



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 содержания 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. *Нейтронны 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



С.Т.Таложиня