



О Т Ч Е Т

о выполненной научно-исследовательской работе по теме "Исследовать радиопротекторные свойства препарата ВС-1 (таблетки «Доновит-ВС»)"

Раздел темы: "Исследовать влияние препарата ВС-1 на кроветворную систему облученных животных".

Работа выполнена совместно в лаборатории радиационной биохимии (ведущий научный сотрудник, докт. биол. наук, проф., Я.И. Серкиз) и лаборатории радиационной цитологии (зав. лаб. докт. биол. наук Г.М. Чоботько) Института экспериментальной радиологии Научного центра радиационной медицины АМН Украины.

КИЕВ - 2003

Материалы и методы.

В опытах использованы крысы-самцы линии Вистар. Животных облучали рентгеновскими лучами на аппарате РУМ-17 в Институте онкологии АМН Украины. Мощность экспозиционной дозы составляла 0,529 мА/кг. Животным в течение 30 суток каждый день перед облучением однократно давали препарат ВС-1. Разовая доза составляла двойную дозу, рекомендованную для человека и пересчитанную на массу тела животного (150 ± 20 г). Препарат животным давали в виде водного раствора в количестве 10 мл на одно животное в сутки.

Животные в опыте были разделены на 9 групп, аналогично, как и при выполнении предыдущего раздела темы:

- 1 - контрольные (интактные) крысы;
- 2 - облученные в дозе 3 Гр;
- 3 - облученные в дозе 3 Гр + препарат ВС-1;
- 4 - облученные в дозе 5 Гр;
- 5 - облученные в дозе 5 Гр + препарат ВС-1;
- 6 - облученные в дозе 6 Гр;
- 7 - облученные в дозе 6 Гр + препарат ВС-1;
- 8 - облученные в дозе 7 Гр;
- 9 - облученные в дозе 7 Гр + препарат ВС-1.

Исходное количество животных в каждой группе составляло 100 шт. В дальнейшем, по мере убытия животных из-за радиационной их гибели, особенно при летальных дозах, количество животных в группах уменьшалось (согласно табл. 1 предыдущего отчета по данной теме).

Изучали состояние периферической крови во всех опытных группах животных, а также контрольной (необлученной) группе. Исследования выполнены в динамике: до облучения, затем на 1-е, 4-е, 8-е, 16-е и 30-е сутки после облучения - т.е. в критические сроки развития радиационных изменений, которые установлены в классической радиобиологии [2.3.4]. Кровь для исследования забирали из хвостовой вены животных. Исследовали такие показатели крови: количество эритроцитов, лейкоцитов, нейтрофилов, моноцитов и лимфоцитов в 1 мм куб крови а также количество гемоглобина - показатели выражали в абсолютных единицах по общепринятому принципу в пересчете на 1 л крови. Кроме состава периферической крови изучали

митотическую активность клеток костного мозга по показателю митотического индекса с использованием тимидиновой метки /1.4./. Костный мозг для исследований брали из бедренной кости крыс /1/. Митотическую активность выражали в процентах к общей сумме клеток.

Результаты исследований обрабатывали статистически на персональном компьютере с использованием пакета прикладных программ MS Excel 2000.

Результаты исследований.

Полученные результаты исследований состава периферической крови и митотической активности клеток костного мозга облученных в разных дозах крыс, а также облученных животных с применением препарата ВС-1 представлены в таблицах 1-4. Экспериментальные данные позволяют составить следующую картину радиационных поражений при конкретно использованных дозах радиации.

Доза 3 Гр (табл.1) вызывает изменения только средних значений таких показателей как количества эритроцитов, гемоглобина и нейтрофилов. Эти изменения являются статистически недостоверными по отношению к норме. Тем не менее, применение препарата ВС-1 приводит к норме перечисленные показатели. Что касается остальных показателей (лейкоциты, моноциты, лимфоциты и митотический индекс), то доза 3 Гр вызывает статистически достоверное их уменьшение на 1-е, 4-е и 8-е сутки после действия радиации. Препарат ВС-1 приводит к норме указанные показатели (в таблицах звездочкой указаны статистически достоверные изменения этих показателей, связанных с действием препарата, по отношению к значению показателей, изменения которых обусловлены радиационным воздействием). Следует отметить, что доза 3 Гр является минимально летальной и по нашим данным составляет ЛД 2/30. Применение препарата ВС-1 при этой дозе приводило к отсутствию гибели животных. Вместе с тем, согласно полученным данным все изученные показатели крови и митотической активности клеток костного мозга нормализуются.

Доза 5 Гр (ЛД 17/30 - 17% животных гибнет к 30-м суткам после облучения) вызывает более существенные радиационные нарушения содержания всех изученных форменных элементов периферической крови (табл.2):

статистически достоверное увеличение количества эритроцитов и гемоглобина на 1-е сутки и уменьшение этих показателей на 16-е сутки;

статистически достоверное и значительное уменьшение содержания остальных элементов

крови (лейкоциты, нейтрофилы, моноциты и лимфоциты) во все сроки исследований с максимальными отклонениями на первые сутки;

статистически достоверное уменьшение (в 3 раза) способности клеток костного мозга к

делению по показателю митотического индекса.

Применение препарата ВС-1 при этой дозе уменьшает гибель животных в 3 раза до ЛД 5/30. Это сопровождается статистически достоверной нормализацией количества эритроцитов, гемоглобина и лимфоцитов в крови. Отмечается также статистически достоверное увеличение содержание лейкоцитов, нейтрофилов и моноцитов по отношению к значительному их уменьшению, связанному с действием радиации. Однако, к норме эти показатели не возвращаются, что особенно является характерным в наиболее ранние пострадиационные сроки -1-е и 4-е сутки. Препарат ВС-1 во все сроки исследований существенно повышает митотическую активность клеток костного мозга - в наиболее критические для организма сроки 1-е и 4-е сутки этот показатель улучшается (увеличивается почти в 2 раза).

Доза 6 Гр (ЛД 50/30 - 50% животных гибнет к 30-м суткам после радиационного воздействия) вызывает значительные радиационные нарушения в системе кроветворения (табл.3). Применение препарата ВС-1 приводит только к тенденции к нормализации отдельных показателей крови. Однако эти изменения, хоть и направлены в сторону нормализации, являются статистически недостоверными и по величине несущественными. Несмотря на то, что при этой дозе радиации препарат ВС-1 все же увеличивает выживаемость животных на 24%, но по показателям состава периферической крови и митотической активности клеток костного мозга его противорадиационная эффективность является несущественной.

(После облучения животных в дозе 7 Гр (ЛД 83/30) радиопротекторные свойства препарата ВС-1 по показателям крови и митотической активности клеток костного мозга (табл.4), как и по выживаемости животных, не проявляются.

Таблица 1 .Изменение клеточного состава периферической крови и митотической активности клеток костного мозга у крыс, облученных рентгеновскими лучами в дозе 3 Гр а также облученных после действия препарата ВС-1.

Условия опыта. Время после облучения, сутки	Эритроциты, 10^{12} /л.	Гемоглобин, г/л	Лейкоциты, 10^9 /л	Нейтрофилы, 10^9 /л	Моноциты, 10^9 /л	Лимфоциты, 10^9 /л	Митотический индекс, %
Контроль (необлученные)	8,4 ± 0,5	139±12	14,5±1,8	3,7±0,5	5,1±0,4	11,3±1,7	6,3±0,7
Облученные 3 Гр 1 сутки	8,9±0,7	145±14	6,0±0,5	3,3±0,4	3,6±0,2	8,2±0,8	4,5±0,3
4 сутки	8,5±0,9	138±15	6,3±0,4	3,5±0,5	3,5±0,4	9,7±1,1	4,9±0,4
8 сутки	7,4±0,8	125±13	9,4±1,1	3,6±0,5	3,8±0,3	10,3±1,2	5,5±0,6
16 сутки	8,3±0,8	138±16	11,6±1,2	3,7±0,3	4,1±0,5	10,8±0,9	5,8±0,7
30 сутки	9,0±1,1	141±17	13,9±1,4	3,6±0,5	4,4±0,4	11,1±1,3	5,7±0,6
Облученные 3Гр+ВС-1 1 сутки	8,5±0,9	138±15	12,9±1,4*	3,5±0,5	5,0±0,7*	10,9±1,2*	5,6±0,6*
4 сутки	8,4±0,9	139±11	13,4±1,3*	3,8±0,3	4,8±0,4*	11,4±1,3	6,5±0,7*
8 сутки	8,2±1,1	140±12	14,5±1,5*	3,6±0,4	5,1±0,6*	11,2±1,1	6,2±0,8
16 сутки	8,3±1,0	141±14	13,9±1,6	3,7±0,4	5,5±0,5*	12,5±1,4	6,9±0,6
30 сутки	8,7±0,8	139±13	14,4±1,4	3,8±0,3	5,2 ± 0,6	12,2 ± 1,3	7,0± 0,8

Таблица 2. Изменение клеточного состава периферической крови и митотической активности клеток костного мозга крыс, облученных рентгеновскими лучами в дозе 5 Гр а также облученных после действия препарата ВС-1.

Условия опыта. Время после облучения, сутки	Эритроциты, 10^{12} /л	Гемоглобин, г/л	Лейкоциты, 10^9 /л	Нейтрофилы, 10^9 /л	Моноциты, 10^9 /л	Лимфоциты, 10^9 /л	Митотический индекс, %
Контроль	$8,4 \pm 0,5$	139 ± 12	$14,5 \pm 1,8$	$3,7 \pm 0,5$	$5,1 \pm 0,4$	$11,3 \pm 1,7$	$6,3 \pm 0,7$
Облученные 5 Гр							
1-е сут.	$10,1 \pm 0,8$	171 ± 16	$2,1 \pm 0,3$	$1,1 \pm 0,2$	$1,7 \pm 0,2$	$5,8 \pm 0,7$	$2,1 \pm 0,3$
4-е сут.	$8,4 \pm 0,7$	139 ± 15	$2,3 \pm 0,4$	$1,5 \pm 0,2$	$1,9 \pm 0,1$	$6,0 \pm 0,6$	$2,3 \pm 0,4$
8-е сут.	$6,5 \pm 0,4$	102 ± 9	$3,4 \pm 0,3$	$1,7 \pm 0,3$	$1,8 \pm 0,3$	$5,9 \pm 0,4$	$2,8 \pm 0,3$
16-е сут.	$7,7 \pm 0,8$	125 ± 13	$5,9 \pm 0,5$	$2,4 \pm 0,4$	$1,7 \pm 0,3$	$6,5 \pm 0,8$	$4,4 \pm 0,6$
30-е сут	$9,6 \pm 1,1$	145 ± 14	$9,8 \pm 1,1$	$3,5 \pm 0,3$	$2,2 \pm 0,4$	$7,1 \pm 0,7$	$6,3 \pm 0,8$
Облученные 5 Гр + препарат ВС-1							
1 -е сут	$9,0 \pm 0,7$	142 ± 15	$8,3 \pm 0,9^*$	$2,4 \pm 0,3^*$	$3,9 \pm 0,6^*$	$11,5 \pm 1,2^*$	$4,8 \pm 0,5^*$
4-е сут	$8,4 \pm 0,9$	143 ± 16	$7,9 \pm 0,8^*$	$2,7 \pm 0,4^*$	$4,2 \pm 0,4^*$	$10,9 \pm 1,2^*$	$5,3 \pm 0,7^*$
8-е сут	$7,6 \pm 0,8$	$125 \pm 11^*$	$7,6 \pm 0,8^*$	$3,2 \pm 0,3^*$	$4,8 \pm 0,5^*$	$12,3 \pm 1,4^*$	$4,9 \pm 0,6^*$
16-е сут	$8,0 \pm 0,9$	132 ± 14	$11,9 \pm 1,3^*$	$3,5 \pm 0,5^*$	$5,3 \pm 0,7^*$	$12,8 \pm 1,3^*$	$5,7 \pm 0,8$
30-е сут	$8,7 \pm 1,0$	138 ± 13	$12,5 \pm 1,4^*$	$3,8 \pm 0,5$	$5,5 \pm 0,6^*$	$13,4 \pm 1,1^*$	$6,6 \pm 0,9$

Таблица 3. Изменение клеточного состава периферической крови и митотической активности клеток костного мозга крыс, облученных рентгеновскими лучами в дозе 6 Гр а также облученных после действия препарата ВС-1.

Условия опыта. Время после облучения, сутки	Эритроциты, 10^{12} /л	Гемоглобин г/л	Лейкоциты, 10^9 /л	Нейтрофилы, 10^9 /л	Моноциты, 10^9 /л	Лимфоциты 10^9 /л	Митотический индекс, %
Контроль	8,4 ±0,5	139 ± 12	14,5 ± 1,8	3,7 ±0,5	5,1 ±0,4	11,3± 1,7	6,3 ±0,7
Облученные 6 Гр							
1-е сут	10,4 ± 1,3	176 ± 16	1,9 ±0,2	0,9 ±0,1	1,3 ±0,4	5,0 ± 0,7	1,7± 0,2
4-е сут	8,2 ±0,9	133 ±13	2,0 ± 0,3	1,2 ±0,3	1,6 ±0,1	5,3 ± 0,6	2,0 ± 0,3
8-е сут	6,3 ±0,7	91 ±10	2,3 ± 0,3	1,6 ±0,2	1,5 ±0,2	5,6 ± 0,7	3,7 ±0,5
16-е сут	7,5 ±0,8	120 ± 13	4,1 ±0,6	1,9 ±0,3	1,8 ±0,3	5,9 ± 0,7	4,1 ±0,6
30-е сут	8,7 ± 0,8	142 ± 15	7,0 ± 0,9	2,2 ±0,4	1,9 ±0,3	6,3 ± 0,9	4,8 ±0,5
Облученные 6 Гр + препарат ВС-1							
1-е сут	10,1 ± 1,2	169 ± 18	2,3 ± 0,4	1,1 ±0,3	1,5 ±0,3	5,3 ± 0,6	1,9 ±0,3
4-е сут	8,4 ±0,9	131±15	2,1 ±0,3	1,2 ±0,2	1,4 ±0,2	5,1 ±0,8	1,6± 0,2
8-е сут	6,6 ±0,7	98 ± 11	2,6 ±0,5	1,5 ±0,4	1,7 ±0,3	6,2 ±0,9	3,8 ±0,5
16-е сут	7,6 ±0,8	119± 12	4,5 ±0,7	2,0 ± 0,3	2,0 ± 0,4	6,0 ±0,5	4,0 ±0,4
30-е сут	8,9 ± 1,0	140 ± 16	7,4 ± 1,0	2,1 ±0,4	1,8 ±0,2	5,9 ± 0,7	4,7 ±0,6

Таблица 4. Изменение клеточного состава периферической крови и митотической активности клеток костного мозга крыс, облученных рентгеновскими лучами в дозе 7 Гр а также облученных после действия препарата ВС-1.

Условия опыта. Время после облучения, сутки	Эритроциты, 10^{12} /л	Гемоглобин, г/л	Лейкоциты, 10^9 /л	Нейтрофилы, 10^9 /л	Моноциты, 10^9 /л	Лимфоциты, 10^9 /л	Митотический индекс, %
Контроль	8,4 ± 0,5	139 ± 12	14,5 ± 1,8	3,7 ± 0,5	5,1 ± 0,4	11,3 ± 1,7	6,3 ± 0,7
Облученные 7 Гр:							
1 -е сут	10,6 ± 1,7	185 ± 16	1,7 ± 0,2	0,7 ± 0,1	1,0 ± 0,2	4,7 ± 0,6	1,4 ± 0,2
4-е сут	7,8 ± 0,9	127 ± 14	1,9 ± 0,3	0,9 ± 0,1	1,1 ± 0,2	5,1 ± 0,7	1,8 ± 0,3
8-е сут	6,2 ± 0,7	86 ± 13	2,0 ± 0,3	1,2 ± 0,2	1,3 ± 0,3	4,9 ± 0,7	2,5 ± 0,3
16-е сут	7,3 ± 0,9	113 ± 15	2,5 ± 0,4	1,5 ± 0,3	1,2 ± 0,3	5,2 ± 0,8	2,9 ± 0,4
30-е сут	7,8 ± 1,1	125 ± 12	4,2 ± 0,6	1,3 ± 0,3	1,6 ± 0,2	5,8 ± 0,9	3,0 ± 0,5
Облученные 7 Гр + ВС-1:							
1 -е сут	10,7 ± 1,4	188 ± 21	1,6 ± 0,3	0,8 ± 0,1	0,9 ± 0,2	4,6 ± 0,7	1,2 ± 0,1
4-е сут	7,6 ± 0,9	129 ± 15	2,1 ± 0,4	0,9 ± 0,2	1,2 ± 0,3	4,9 ± 0,5	1,9 ± 0,3
8-е сут	6,3 ± 0,7	87 ± 11	2,3 ± 0,3	1,3 ± 0,2	1,0 ± 0,2	5,2 ± 0,7	2,7 ± 0,5
16-е сут	7,2 ± 0,8	116 ± 15	2,8 ± 0,5	1,4 ± 0,3	1,5 ± 0,3	5,1 ± 0,6	3,1 ± 0,6
30-е сут	7,9 ± 0,6	122 ± 11	4,2 ± 0,4	1,6 ± 0,4	1,7 ± 0,3	5,7 ± 0,8	2,8 ± 0,4

Выводы:

1. Препарат ВС-1 проявляет радиопротекторные свойства по показателям клеточного состава периферической крови и митотической активности клеток костного мозга облученных животных в диапазоне величин поглощенных доз радиации до 5 Гр.
2. Облучение животных в дозе 6 Гр (ЛД 50/30) на фоне действия препарата ВС-1 приводит только к тенденции к нормализации изученных показателей, которая в то же время является несущественной, что указывает на отсутствие достаточно приемлемой радиопротекторной эффективности.
3. При дозе облучения 7 Гр (ЛД 80/30) препарат ВС-1 является неэффективным.
4. Динамика и характер восстановления кроветворения (по изученным показателям) в ранние критические для организма пострadiационные сроки указывает на перспективное использование препарата ВС-1 в качестве радиопротектора в диапазоне доз радиации до ЛД 50/30.

Литература.

1. Чеботарев Е.Е., Рябова Э.З., Керова Н.И., Киричинский Б.Р., Серкиз Я.И. и др. *Нейтроны и организм.* - Киев: Наукова думка, 1982. - 204 с.
2. *Руководство по радиационной гематологии: Перев. с англ.* - М.: Медицина, 1974.-328с.
3. Серкиз Я.И., Пинчук В.Г., Пинчук Л.Б. и др. *Радиобиологические аспекты аварии на Чернобыльской АЭС.* -Киев: Наукова думка. - 1992. -170с.
4. Чеботарев Е.Е. *Экспериментальные исследования комплексных методов лечения острой лучевой болезни. Дис. докт. мед. наук.* -1965. - 405с.

Ответственный исполнитель:

Ведущий научный сотрудник
лаборатории радиационной биохимии
Института экспериментальной радиологии
НЦРМ АМН Украины,
докт.биол.наук, профессор

Я.И.Серкиз

Зав.лабораторией
радиационной цитологии
Института экспериментальной радиологии
НЦРМ АМН Украины
докт.биол.наук

17.2.2005 Я.И.Серкиз

Академія медичних наук України
Науковий центр радіаційної медицини
Підпис засвідчую, вчений секретар *С.Т.Таложина*
«05» грудня 2005 р.



С.Т.Таложина