

МОДЕЛИРОВАНИЕ ОСТРОГО ЛУЧЕВОГО КОСТНОМОЗГОВОГО СИНДРОМА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА МЫШАХ

¹ Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины
(Россия, Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, д. 4);

² Инновационная фармацевтическая компания «Сильвер Фарм»
(Россия, Санкт-Петербург, Индустриальный пр., д. 45, лит. А, оф. 216);

³ Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова
(Россия, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 6)

Разработана модель острого лучевого костномозгового синдрома в экспериментах на мышах. Проведена медико-биологическая оценка влияния однократного общего равномерного облучения гамма-квантами в диапазоне доз 3–9 Гр на мышей для уточнения особенностей протекания последствий острого радиационного поражения. Выявлено дозозависимое увеличение выраженности кахексического эффекта относительно фоновых значений во всех облученных группах в период с 3-х суток по 14-е сутки (до –25,5 % после облучения в дозе 8 Гр). Установлено, что дозозависимое снижение выживаемости и средней продолжительности жизни мышей происходит после облучения в дозах 5 Гр и выше. При анализе гематологических показателей периферической крови облученных мышей были выявлены лейкопения и тромбоцитопения, выраженность которых также носила дозозависимый характер. Результаты исследований, направленных на комплексную оценку функционального состояния мышей, облученных в диапазоне доз 5–8 Гр, свидетельствуют о дозозависимом снижении болевой чувствительности, мышечной силы, локомоторной активности, координации и мышечного тонуса. Установлены оптимальные дозы облучения для оценки гемостимулирующей активности радиозащитных фармакологических средств – 5 Гр, для анализа выживаемости и средней продолжительности жизни – 6,5 Гр, для изучения функционального состояния животных – 8 Гр. Полученные результаты позволили обосновать целесообразность использования дифференцированного подхода к выбору доз облучения и сроков регистрации радиобиологических, физиологических и гематологических показателей при проведении скрининга фармакологической активности лекарственных средств, потенциально перспективных для применения на различных этапах оказания медицинской помощи при радиационных поражениях.

Ключевые слова: радиобиология, облучение, выживаемость, средняя продолжительность жизни, масса тела, лейкоциты, тромбоциты, функциональное состояние.

Введение

В настоящее время на фоне широкого применения источников ионизирующих излучений и развития ядерной энергетики увеличился риск возникновения аварий техногенного характера. Вследствие этого в структуре боевой терапевтической патологии значительное место могут занимать радиационные поражения, которым свойственно многообразие клинических форм, обусловленное вариативностью лучевого воздействия [13, 20]. Первичные биохимические и патофизиологические эффекты, вызванные ионизирующими излучениями, приводят к развитию характерных патологоанатомических изменений (опустошение кост-

ного мозга, кровоточивость, инфекционные осложнения) [1, 6, 21]. Интегральным эффектом биологического воздействия ионизирующих излучений на организм является развитие острой лучевой болезни (ОЛБ).

В области радиобиологии и радиационной фармакологии активно продолжаются работы по поиску, созданию и экспериментальному изучению безопасности, фармакодинамики и механизмов действия новых противолучевых лекарственных средств [15, 16, 18, 23]. Большой научный и практический интерес представляет изучение новых фармакологических субстанций, перспективных для использования в качестве радиопротекторов,

Никифоров Александр Сергеевич – д-р биол. наук доц., вед. науч. сотр., Гос. науч.-исслед. испытат. ин-т воен. медицины (Россия, 195043, Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, д. 4), e-mail: nikiforov2004@mail.ru;

Иванов Игорь Михайлович – канд. мед. наук, науч. сотр., Гос. науч.-исслед. испытат. ин-т воен. медицины (Россия, 195043, Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, д. 4), e-mail: toxlabs@yandex.ru;

Свентицкая Алевтина Митрофановна – науч. сотр., ООО «ИФК «Сильвер Фарм»» (Россия, 195279, Санкт-Петербург, Индустриальный пр., д. 45, лит. А, оф. 216), e-mail: sventiciy2008@yandex.ru;

✉ Гребенюк Александр Николаевич – д-р мед. наук проф., каф. воен.-мед. снабжения и фармации, Воен.-мед. акад. им. С.М. Кирова (Россия, 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 6), e-mail: grebenyuk_an@mail.ru

радиомитигаторов, а также средств госпитальной терапии острого костномозгового синдрома и других форм радиационных поражений [4, 5]. Для успешного исследования фармакологической активности перспективных противолучевых препаратов необходимо использовать адекватные модели острого лучевого поражения, отражающие как особенности клинического течения данной патологии, так и динамику ключевых гематологических и физиологических показателей.

Цель исследования – разработка модели острого лучевого костномозгового синдрома в эксперименте на мышах, облученных в диапазоне доз от 3 до 9 Гр.

Материал и методы

Экспериментальные исследования выполняли на 350 белых нелинейных мышах-самцах массой 20–28 г, полученных из питомника «Рапполово» (Ленинградская обл.). Животных содержали в стандартных условиях вивария (температура воздуха 18–24°C, относительная влажность воздуха 40–80%). Доступ животных к корму и воде не ограничивали (режим питания – *ad libitum*). Перед проведением каждого эксперимента животные проходили карантин в течение 14 сут, после которого мышей распределяли на группы методом рандомизации по 16 или 24 особи в каждой с исключением из эксперимента больных и ослабленных животных. Эксперименты осуществляли в соответствии с принципами биоэтики и согласно требованиям нормативно-правовых документов о порядке проведения исследовательских работ с применением животных [11].

Общее однократное равномерное облучение животных в диапазоне доз 3–9 Гр моделировали с помощью закрытого источника γ -излучения на установке ИГУР-1 (источник излучения – радионуклид ^{137}Cs типа ИГИ-Ц-8-2 с энергией 0,662 МэВ и мощностью дозы 1,044 Гр/мин).

Продолжительность наблюдения за животными составила 30 сут. Оценивали выживаемость, среднюю продолжительность жизни (СПЖ) погибших от лучевого воздействия мышей, динамику массы тела, основные гематологические показатели и общее функциональное состояние мышей.

Взвешивание животных для оценки кахексического эффекта, индуцированного радиационным поражением, осуществляли на 3-, 7-, 10-, 14-, 21-е и 28-е сутки наблюдения. Количественный анализ основных гематологических показателей (абсолютное число лейко-

цитов и тромбоцитов в единице объема – мкл) проводили на 4-, 7-, 14-, 21-е и 28-е сутки после радиационного поражения. Кровь отбирали после декапитации в пробирки типа «Эппендорф» с предварительно добавленным насыщенным раствором этилендиаминтетрауксусной кислоты. Анализ гематологических показателей проводили при помощи автоматического гематологического анализатора «Mythic 18» (фирма «Cormay», США). Для определения диапазона референсных значений использовали показатели контрольной группы животных (интактные мыши, которых подвергали «ложному облучению»).

Для характеристики функционального состояния облученных животных после радиационного поражения в различных дозах оценивали их чувствительность к болевому раздражителю (тест «Tail Flick»), мышечную силу (тест «Сила хватки»), мышечный тонус и выносливость (тест «Удержание на горизонтальной сетке»), равновесие и координацию движений (тест «Rotarod»), а также ориентировочно-исследовательскую активность и уровень тревожности (тест «Светло-темная камера») [8–10, 12]. Изучение перечисленных психофизиологических показателей проводили на 1-, 4-е и 7-е сутки после облучения.

Полученные данные анализировали общепринятыми статистическими методами с применением программы Statistica 10.0 для Windows. Рассчитывали средние значения регистрируемых показателей и ошибку средней величины ($M \pm m_x$). Для установления достоверных различий с фоновыми данными использовали непараметрический критерий Вилкоксона, а для сопоставления значений опытных и контрольных групп, а также установления значимости различий – непараметрический критерий Манна–Уитни (для двух несвязанных выборок). Оценку функции выживаемости проводили по методу Каплана–Мейера, для установления значимости различий использовали непараметрический критерий Вилкоксона–Гехана. Ошибку средней величины частоты встречаемости признаков (в процентах) с доверительным интервалом для вероятности 95% определяли с помощью таблиц В.С. Генеса [1]. Различия сравниваемых показателей считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их анализ

В табл. 1 представлены результаты изучения выживаемости и СПЖ мышей, облученных в дозовом диапазоне от 3 до 9 Гр. В каждой

Таблица 1

Выживаемость и средняя продолжительность жизни мышей после облучения

Доза облучения, Гр	Выживаемость, %	СПЖ, сут
0 (контроль)	100,0–4,0	30,0 ± 0,0
3	100,0–4,0	30,0 ± 0,0
4	96,0 ± 4,0	29,4 ± 0,6
5	92,0 ± 6,0	28,8 ± 0,9
6,5	17,0 ± 8,0 [#]	15,8 ± 1,5 [#]
8	0,0 ± 4,0 [#]	5,8 ± 0,4 [#]
9	0,0 ± 4,0 [#]	4,1 ± 0,4 [#]

[#] Различия по сравнению с контролем (необлученными животными) при $p < 0,05$.

экспериментальной группе было по 24 особи. Наблюдение за животными осуществляли в течение 30 сут после облучения.

Установлено, что после облучения в дозах 3 и 4 Гр все животные выживали, а воздействие облучения в дозах 5 Гр и выше способствовало дозозависимому снижению выживаемости и СПЖ мышей. После облучения в дозах 5, 6,5 и 8 Гр выживаемость и СПЖ мышей составили (92 ± 6) и $(28,8 \pm 0,9)$, (17 ± 8) и $(15,8 \pm 1,5)$, $(0 \pm 4)\%$ и $(5,8 \pm 0,4)$ сут соответственно.

У выживших мышей после радиационного воздействия было выявлено дозозависимое снижение массы тела относительно фоновых значений у животных во всех группах в период 3–14-е сутки (до $-25,5\%$ на 7-е сутки после облучения в дозе 8 Гр). Постепенный прирост массы тела в период 14–28-е сутки наблюдали в группах животных, облученных в дозах 3 и 4 Гр.

Следует отметить, что полученные результаты согласуются с данными ряда авторов [14, 17, 22]. Исследования выживаемости и выраженности кахексического эффекта у разных видов животных при облучении в диапазоне доз показали, что динамика изучаемых параметров подчиняется закону экспоненциального роста. Следовательно, при дальнейшей оценке эффективности противолучевых средств представляется целесообразным использование вышеописанных показателей состояния облученного организма.

При анализе гематологических показателей периферической крови облученных мышей были выявлены лейкопения и тромбоцитопения, выраженность которых носила дозозависимый характер (табл. 2). В каждой экспериментальной группе было по 8 мышей.

На 4-е сутки количество лейкоцитов после облучения в дозе 3 Гр составило $(2,1 \pm 0,8) \cdot 10^3/\text{мкл}$, а в дозе 6,5 Гр – $(0,3 \pm 0,1) \cdot 10^3/\text{мкл}$ (см. табл. 2). В этот срок наблюдали достоверные ($p < 0,05$) различия с показателями контрольной группы при остром облучении в диапазоне доз 3,0–6,5 Гр. Следует отметить, что постепенное восстановление количества лейкоцитов в периферической крови также носило дозозависимый характер. Гематологические показатели в группе, облученной в дозе 3 Гр, достигали диапазона референсных значений к 7-м суткам после воздействия ионизирующего излучения, в дозе 4 Гр – к 28-м суткам, в то время как после облучения в дозах 5 и 6,5 Гр полного восстановления исследуемого показателя не происходило в течение всего периода наблюдения.

После облучения в дозе 3 Гр достоверные ($p < 0,05$) различия с показателями количества тромбоцитов в контрольной группе наблюдали на 7-е сутки, а при остром облучении в диапазоне доз 4,0–6,5 Гр – на 4-е сутки. Число тромбоцитов после облучения в дозе 3 Гр составило $(314,0 \pm 15,3) \cdot 10^6/\text{мкл}$, а в дозе 6,5 Гр – $(59,4 \pm 8,1) \cdot 10^6/\text{мкл}$, что указывает на дозозависимый характер тромбоцитопении. На 28-е сутки после воздействия ионизирующего излучения в диапазоне доз 3–5 Гр отмечали восстановление исследуемого гематологического показателя до уровня значений контрольных животных (см. табл. 2).

В работах ряда авторов показано, что на моделях острого лучевого поражения у некоторых видов животных можно проследить основные этапы развития костномозгового синдрома, аналогичные изменениям, происходящим в организме человека [19, 22]. Таким образом, дозозависимая динамика показателей пери-

Таблица 2

Количество лейкоцитов ($10^3/\text{мкл}$) в периферической крови мышей после облучения

Доза облучения, Гр	Срок после облучения, сутки				
	4-е	7-е	14-е	21-е	28-е
0 (контроль)	6,0 ± 1,0	6,7 ± 0,7	6,6 ± 0,5	6,8 ± 0,9	6,7 ± 0,5
3	2,1 ± 0,8 [#]	4,5 ± 0,9	5,0 ± 0,9	5,4 ± 0,6	6,0 ± 0,3
4	1,8 ± 0,5 [#]	2,0 ± 0,4 [#]	3,4 ± 0,7 [#]	4,5 ± 0,6 [#]	5,5 ± 0,4
5	1,1 ± 0,3 [#]	1,8 ± 0,2 [#]	2,4 ± 0,7 [#]	3,0 ± 0,3 [#]	3,9 ± 0,3 [#]
6,5	0,3 ± 0,1 [#]	0,7 ± 0,2 [#]	–	–	–

[#] Различия по сравнению с контролем при $p < 0,05$.

ферической крови является одной из наиболее показательных характеристик, которую следует учитывать при исследовании активности радиозащитных препаратов и рецептур.

Следует отметить, что характерной чертой острой лучевой болезни является полисиндромность клинических проявлений: в клинической картине поражения, наряду с панцитопеническим синдромом, выделяют геморрагический синдром, синдром инфекционных осложнений, функционального и органического поражения центральной нервной системы, эндогенной токсемии и др. Синдромы связаны друг с другом общими механизмами развития и способны оказывать взаимное влияние. В связи с этим для комплексного медико-биологического исследования поражающего действия ионизирующего излучения, помимо анализа динамики массы тела, выживаемости, средней продолжительности жизни и гематологических показателей, представлялось целесообразным провести оценку общего функционального состояния облученных животных, учитывая тот факт, что функциональное состояние является важной характеристикой трудо- и боеспособности [3, 13]. В исследовании применяли комплекс тестов для изучения локомоторной активности, сенсорных функций, выносливости и ориентировочно-исследовательской деятельности.

При проведении теста «Tail Flick» было установлено, что в течение 7 сут после облучения в дозе 5 Гр чувствительность мышей к болевому раздражителю практически не изменяется. Во все сроки наблюдения латентный период болевой реакции в тесте у животных этой группы соответствовал показателю в контрольной группе. Воздействие в более высокой дозе 6,5 Гр сопровождалось снижением чувствительности мышей к болевому стимулу. Так, на 3-и сутки после облучения частота развития полного анальгетического эффекта (отсутствие реакции на болевой раздражитель в течение 15 с) составила 12,5%, а на 7-е сутки – 37,5%, что нашло отражение и в увеличении латентного периода болевой реакции. Облучение в дозе 8 Гр приводило к нарушению восприятия болевого стимула у 12,5% животных уже в 1-е сутки после воздействия. При наблюдении через 3 и 7 сут после облучения отмечали прогрессирование этих изменений с максимумом эффекта на 7-е сутки опыта, когда доля животных с полным анальгетическим эффектом составила 66,7%. Полученные данные, по-видимому, следует трактовать не как прямое влияние облучения на ноцицептив-

ную систему организма, а как последствия общего тяжелого состояния облученных животных, в котором они не способны были продемонстрировать реакцию на болевой стимул.

Полученные результаты измерения мышечной силы в тесте «Сила хватки» позволили установить, что показатель, характеризующий силу мышц передних и задних конечностей, практически не изменялся относительно контрольной группы после облучения в дозах 5 и 6,5 Гр в течение периода наблюдения и составил на 7-е сутки ($0,95 \pm 0,06$), ($0,82 \pm 0,04$) и ($0,90 \pm 0,05$) Н соответственно. В то же время, воздействие гамма-облучения в дозе 8 Гр приводило к достоверному снижению силы хватки мышей по сравнению с контрольной группой, начиная с 4-х суток постлучевого периода, с максимально низким показателем на 7-е сутки наблюдения ($0,65 \pm 0,07$) и ($0,90 \pm 0,05$) Н соответственно.

Показано, что в тесте «Rotarod» облучение во всем исследованном диапазоне доз (5–8 Гр) вызывало сокращение средней продолжительности выполнения мышами пробежки. Это указывает на нарушения координации и снижение локомоторной активности животных. После облучения в дозе 5 Гр достоверные различия по времени выполнения теста между опытными и контрольными животными регистрировали только к 7-м суткам постлучевого периода – ($94,4 \pm 10,4$) и ($120,0 \pm 0,0$) секунд соответственно. После воздействия в дозах 6,5 и 8 Гр нарушения выполнения теста относительно контрольной группы отмечали уже на 1-е сутки – ($98,6 \pm 12,7$), ($90,1 \pm 10,6$) и ($118,8 \pm 5,3$) секунд соответственно и 4-е сутки – ($90,4 \pm 10,1$), ($58,0 \pm 14,6$) и ($120,0 \pm 0,0$) секунд соответственно после облучения. Показатели работоспособности животных, которых облучали в дозе 8 Гр, снижались по сравнению с животными контрольной группы в 2–3 раза, что указывало на явное ухудшение функционального состояния животных через 4–7 сут после облучения.

В табл. 3 представлены результаты исследования мышечного тонуса и выносливости облученных мышей в тесте «Удержание на горизонтальной сетке». В каждой экспериментальной группе было по 16 мышей.

Анализ полученных данных позволил сделать вывод о том, что облучение в дозах 5 и 6,5 Гр практически не оказало влияния на мышечный тонус и выносливость животных по сравнению с контрольной группой в течение всего периода наблюдения (7-е сутки). В то же время, было отмечено, что радиационное

Таблица 3

Показатели мышечного тонуса мышей в тесте
«Удержание на горизонтальной сетке» (с)

Доза облучения, Гр	Период эксперимента, сутки		
	1-е	4-е	7-е
0 (контроль)	114,5 ± 5,5	116,3 ± 3,8	113,5 ± 6,5
5	106,8 ± 13,3	110,0 ± 4,2	120,0 ± 0,0
6,5	110,0 ± 10,0	112,7 ± 5,4	114,0 ± 6,0
8	117,8 ± 2,3	103,5 ± 7,9	80,5 ± 11,2*

* Различия по сравнению с контролем при $p < 0,05$.

поражение в дозе 8 Гр привело к достоверному понижению времени удержания на горизонтальной сетке на 4-е и 7-е сутки постлучевого периода (см. табл. 3).

Результаты оценки ориентировочно-исследовательской активности животных, облученных в диапазоне доз 5–8 Гр, показали, что уровень тревожности, коррелирующий со временем, проведенном в темном отсеке, практически не изменялся. В то же время, при радиационном поражении в дозах 6,5 и 8 Гр отмечали достоверное увеличение продолжительности периодов неподвижности в сравнении с контрольной группой – ($10,8 \pm 2,4$), ($13,2 \pm 5,2$) и ($3,3 \pm 1,1$) секунд соответственно. Также на 4-е сутки после облучения в дозе 6,5 Гр регистрировали достоверное снижение числа обнюхиваний относительно контрольной группы – ($7,0 \pm 1,8$) и ($13,1 \pm 3,3$) соответственно.

Таким образом, результаты проведенных исследований, направленных на комплексную оценку психофизиологических функций мышей, облученных в диапазоне доз 5–8 Гр, свидетельствуют о дозозависимом понижении болевой чувствительности, мышечной силы, локомоторной активности, координации и мышечного тонуса. Достоверное изменение параметров регистрировали по большей части у животных, облученных в дозе 8 Гр. Анализ показателей продолжительности и частоты ориентировочно-исследовательской активности животных после радиационного поражения выявил значимые изменения в динамике длительности периодов неподвижности и исследовательской активности на 4-е сутки постлучевого периода. Следует отметить, что наиболее показательными оказались тесты «Удержание на горизонтальной сетке» и «Светло-темная камера».

Вероятно, выявленные закономерности модификаций психофизиологического состояния животных при остром радиационном поражении в диапазоне доз 5–8 Гр можно экстраполировать на организм человека с уче-

том комплексных изменений, происходящих с кроветворной и иммунной системами. Уточнение доз облучения и сроков исследования различных параметров может в дальнейшем оптимизировать процесс оценки эффективности различных радиозащитных рецептов.

Заключение

Полученные в ходе проведенного исследования результаты свидетельствуют о том, что динамика выживаемости, средняя продолжительность жизни, выраженность кахексического эффекта, лейкопении и тромбоцитопении, а также изменение общего функционального состояния животных при остром радиационном поражении в диапазоне доз 3–9 Гр носит дозозависимый характер. Кроме того, полученные данные позволили обосновать дифференцированный подход к выбору доз облучения и сроков регистрации показателей при изучении потенциально перспективных радиозащитных средств.

Для исследований эффективности применения физиологически активных веществ на экспериментальной модели острого радиационного поражения у мышей представляется наиболее целесообразным использовать следующие дозы облучения: 5 Гр – для оценки гемостимулирующей активности терапевтических агентов с регистрацией показателей на 3–28-е сутки после облучения, 6,5 Гр – для оценки выживаемости и СПЖ в течение 30 сут, 8 Гр – для изучения функционального состояния животных (4-е сутки – в тесте «Светло-темная камера», 4-, 7-е и 10-е сутки – в тесте «Удержание на горизонтальной сетке»).

Литература

1. Бутомо Н.В., Гребенюк А.Н., Легеза В.И. [и др.] Основы медицинской радиобиологии / под ред. И.Б. Ушакова. СПб. : Фолиант, 2004. 384 с.
2. Генес В.С. Таблицы достоверных различий между группами наблюдений по качественным показателям: пособие по статистической обработке результатов наблюдений и опытов в медицине и биологии. М. : Медицина, 1964. 80 с.
3. Гребенюк А.Н., Бояринцев В.В., Сидоров Д.А. Задачи медицинской службы в области обеспечения токсико-радиологической безопасности военнослужащих // Воен.-мед. журн. 2009. Т. 330, № 4. С. 12–16.
4. Гребенюк А.Н., Легеза В.И. Перспективы использования радиопротекторов для повышения эффективности медицинской противорадиационной защиты Вооруженных сил // Воен.-мед. журн. 2013. Т. 334, № 7. С. 46–50.
5. Гребенюк А.Н., Легеза В.И., Тарумов Р.А. Радиомитигаторы: перспективы использования в си-

стеме медицинской противорадиационной защиты // Воен.-мед. журн. 2014. Т. 335, № 6. С. 39–43.

6. Гребенюк А.Н., Стрелова О.Ю., Легеза В.И., Степанова Е.Н. Основы радиобиологии и радиационной медицины : учеб. пособие. СПб. : Фолиант, 2012. 225 с.

7. Директива 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях. СПб. : Rus-LASA НП объединение специалистов по работе с лабораторными животными, рабочая группа по переводам и изданию тематической литературы, 2012. 48 с.

8. Каркищенко В.Н., Фокин Ю.В., Казакова Л.Х. Методики изучения физиологических функций лабораторных животных для доклинических исследований в спортивной медицине // Биомедицина. 2012. № 4. С. 15–21.

9. Мазаева Ю.В., Малышева Е.В. Коррекция воздействия цитостатиков на психофизиологические функции лабораторных мышей с помощью фитостракта володушки золотистой (*bupleurum aureum*) // Вестн. Томск. гос. ун-та. 2015. № 4. С. 945–949.

10. Медведева Ю.С., Архипова Е.Н., Алчинова И.Б. Особенности организменного ответа мышей разных линий на острое гамма-облучение // Биомедицина. 2013. № 2. С. 61–73.

11. Об утверждении правил лабораторной практики : приказ Минздрава России от 19.06.2003 г. № 267.

12. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М. : Гриф и К, 2012. Ч. 1. 944 с.

13. Халимов Ю.Ш., Гребенюк А.Н., Карамулин М.А. [и др.]. Современные возможности оказания терапевтической помощи при возникновении массовых санитарных потерь радиационного профиля // Воен.-мед. журн. 2012. Т. 333, № 2. С. 24–32.

14. Cantinha R.S., Amaral A., Borrelly S.I. [et al]. Effects of high dose rate gamma radiation on survival

and reproduction of *biomphalaria glabrata* // INAC. 2009. Vol. 7434. P. 11–18.

15. Grdina D.J., Murley J.S., Kataoka Y. Radioprotectants: current status and new directions // Radiat. Res. 2005. Vol. 163, N 6. P. 704–705.

16. Grebenyuk A., Zatselin V., Aksenova N., Timoshchevsky A. Effects of early therapeutic administration of interleukin-1 β on survival rate and bone marrow haemopoiesis in irradiated mice // Acta Medica (Hradec Kralove). 2010. Vol. 53, N 4. P. 221–224.

17. Landes R.D., Lensing S.Y., Jensen M.H. [et al]. Statistical analysis of survival data from radiation countermeasure experiments // Radiat. Res. 2012. Vol. 177, N 5. P. 546–554.

18. Seed T.M. Radiation protectants: current status and future prospects // Health Phys. 2005. Vol. 89, N 5. P. 531–545.

19. Singh V.K., Newman V.L., Romaine P.L. [et al]. Use of biomarkers for assessing radiation injury and efficacy of countermeasures // Expert Rev. Mol. Diagn. 2016. Vol. 16, N 1. P. 65–81.

20. Singh V.K., Romaine P.L., Newman V.L., Seed T.M. Medical countermeasures for unwanted CBRN exposures: part II radiological and nuclear threats with review of recent countermeasure patients // Expert Opin. Ther. Pat. 2016. Vol. 26, N 12. P. 1399–1408.

21. Waselenko J.K., McVittie T.J., Blakely W.F. [et al.]. Medical management of the acute radiation syndrome: recommendations of the Strategic National Stockpile Radiation Working Group // Ann. Intern. Med. 2004. Vol. 140, N 12. P. 1037–1051.

22. Williams J.P., Brown S.L., Georges G.E. [et al]. Animal models for medical countermeasures to radiation exposure // Radiat. Res. 2010. Vol. 173, N 4. P. 557–578.

23. Xiao M., Whitnall M.H. Pharmacological countermeasures for the acute radiation syndrome // Cur. Mol. Pharmacol. 2009. Vol. 2. P. 122–133.

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией статьи.
Поступила 30.08.2017

Для цитирования. Никифоров А.С., Иванов И.М., Свентицкая А.М., Гребенюк А.Н. Моделирование острого костномозгового синдрома в эксперименте на мышах // Мед.-биол. и соц.-психол. пробл. безопасности в чрезв. ситуациях. 2017. № 4. С. 66–73. DOI 10.25016/2541-7487-2017-0-4-66-73

Modeling of acute radiation bone marrow syndrome in the experiment on mice

Nikiforov A.S.¹, Ivanov I.M.¹, Sventitskaya A.M.², Grebenyuk A.N.³

¹ State Scientific-Research Testing Institute of Military Medicine (Lesoparkovaya Str., 4, St. Petersburg, 195043, Russia);

² LLC «Innovative Pharmaceutical Company “Silver Pharm”» (Industrialnyy Ave., 45, St. Petersburg, 195279, Russia);

³ Kirov Military Medical Academy (Academica Lebedeva Str., 6, St. Petersburg, 194044, Russia)

Aleksandr Sergeevich Nikiforov – Dr. Biol. Sci., Leading Research Associate, State Scientific-Research Testing Institute of Military Medicine (Lesoparkovaya Str., 4, St. Petersburg, 195043, Russia), e-mail: nikiforov2004@mail.ru;

Igor Mikhailovich Ivanov – PhD Med. Sci., Research Associate, State Scientific-Research Testing Institute of Military Medicine (Lesoparkovaya Str., 4, St. Petersburg, 195043, Russia), e-mail: toxlabs@yandex.ru;

Alevtina Mitrofanovna Sventitskaya – Research Associate, LLC «Innovative Pharmaceutical Company “Silver Pharm”» (Industrialnyy Ave., 45, St. Petersburg, 195279, Russia), e-mail: sventiciy2008@yandex.ru;

✉ Aleksandr Nikolaevich Grebenyuk – Dr. Med. Sci. Prof., Kirov Military Medical Academy (Academica Lebedeva Str., 6, St. Petersburg, 194044, Russia), e-mail: grebenyuk_an@mail.ru

Abstract

Relevance. Radiation injuries with the variety of clinical forms occupy an important place in a military therapeutic pathology. Acute radiation sickness (ARS) is the result of the biological effects of the ionizing radiation on a body. Currently, there are ongoing studies in the area of radiobiology and radiological pharmacology, with the main purpose to assess safety, pharmacodynamics and mechanisms of the new radioprotective drugs. However, for successful study of their pharmacological activity in the model of ARS (mice) it is necessary to clarify mechanisms of acute radiation injury and also identify optimal radiation doses for studying specific parameters.

Intention. Development of a model of acute radiation bone marrow syndrome in the experiment on mice irradiated in the dose range of 3–9 Gy.

Methods. The experiments were carried out in animal model (350 male mice). Life expectancy, the dynamics of body weight, the basic hematological parameters and functional states (Tail Flick, Grip Strength System, Retention on a Horizontal Grid, Rotarod and Light-dark test), 30-day survival were studied post-exposure (3–9 Gy).

Results and Discussion. The obtained results indicate that the body weight dynamics, survival, life expectancy, severity of leukocytopenia and thrombocytopenia, and also changes in the total functional status of the animals in acute radiation injury (3–9 Gy) are dose-dependent. Besides, the obtained data substantiate a differentiated approach to the choice of irradiation doses and terms of registration of parameters when studying potentially promising radioprotective drugs.

Conclusion. For research of effective application of physiologically active substances in the experimental model of acute radiation injury in mice it is advisable to use the following radiation doses: 5 Gy – to evaluate hemostimulating activity of therapeutic agents with registration of indicators on days 3–28 after exposure, 6.5 Gy – to assess survival and life expectancy over 30 days; 8 Gy – to study functional state of animals (4 days in the Light-Dark Test, 4, 7 and 10 days in Retention on a Horizontal Grid).

Keywords: radiobiology, ionizing radiation irradiation, survival, life expectancy, body weight, leukocytes, platelets, functional state.

References

1. Butomo N.V., Grebenyuk A.N., Legeza V.I. Osnovy meditsinskoi radiobiologii [Fundamentals of medical radiobiology]. Ed. I.B. Ushakov. Sankt-Peterburg. 384 p. (In Russ.)
2. Genes V.S. Tablitsy dostovernnykh razlichii mezhdru gruppami nablyudenii po kachestvennym pokazatelyam: posobie po statisticheskoi obrabotke rezul'tatov nablyudenii i opytov v meditsine i biologii [Tables of significant differences between groups by quality indicators: guidelines for statistical processing of results of observations and experiments in the medicine and biology]. Moskva. 1964. 80 p. (In Russ.)
3. Grebenyuk A.N., Boyarintsev V.V., Sidorov D.A. Zadachi meditsinskoi sluzhby v oblasti obespecheniya toksiko-radiologicheskoi bezopasnosti voennosluhashchikh [Purposes of medical service in area of assurance of toxicological defense of service men]. *Voenna-meditsinskii zhurnal* [Military medical journal]. 2009. Vol. 330, N 4. Pp. 12–16. (In Russ.)
4. Grebenyuk A.N., Legeza V.I. Perspektivy ispol'zovaniya radioprotektorov dlya povysheniya effektivnosti meditsinskoi protivoradiatsionnoi zashchity Vooruzhennykh sil [Perspects of the use of radioprotectors for improvement of anti-radiation medicine in the Armed Forces]. *Voenna-meditsinskii zhurnal* [Military medical journal]. 2013. Vol. 334, N 7. Pp. 46–50. (In Russ.)
5. Grebenyuk A.N., Legeza V.I., Tarumov R.A. Radiomitigatory: perspektivy ispol'zovaniya v sisteme meditsinskoi protivoradiatsionnoi zashchity [Radiomitigators: prospects for use in medical radiation protection]. *Voenna-meditsinskii zhurnal* [Military medical journal]. 2014. Vol. 335, N 6. Pp. 39–43. (In Russ.)
6. Grebenyuk A.N., Strelova O.Yu., Legeza V.I., Stepanova E.N. Osnovy radiobiologii i radiatsionnoi meditsiny [Fundamentals of radiobiology and radiation medicine: tutorial]. Sankt-Peterburg. 2012. 225 p. (In Russ.)
7. Direktiva 2010/63/EU Evropeiskogo parlamenta i soveta evropeiskogo soyuza po okhrane zhivotnykh, ispol'zuemykh v nauchnykh tselyakh [Directive 2010/63/EU of the European Parliament and the Council of the European Union for the protection of animals used for scientific purposes]. Sankt-Peterburg. 2012. 48 p. (In Russ.)
8. Karkishchenko V.N., Fokin Yu.V., Kazakova L.Kh. Metodiki izucheniya fiziologicheskikh funktsii laboratornykh zhivotnykh dlya doklinicheskikh issledovaniy v sportivnoi meditsine [Methods of studying physiological functions of laboratory animals for preclinical studies in sports medicine]. *Biomeditsina* [Biomedicine]. 2012. N 4. Pp. 15–21. (In Russ.)
9. Mazaeva Yu.V., Malysheva E.V. Korrektsiya vozdeistviya tsitostatikov na psikhofiziologicheskie funktsii laboratornykh myshei s pomoshch'yu fitoekstrakta volodushki zolotistoi (bupleurum aureum) [Correction of effects of drugs on physiological functions of mice with bupleurum aureum phytoextract]. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta* [Bulletin of Tomsk State University]. 2015. N 4. Pp. 945–949. (In Russ.)
10. Medvedeva Yu.S., Arkhipova E.N., Alchinova I.B. Osobennosti organizmennogo otveta myshei raznykh liniy na ostroe gamma-oblucheniye [Features of the organism response of mice of different lines to acute gamma-irradiation]. *Biomeditsina* [Biomedicine]. 2013. N 2. Pp. 61–73. (In Russ.)
11. Ob utverzhdenii pravil laboratornoi praktiki [Approval of rules for laboratory practice] : prikaz Ministerstva zdravookhraneniya Rossii ot 19.06.2003 N 267 [Order of the Ministry of Health of the Russian Federation of 19.06.2003 N 267]. (In Russ.)

12. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv [The guidelines for preclinical studies of pharmaceuticals]. Moskva. 2012. Pt. 1. 944 p. (In Russ.)
13. Khalimov Yu.Sh., Grebenyuk A.N., M.A. Karamullin [et al.]. Sovremennye vozmozhnosti okazaniya terapevticheskoi pomoshchi pri vozniknovenii massovykh sanitarnykh poter' radiatsionnogo profilya [Modern possibilities of providing therapeutic assistance in situations of mass sanitary losses of the radiation profile]. *Voenno-meditsinskii zhurnal* [Military medical journal]. 2012. Vol. 333, N 2. Pp. 24–32. (In Russ.)
14. Cantinha R.S., Amaral A., Borrelly S.I. [et al.]. Effects of high dose rate gamma radiation on survival and reproduction of *biomphalaria glabrata*. *INAC*. 2009. Vol. 7434. Pp. 11–18.
15. Grdina D.J., Murley J.S., Kataoka Y. Radioprotectants: current status and new directions. *Radiat. Res.* 2005. Vol. 163, N 6. Pp. 704–705.
16. Grebenyuk A., Zatsepin V., Aksenova N., Timoshevsky A. Effects of early therapeutic administration of interleukin-1 β on survival rate and bone marrow haemopoiesis in irradiated mice. *Acta Medica (Hradec Kralove)*. 2010. Vol. 53, N 4. Pp. 221–224.
17. Landes R.D., Lensing S.Y., Jensen M.H. [et al.]. Statistical analysis of survival data from radiation countermeasure experiments. *Radiat. Res.* 2012. Vol. 177, N 5. Pp. 546–554.
18. Seed T.M. Radiation protectants: current status and future prospects. *Health Phys.* 2005. Vol. 89, N 5. Pp. 531–545.
19. Singh V.K., Newman V.L., Romaine P.L. [et al.]. Use of biomarkers for assessing radiation injury and efficacy of countermeasures. *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2016. Vol. 16, N 1. Pp. 65–81.
20. Singh V.K., Romaine P.L., Newman V.L., Seed T.M. Medical countermeasures for unwanted CBRN exposures: part II radiological and nuclear threats with review of recent countermeasure patients. *Expert Opin. Ther. Pat.* 2016. Vol. 26, N 12. Pp. 1399–1408.
21. Waselenko J.K., McVittie T.J., Blakely W.F. [et al.]. Medical management of the acute radiation syndrome: recommendations of the Strategic National Stockpile Radiation Working Group. *Ann. Intern. Med.* 2004. Vol. 140, N 12. Pp. 1037–1051.
22. Williams J.P., Brown S.L., Georges G.E. [et al.]. Animal models for medical countermeasures to radiation exposure. *Radiat. Res.* 2010. Vol. 173, N 4. Pp. 557–578.
23. Xiao M., Whitnall M.H. Pharmacological countermeasures for the acute radiation syndrome. *Cur. Mol. Pharmacol.* 2009. Vol. 2. Pp. 122–133.

Received 30.08.2017

For citing: Nikiforov A.S., Ivanov I.M., Sventitskaya A.M., Grebenyuk A.N. Modelirovanie ostrogo lucheвого kostno-mozgovogo sindroma v eksperimente na myshakh. *Mediko-biologicheskie i sotsial'no-psikhologicheskie problemy bezopasnosti v chrezvychaynykh situatsiyakh*. 2017. N 4. Pp. 66–73. (In Russ.)

Nikiforov A.S., Ivanov I.M., Sventickaya A.M., Grebenyuk A.N. Modeling of acute radiation bone marrow syndrome in the experiment on mice. *Medico-Biological and Socio-Psychological Problems of Safety in Emergency Situations*. 2017. N 4. P. 66–73. DOI 10.25016/2541-7487-2017-0-4-66-73