раза) за дії МФ в концентрації 2 мМ, а також при внесенні препарату в концентрації 20 мМ з подальшим тест-опроміненням крові у дозах 1,0 та 2,0 Гр (в 1,47 раза для обох доз) (табл. 1). Зміни ТМП у ЛПК після інкубації зразків крові із МФ також не були достовірними. За концентрації препарату 2 мМ спостерігали тенденцію до зниження цього показника для всіх варіантів досліду як із тест-опроміненням зразків крові, так і без. МФ у концентрації 20 мМ не змінював показник ТМП в неопромінених клітинах, дещо підвищував його при опроміненні ЛПК в дозах 0,5 і 3,0 Гр та знижував при опроміненні в дозах 1,0–2,0 Гр (в 1,70 і 1,80 раза відповідно).

Вплив МФ на стан окисних процесів у крові оцінювали за змінами ПАС та інтенсивністю процесів ПОЛ (концентрація МДА у плазмі крові). Результати впливу МФ на вміст МДА та ПАС у крові представлено в табл. 2. Введення МФ у зразки крові не призводило до достовірних змін ПАС та вмісту МДА у крові, але спостерігалася тенденція до зниження концентрації МДА (у 1,67 раза) за введення у кров МФ у концентрації 2 мМ. Після опромінення крові цей ефект також був більш вираженим за нижчої концентрації МФ. Максимальне зниження за дози опромінення 2,0 Гр визначено при дії обох концентрацій МФ (2 мМ і 20 мМ). Зміни ПАС під дією МФ були практично відсутні (див. табл. 2). Можна лише відзначити тенденцію до зниження ПАС у 1,22 раза при застосуванні препарату в нижчій концентрації. Аналогічний ефект дії МФ (за обох концентрацій препарату) спостерігався при тест-опроміненні крові у максимальній із застосованих доз — 3,0 Гр.

Вивчення впливу МФ на стан ЛПК *in vitro* показало, що рівень проліферативної активності неопромінених ЛПК становив $69,1 \pm 1,2\%$, що відповідає сучасним даним [71]. Спостерігали дозозалежне пригнічення мітотичної активності клітин у всьому дослідженому діапазоні доз порівняно з контрольними значеннями: 0,5 Гр — в 1,48; 1,0 Гр — в 1,66; 2 Гр — в 2,06; 3,0 Гр — в 2,65 раза. Отримані дані відповідають основним положенням класичної радіобіології, відображаючи радіаційно-індуковану імунодепресію «індикаторних» клітин (рис. 2). Дослідження імовірної активності МФ як РМ показало, що при додаванні препарату в культуру ЛПК перед тест-опроміненням спостерігається зниження мітотичної активності опромінених клітин у всьому дослідженому діапазоні доз. Такий ефект був найбільш вираженим за концентрації МФ 20 мМ та дозі опромінення 3,0 Гр. Зазначимо також факт зниження при дії МФ мітотичної активності неопромінених клітин. Таким чином, за умов нашого дослідження показано, що МФ пригнічує відповідь ЛПК на мітоген, тобто не одержано свідчень його радіомітигуючої дії.

Зміни у ЛПК за впливу МФ до і після тест-опромінення крові УЗО

Концентрація МФ, мМ	Доза опромінення, Гр				
	0	0,5	1,0	2,0	3,0
Напряцювання $O_2^{\cdot -}$, тис. імп./72 с					
0 (для 2 мМ)	1,60 ± 0,32	1,38 ± 0,31	1,15 ± 0,21	1,09 ± 0,18	1,16 ± 0,21
2	0,97 ± 0,08	1,06 ± 0,12	1,02 ± 0,13	1,14 ± 0,25	1,04 ± 0,15
0 (для 20 мМ)	1,23 ± 0,38	1,20 ± 0,34	1,16 ± 0,27	1,22 ± 0,35	1,38 ± 0,52
20	0,94 ± 0,20	1,02 ± 0,29	0,79 ± 0,15	0,83 ± 0,17	1,09 ± 0,28
Продукція ВРС, мМ/тис. кл./год					
0 (для 2 мМ)	23,57 ± 4,32	22,59 ± 3,87	22,37 ± 3,88	23,13 ± 4,06	20,82 ± 3,23
2	20,80 ± 3,15	19,38 ± 2,30	22,10 ± 3,12	21,22 ± 3,04*	20,27 ± 3,18*
0 (для 20 мМ)	24,91 ± 3,98	23,75 ± 3,39	23,42 ± 3,63	24,83 ± 3,94	22,25 ± 3,16
20	24,81 ± 3,67	27,68 ± 4,57	25,83 ± 3,97	25,47 ± 3,56*	25,42 ± 3,74*
ТМП (JC-1), співвідношення агрегат/мономер					
0	15,31 ± 1,16	16,13 ± 1,71	20,91 ± 2,24	25,21 ± 3,58	24,80 ± 2,43
2	9,19 ± 2,76	14,85 ± 3,56	16,14 ± 1,75	16,70 ± 8,08	21,73 ± 6,38
20	14,29 ± 2,49	21,25 ± 3,54	12,06 ± 4,02	13,79 ± 5,74	26,85 ± 4,47

*Достовірні відмінності ($p < 0,05$) між зразками крові із МФ у концентраціях 2 та 20 мМ.

Таблиця 2

Зміни у крові за впливу МФ до і після тест-опромінення крові УЗО

Концентрація МФ, мМ	Доза опромінення, Гр				
	0	0,5	1,0	2,0	3,0
Рівень ПАС, тис. імп./180 с					
0	17,35 ± 1,22	19,61 ± 1,47	19,13 ± 1,55	18,08 ± 0,97	21,29 ± 1,97
2	14,14 ± 0,70	16,00 ± 1,14	18,63 ± 1,31	16,03 ± 0,95	17,80 ± 0,92
20	18,35 ± 2,00	18,70 ± 2,48	19,91 ± 1,77	15,56 ± 2,35	16,00 ± 0,82
Вміст МДА у плазмі крові, мкМ/мг білка					
0	15,31 ± 1,16	16,13 ± 1,71	20,91 ± 2,24*	25,21 ± 3,58**, **	24,80 ± 2,43**, **
2	9,19 ± 2,76	14,85 ± 3,56	16,14 ± 1,75	16,70 ± 8,08	21,73 ± 6,38
20	14,29 ± 2,49	21,25 ± 3,54	12,06 ± 4,02	13,79 ± 5,74	26,85 ± 4,47

*Достовірні відмінності ($p < 0,05$) від групи без тест-опромінення; **достовірні відмінності ($p < 0,05$) від групи із тест-опроміненням 0,5 Гр.

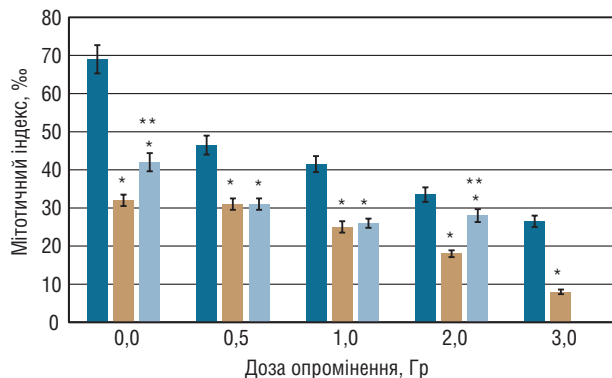


Рис. 2. Дослідження впливу МФ на проліферативну активність опромінених *in vitro* лімфоцитів крові УЗО: ■ — контроль (без МФ); ■ — МФ у концентрації 2 мМ; ■ — МФ у концентрації 20 мМ. *Достовірні відмінності ($p < 0,05$) від зразків крові без внесення МФ; **між зразками крові із МФ у концентраціях 2 та 20 мМ

Значні зміни спостерігали щодо апоптотичної загибелі ЛПК за впливу МФ. Інкубація зразків крові із МФ призводила до достовірного підвищення частки клітин у стані апоптозу (рис. 3). Для інтактних зразків крові середня частка ЛПК у стані апоптозу становила $1,89 \pm 0,40\%$, а після інкубації із МФ зростала у 2,30 раза за концентрації препарату 2 мМ та у 1,83 раза — за концентрації 20 мМ. Подальше опромінення зразків крові істотно не змінювало ефекту впливу МФ, який залишався більш вираженим для нижчої із використаних концентрацій препарату.

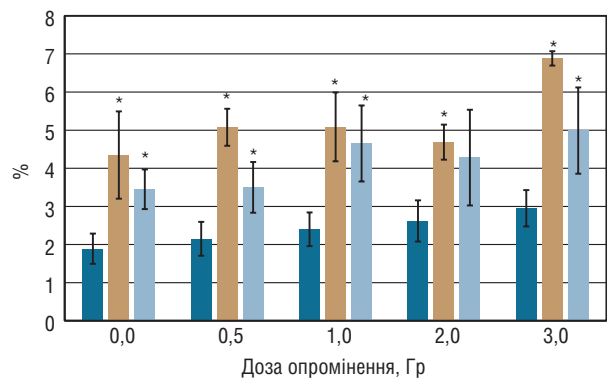


Рис. 3. Вплив МФ на частку лімфоцитів у стані апоптозу за опромінення крові *in vitro*: ■ — контроль (без МФ); ■ — МФ у концентрації 2 мМ; ■ — МФ у концентрації 20 мМ; *достовірні відмінності ($p < 0,05$) від зразків крові без внесення МФ

В описаному дослідженні показано, що короткотривала інкубація зразків ЛПК із МФ у концентраціях 2,0 та 20,0 мМ значно знижувала мітотичний індекс та збільшувала кількість клітин у стані апоптозу, що суперечить результатам досліджень, в яких показано захисну дію МФ на нормальні клітини (у тому числі ЛПК) [11, 54]. У низці досліджень цей ефект МФ спостерігали лише для пухлинних клітин [12, 13, 15]. В окремих публікаціях описано відсутність впливу МФ на мітотичний потенціал ЛПК та відсутність генетичних пошкоджень цих клітин [52]. У публікації [19] описано можливість підсилення апоптозу лімфоци-

тів за впливу МФ, причому збільшення частки клітин у стані апоптозу відбувалося на фоні зниження інтенсивності ПОЛ та підвищення вмісту GSH. Проапоптотичний ефект препарату може бути пов'язаний із інгібуванням гена *p16Ink4a*, що підтримує життєздатність старіючих клітин, перешкоджаючи їх апоптозу [73].

В умовах проведених експериментів показано (на рівні тенденції) вплив МФ на інтенсивність окисних процесів у крові, зокрема на продукцію реактивних сполук у ЛПК та ТМП цих клітин. Ці результати є попередніми та потребують подальшого накопичення експериментального матеріалу у зв'язку зі значними індивідуальними відмінностями у початкових рівнях досліджених показників та ступенем їх змін у відповідь на внесення МФ та проведення тест-опромінення. Загалом виявлені зміни свідчать про зниження вільнорадикального навантаження у крові за впливу препарату. Відзначимо, що внесення в інтактну кров МФ у концентрації 2 мМ викликало більш інтенсивні зміни вмісту МДА та напруження $O_2^{\cdot -}$. За тест-опромінення крові в дозах 1,0 та 2,0 Гр більш виражені зміни цих показників спостерігали при застосуванні вищої концентрації препарату (20 мМ). У дослідженні [54] також було показано, що найбільший цитопротекторний ефект МФ спостерігається за дози опромінення 2,0 Гр, що є типовою дозою при проведенні променевої терапії, яка викликає пошкодження ДНК та мутації [74].

Таким чином, сукупність отриманих результатів не дозволяє однозначно зробити висновок про дію МФ як РМ. Проте достатньо аргументує доцільність подальших комплексних досліджень, спрямованих на визначення найбільш ефективних умов застосування препарату МФ при терапевтичному опроміненні хворих онкологічного профілю.

ВИСНОВКИ

1. Препарат МФ не змінював загального рівня утворення ВРС у ЛПК, але тенденції до зниження напруження цими клітинами $O_2^{\cdot -}$, зменшення вмісту в крові МДА та зниження ПАС свідчать про можливість застосування препарату як модифікатора вільнорадикальних процесів. Більш виражені ефекти дії МФ спостерігали в інтактних ЛПК за концентрації 2 мМ, при опроміненні зразків — за концентрації 20 мМ.

2. МФ у системі *in vitro* пригнічував мітотичну активність ЛПК та підвищував рівень їх апоптотичної загибелі до та після тест-опромінення в діапазоні доз 0,5–3,0 Гр.

3. Отримані результати можуть скласти підґрунтя для дослідження радіозахисних ефектів МФ в немалігнізованих клітинах хворих онкологічного профілю.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Hall EJ, Giaccia AJ. Radiobiology for the radiologist. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006. 546 p.

2. Vasin MV. Classification of antitumor agents as a reflection of the current state and prospects of development of radiation pharmacology. Radiation biology. Radioecology 2013; **63** (5): 459–67 (in Russian).

3. Domina EA. Anty-radiation means: classification and mechanisms. Problems of radiation medicine and radiobiology 2015; **20**: 42–54.

4. Mohan V, Cooper ME, Matthews DR, et al. The standard of care in type 2 diabetes: re-evaluating the treatment paradigm. Diabetes Ther 2019; **10** (1): 1–13.

5. Bin Hussain AK, Abdelgadir E, Rashid F, et al. Should metformin still be the first-line of treatment in type 2 diabetes mellitus? A comprehensive review and suggested algorithm. Diabetes Metab Syndr 2019; **13** (3): 1935–42.

6. Madsen KS, Chi Y, Metzendorf MI, et al. Metformin for prevention or delay of type 2 diabetes mellitus and its associated complications in persons at increased risk for the development of type 2 diabetes mellitus. Cochrane Database Syst Rev 2019; **12**: CD008558.

7. Cheki M, Shirazi A, Mahmoudzadeh A, et al. The radioprotective effect of metformin against cytotoxicity and genotoxicity induced by ionizing radiation in cultured human blood lymphocytes. Mutat Res 2016; **809**: 24–32.

8. Ullah I, Ullah N, Naseer MI, et al. Neuroprotection with metformin and thymoquinone against ethanol-induced apoptotic neurodegeneration in prenatal rat cortical neurons. BMC Neurosci 2012; **13** (11). doi: 10.1186/1471-2202-13-11.

9. Chen X, Wu W, Gong B, et al. Metformin attenuates cadmium-induced neuronal apoptosis *in vitro* via blocking ROS-dependent PP5/AMPK-JNK signaling pathway. Neuropharmacology 2020; Mar. **21**: 108065. doi: 10.1016/j.neuropharm.2020.108065.

10. Wu PB, Song Q, Yu YJ, et al. Effect of metformin on mitochondrial pathway of apoptosis and oxidative stress in cell model of nonalcoholic fatty liver disease. Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi; **28** (1): 64–8 (in Chinese).

11. Loi H, Boal F, Tronchere H, et al. Metformin protects the heart against hypertrophic and apoptotic remodeling after myocardial infarction. Front Pharmacol 2019; **10**: 9 p.

12. Park D. Metformin induces oxidative stress-mediated apoptosis without the blockade of glycolysis in H4IIE hepatocellular carcinoma cells. Biol Pharm Bull 2019; **42** (12): 2002–8.

13. Lee J., Hong EM, Kim JH, et al. Metformin induces apoptosis and inhibits proliferation through the AMP-activated protein kinase and insulin-like growth factor 1 receptor pathways in the bile duct cancer cells. J Cancer 2019; **10** (7): 1734–44.

14. Ye J, Qi L, Chen K, et al. Metformin induces TPC-1 cell apoptosis through endoplasmic reticulum stress-associated pathways *in vitro* and *in vivo*. Int J Oncol 2019; **55** (1): 331–9.

15. Yudhani RD, Astuti I, Mustofa M, et al. Metformin modulates cyclin D1 and P53 expression to inhibit cell proliferation and to induce apoptosis in cervical cancer cell lines. Asian Pac J Cancer Prev 2019; **20** (6): 1667–73.

16. Chen HL, Ma P, Chen YL, et al. Effect of metformin on proliferation capacity, apoptosis and glycolysis in K562 cells. Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi 2019; **27** (5): 1387–94 (in Chinese).

17. Bruno S, Ledda B, Tenca C, et al. Metformin inhibits cell cycle progression of B-cell chronic lymphocytic leukemia cells. Oncotarget 2015; **6** (26): 22624–40.

18. Zhou DM, Ran F, Ni HZ, et al. Metformin inhibits high glucose-induced smooth muscle cell proliferation and migration. Aging (Albany NY) 2020; **12** (6): 5352–61.

19. Solano ME, Sander V, Wald MR, et al. Dehydroepiandrosterone and metformin regulate proliferation of murine T lymphocytes. Clin Exp Immunol 2008; **153** (2): 289–96.

20. Yamana H, Kato K, Kobara H, et al. Metformin inhibits proliferation and tumor growth of QGP-1 Pancreatic neuroendocrine tumor cells by inducing cell cycle arrest and apoptosis. Anti-cancer Res 2020; **40** (1): 121–32.

21. **Guo H, Kong W, Zhang L, et al.** Reversal of obesity-driven aggressiveness of endometrial cancer by metformin. *Am J Cancer Res* 2019; **9** (10): 2170–93.
22. **Petchsila K, Prueksaritanond N, Insin P, et al.** Effect of metformin for decreasing proliferative marker in women with endometrial cancer: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Asian Pac J Cancer Prev* 2020; **21** (3): 733–41.
23. **Min W, Wang B, Guo A, et al.** The Effect of metformin on the clinicopathological features of breast cancer with type 2 diabetes. *World J Oncol* 2020; **11** (1): 23–32.
24. **Bridges HR, Jones AJ, Pollak MN, et al.** Effects of metformin and other biguanides on oxidative phosphorylation in mitochondria. *Biochem J*. 2014; **462**: 475–87.
25. **Wheaton WW, Weinberg SE, Hamanaka RB, et al.** Metformin inhibits mitochondrial complex I of cancer cells to reduce tumorigenesis. *Elife (Cambridge)* 2014; **3**: e02242: 18 p.
26. **Yu X, Mao W, Zhai Y, et al.** Anti-tumor activity of metformin: from metabolic and epigenetic perspectives. *Oncotarget* 2017; **8** (3): 5619–28.
27. **Chen J, Zhang S, Pan G, et al.** Modulatory effect of metformin on cardiotoxicity induced by doxorubicin via the MAPK and AMPK pathways. *Life Sci* 2020; **249**: 117498: 11 p.
28. **Li B, Zhou P, Xu K, et al.** Metformin induces cell cycle arrest, apoptosis and autophagy through ROS/JNK signaling pathway in human osteosarcoma. *Int J Biol Sci* 2020; **16** (1): 74–84.
29. **Xia C, Yang F, He Z, et al.** iTRAQ-based quantitative proteomic analysis of the inhibition of cervical cancer cell invasion and migration by metformin. *Biomed Pharmacother* 2020; **123**: 109762: 9 p.
30. **Yamashita T, Kato K, Fujihara S, et al.** Anti-diabetic drug metformin inhibits cell proliferation and tumor growth in gallbladder cancer via G0/G1 cell cycle arrest. *Anticancer Drugs* 2020; **31** (3): 231–40.
31. **Zhou J, Massey S, Story D, et al.** Metformin: an old drug with new applications. *Int J Mol Sci* 2018; **19** (10): pii: E2863: 15 p.
32. **Kim JM, Yoo H, Kim JY, et al.** Metformin alleviates radiation-induced skin fibrosis via the downregulation of FOXO3. *Cell Physiol Biochem* 2018; **48** (3): 959–70.
33. **Ozbeý G, Nemitlu-Samur D, Parlak H, et al.** Metformin protects rotenone-induced dopaminergic neurodegeneration by reducing lipid peroxidation. *Pharmacol Rep* 2020. Mar 23. doi: 10.1007/s43440-020-00095-1.
34. **Man'cheva TA, Demidov DV, Plotnikova NA, et al.** Melatonin and metformin inhibit skin carcinogenesis and lipid peroxidation induced by benz(a)pyrene in female mice. *Bull Exp Biol Med* 2011; **151** (3): 363–5.
35. **Wang HW, Lai EH, Yang CN, et al.** Intracanal metformin promotes healing of apical periodontitis via suppressing inducible nitric oxide synthase expression and monocyte recruitment. *J Endod* 2020; **46** (1): 65–73.
36. **Kanigür-Sultuybek G, Ozdas SB, Curgunlu A, et al.** Does metformin prevent short-term oxidant-induced dna damage? In vitro study on lymphocytes from aged subjects. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 2007; **18** (2): 129–40.
37. **Onaran I, Guven GS, Ozdas SB, et al.** Metformin does not prevent DNA damage in lymphocytes despite its antioxidant properties against cumene hydroperoxide-induced oxidative stress. *Mutat Res* 2006; **611** (1–2): 1–8.
38. **Johnson R, Sangweni NF, Mabhida SE, et al.** An *in vitro* study on the combination effect of metformin and N-Acetyl cysteine against hyperglycaemia-induced cardiac damage. *Nutrients* 2019; **11** (12) pii: E2850: 19 p.
39. **Kadoda K, Moriwaki T, Tsuda M, et al.** Selective cytotoxicity of the anti-diabetic drug, metformin, in glucose-deprived chicken DT40 cells. *PLoS One* 2017; **12** (9): e0185141: 11 p.
40. **Karam HM, Radwan RR.** Metformin modulates cardiac endothelial dysfunction, oxidative stress and inflammation in irradiated rats: A new perspective of an antidiabetic drug. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2019; **46** (12): 1124–32.
41. **Xiong C, Yin D, Li J, et al.** Metformin reduces renal uptake of radiotracers and protects kidneys from radiation-induced damage. *Mol Pharm* 2019; **16** (2): 808–15.
42. **Yu JM, Hsieh MC, Qin L, et al.** Metformin reduces radiation-induced cardiac toxicity risk in patients having breast cancer. *Am J Cancer Res* 2019; **9** (5): 1017–26.
43. **Park JH, Kim YH, Park EH, et al.** Effects of metformin and phenformin on apoptosis and epithelial-mesenchymal transition in chemoresistant rectal cancer. *Cancer Sci* 2019; **110** (9): 2834–45.
44. **Brown SL, Kolozsvary A, Isrow DM, et al.** A novel mechanism of high dose radiation sensitization by metformin. *Front Oncol* 2019; **9** (Art 247): 8 p.
45. **Riaz MA, Sak A, Erol YB, et al.** Metformin enhances the radiosensitizing effect of cisplatin in non-small cell lung cancer cell lines with different cisplatin sensitivities. *Sci Rep* 2019; **9** (1): Art 1282: 16 p.
46. **Fasih A, Elbaz HA, Hüttemann M, et al.** Radiosensitization of pancreatic cancer cells by metformin through the AMPK pathway. *Radiat Res* 2014; **182** (1): 50–9.
47. **Zhang KF, Wang J, Guo J, et al.** Metformin enhances radiosensitivity in hepatocellular carcinoma by inhibition of specificity protein 1 and epithelial-to-mesenchymal transition. *J Cancer Res Ther* 2019; **15** (7): 1603–10.
48. **Gonnissen A, Isebaert S, McKee CM, et al.** The effect of metformin and GANT61 combinations on the radiosensitivity of prostate cancer cells. *Int J Mol Sci* 2017; **18** (2) pii: E399: 15 p.
49. **Zannella VE, Dal Pra A, Muaddi H, et al.** Reprogramming metabolism with metformin improves tumor oxygenation and radiotherapy response. *Clin Cancer Res* 2013; **19** (24): 6741–50.
50. **Domina EA.** Radiogenic cancer: epidemiology and primary prevention. *Kiyv: Naukova Dumka*, 2016. 196 p. (in Russian).
51. **Grinevich YuA, Domina EA.** Immune and cytogenetic effects of dense and rarely ionizing radiation. *Kiev: Zdorov'ya*, 2006. 200 p. (in Russian).
52. **Sant'Anna JR, Yajima JP, Rosada LJ, et al.** Metformin's performance in *in vitro* and *in vivo* genetic toxicology studies. *Exp Biol Med (Maywood)* 2013. **238** (7): 803–10.
53. **Prokhorova IV, Pyaskovskaya ON, Kolesnik DL, et al.** Influence of metformin, sodium dichloroacetate and their combination on the hematological and biochemical blood parameters of rats with gliomas C6. *Exp Oncol* 2018; **40** (3): 205–10.
54. **Cheki M, Shirazi A, Mahmoudzadeh A, et al.** The radioprotective effect of metformin against cytotoxicity and genotoxicity induced by ionizing radiation in cultured human blood lymphocytes/ *Mutat Res* 2016; **809**: 24–32.
55. **Kolivand S, Motevaseli E, Cheki M, et al.** The anti-apoptotic mechanism of metformin against apoptosis induced by ionizing radiation in human peripheral blood mononuclear cells. *Klin Onkol* Fall 2017; **30** (5): 372–9.
56. **Bikas A, Van Nostrand D, Jensen K, et al.** Metformin attenuates ¹³¹I-induced decrease in peripheral blood cells in patients with differentiated thyroid cancer. *Thyroid* 2016; **26** (2): 280–6.
57. Product information Histopaque®-1077 Hybri-Max™ (H8889) (https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Sigma/Product_Information_Sheet/2/h8889pis.pdf).
58. **Bokunyaeva NI, Zolotnitskaya RP.** Handbook of clinical laboratory research methods. Moscow: Meditsina, 1975. 338 p. (in Russian).
59. **Serkiz II., Druzhina NA, Khrienko AP, et al.** Chemiluminescence of blood under radiation exposure. *Kyiv: Naukova Dumka*, 1989. 176 p. (in Russian).
60. **Druzhyna MO, Makovetska LI, Glavin OA, et al.** The free-radical processes in peripheral blood of patients with benign breast disease. *Oncology* 2018; **78** (4): 250–4 (in Ukrainian).
61. **Lvovskaya EI, Volchegorsky IA, Shemyakov SE, et al.** Spectrophotometric determination of lipid peroxidation end products. *Medical chemistry issues* 1991; **37** (4): 92–3 (in Russian).
62. **Stal'naya ID, Garishvili TG.** Method for determination of malondialdehyde using thiobarbituric acid. In: *Modern methods*

in biochemistry. *Orekhovich VN (ed)*. Moscow: Meditsina, 1997: 66–8 (in Russian).

63. **Greenberg CS, Craddock PR**. Rapid Single-step membrane protein assay. *Clinical Chemistry* 1982; **28** (7): 1725–6.

64. **Liochev SI, Fridovich I**. Lucigenin (Bis-N-methylacridinium) as a mediator of superoxide anion production. *Arch Biochem and Biophys* 1997; **337** (1): 115–20.

65. **Yao K, Wu W, Wang K, et al**. Electromagnetic noise inhibits radiofrequency radiation-induced DNA damage and reactive oxygen species increase in human lens epithelial cells. *Mol Vis* 2008; **19** (14): 964–9.

66. **Tarpey MM, Wink DA, Grisham MB**. Methods for detection of reactive metabolites of oxygen and nitrogen: in vitro and in vivo considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; **286**: R431–44.

67. **Sivandzade F, Bhalerao A, Cucullo L**. Analysis of the mitochondrial membrane potential using the cationic JC-1 dye as a sensitive fluorescent probe. *Bio Protoc* 2019; **9**, Iss. 01. pii: e3128. DOI:10.21769/BioProtoc.3128 (www.bio-protocol.org/e3128)

68. MitoPT[®] JC-1 Assay Manual. ImmunoChemistry Technologies, LLC. #F18–911–8–G, 8 p. (www.immunochemistry.com).

69. **Riccardi C, Nicoletti I**. Analysis of apoptosis by propidium iodide staining and flow cytometry. *Nature Protocols* 2006; **1** (3): 1458–61.

70. **Frolov AK, Artsimovich NG, Sokhin AA**. Immunocytogenetics. Moscow: Meditsina, 1993. 240 p. (in Russian).

71. **Domina EA, Pilipchuk EP, Mikhailenko VM, et al**. Analysis of mitotic activity of human blood lymphocytes under conditions of combined irradiation and co-mutagens. Belarusian journal Mediko-biologicheskije problemy zhiznedeyatel'nosti (Gomel) 2015; **14** (2): 48–52 (in Russian).

72. **Lakin GF**. Biometry. Moscow: Vyschaya Shkola, 1990. 352 p. (in Russian).

73. **Xu G, Wu H, Zhang J, et al**. Metformin ameliorates ionizing irradiation-induced long-term hematopoietic stem cell injury in mice. *Free Radic Biol Med* 2015; **87**: 15–25.

74. **Najafi M, Motevaseli E, Shirazi A, et al**. Mechanisms of inflammatory responses to radiation and normal tissues toxicity: Clinical Implications. *Int J Radiat Biol* 2018; **94** (4): 335–56.

METFORMIN AS A MODIFIER OF THE OXIDATIVE STATUS OF PERIPHERAL BLOOD AND THE VIABILITY OF HUMAN LYMPHOCYTES UNDER THE INFLUENCE OF IONIZING RADIATION

O.A. Glavin, E.A. Domina, V.M. Mikhailenko, L.I. Makovetska, M.O. Druzhyna, O.O. Hrinchenko, R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Summary. Aime: to determine the metformin (MF) effect on the transmembrane potential of mitochondria (TMP), the total production of free radical compounds

(FRC) and formation of superoxide anion radical ($O_2^{\cdot-}$) in peripheral blood lymphocytes (PBL) of relatively healthy people, proliferative potential and apoptotic death of this cells, and also on the balance of pro- and antioxidant processes (PAP), the intensity of lipid peroxidation in the blood depending on the concentration of MF and irradiation dose. **Object and methods:** the study used peripheral blood samples from 37 relatively healthy individuals aged 22 to 58 years (18 women and 19 men). MF solution was added at final concentrations of 2 and 20 mM one hour before x-ray irradiation of blood in the dose range of 0,5 to 3,0 Gy. Using conventional methods were determined the concentration of malondialdehyde (MDA), and PAP in the blood, as well as FRC, formation of superoxide anion radical ($O_2^{\cdot-}$), TMP, proliferative potential and apoptosis in PBL. **Results:** changes in the ($O_2^{\cdot-}$) production in the PBL and the content of MDA in blood plasma suggest the antioxidant effect of MF, which was more pronounced at its concentration of 2 mM and test irradiation of blood at doses of 1.0 and 2.0 Gy. Insignificant changes of PAP in the blood and the formation of FRC and TMP in the PBL were observed; also at MF concentration of 2 mM a tendency to decrease PAP and increase TMP was observed. MF increased the level of PBL apoptotic death and reduced their proliferative potential. This effect was observed both in the absence and after test irradiation of blood in the dose ranges of 0.5 to 3.0 Gy. **Conclusions:** The data obtained in the in vitro system indicate the possibility of using MF as a modifier of free radical processes, which causes a shift towards antioxidant reactions, including irradiation in the dose range of 0.5–3.0 Gy. MF in doses of 2 and 20 mM in vitro reduces proliferative potential of PBL and activates their apoptosis.

Key Words: metformin, peripheral blood, lymphocytes, ionizing radiation, apoptosis, proliferative potential, free radicals, lipid peroxidation, balance of pro- and antioxidant processes, transmembrane potential of mitochondria.

Адреса для листування:

Главін О.А.
Інститут експериментальної патології,
онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького
НАН України
03022, Київ, вул. Васильківська, 45
E-mail: veterok61@ukr.net

Одержано: 22.05.2020