

МОДИФИКАЦИЯ РАДИАЦИОННЫХ ЭФФЕКТОВ

УДК 616-03:615:599.323.4:57.084.1:661.97:539.1.047

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ Б-190 И АЦИЗОЛА У БЕЛЫХ БЕСПОРОДНЫХ МЫШЕЙ ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ И МОНООКСИДА УГЛЕРОДА

© 2020 г. А. В. Завирский^{1,*}, В. А. Башарин¹, В. В. Зацепин¹, П. Г. Толкач¹

¹ Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: zyvaver@mail.ru

Поступила в редакцию 24.06.2019 г.

После доработки 03.12.2019 г.

Принята к публикации 12.02.2020 г.

Представлены данные экспериментального исследования о влиянии воздействия монооксида углерода и рентгеновского излучения на выживаемость и среднюю продолжительность жизни белых мышей-самцов. Мышей подвергали воздействию облучения в диапазоне доз LD_{30–90/30}, затем подвергали статическому ингаляционному воздействию монооксида углерода. Внешнее однократное облучение проводили на рентгенотерапевтической установке РУМ-17 при мощности дозы 0.32 Гр/мин. Дозы облучения составляли 6.5, 7.5 и 8.0 Гр. Статическую ингаляционную интоксикацию монооксидом углерода осуществляли при концентрациях токсиканта 2100 ppm (0.45 LC₅₀) и 3800 ppm (0.8 LC₅₀), время экспозиции – 30 мин. Установлено, что предварительное рентгеновское облучение в диапазоне доз LD_{30–90/30} повышает чувствительность белых мышей к последующему воздействию монооксида углерода. Комбинированное воздействие ионизирующего излучения и монооксида углерода приводило к снижению выживаемости и уменьшению средней продолжительности жизни погибших животных в сравнении с изолированным воздействием данных факторов. Исследована эффективность ацизола и радиопротектора Б-190 при комбинированном радиационно-химическом поражении. Применение радиопротектора с гипоксическим механизмом действия перед комбинированным поражением в результате воздействия рентгеновского излучения и монооксида углерода утяжеляет его течение по показателям 30-суточной выживаемости, гематологическим показателям. Совместное профилактическое применение ацизола и Б-190 перед комбинированным радиационно-химическим поражением повышало 30-суточную выживаемость белых мышей, улучшало гематологические показатели периферической крови.

Ключевые слова: рентгеновское излучение, облучение, монооксид углерода, ацизол, Б-190, выживаемость, средняя продолжительность жизни

DOI: 10.31857/S0869803120040153

При ядерных и радиационных инцидентах количество изолированных лучевых поражений, по различным оценкам, будет составлять порядка 20–30% от общего количества санитарных потерь [1, 2]. Прогнозируется, что намного чаще (до 70%) в структуре санитарных потерь будут наблюдаться комбинированные радиационные поражения (КРП) с термическим, механическим и химическим поражающими факторами [3].

Ядерные и радиационные аварии могут сопровождаться возникновением очагов пожаров, в которых санитарные потери будут формироваться в том числе в результате токсического действия монооксида углерода (угарный газ, СО) [4]. В ранее проведенных исследованиях было показано, что воздействие монооксида углерода на организм

перед облучением оказывает радиопротекторный эффект [5]. Вместе с тем недостаточно изучен вопрос о влиянии монооксида углерода на течение патологического процесса в результате острого внешнего облучения организма. Также известно, что хроническое рентгеновское облучение повышало чувствительность животных к воздействию монооксида углерода, однако течение и исход комбинированного радиационно-химического поражения в результате воздействия данных факторов на организм практически не изучены [5].

В системе медицинской противорадиационной защиты одним из мероприятий является профилактическое применение радиопротекторов как препаратов, кратковременно повышающих устойчивость организма к действию ионизиру-

щих излучений. В качестве профилактического антидота для предупреждения поражений монооксидом углерода применяется препарат ацизол, также возможно его применение в лечебных целях как дополняющего оксигенотерапию. Механизм действия ацизола состоит в его влиянии на взаимодействие субъединиц гемоглобина, он уменьшает относительное сродство гемоглобина к монооксиду углерода. Ацизол снижает взаимодействие субъединиц гемоглобина, что выражается в уменьшении константы Хилла, а клинически – в снятии эффекта Холдейна [6].

Таким образом, целью настоящего исследования была оценка эффективности профилактического применения Б-190 и ацизола при комбинированном воздействии рентгеновского излучения и монооксида углерода на белых мышей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Эксперименты проводили на белых беспородных мышках-самцах массой 18–22 г, $n = 335$, разведения питомника РАН “Рапполово”. При проведении исследования выполняли требования нормативно-правовых актов о порядке экспериментальной работы с использованием животных [7].

Рентгеновское облучение животных осуществляли на установке РУМ-17 (Мосрентген, СССР) при следующих условиях: напряжение 180 кВ, сила тока 10 мА, фильтр 0.5 мм Cu + 1.0 мм Al, кожно-фокусное расстояние 50 см, мощность дозы 0.374 Гр/мин, облучение одностороннее, направление облучения: спина–грудь. Дозиметрический контроль проводили с помощью индивидуального дозиметра “ИД-11” (Электрон, СССР) с оценкой показаний прибора на аппарате “ГО-32” (Электрон, СССР).

Монооксид углерода получали химическим путем в аппарате Киппа. Статическое ингаляционное воздействие СО на лабораторных животных осуществляли в герметичной камере объемом 0.1 м³ в течение 30 мин [8]. Концентрацию карбоксигемоглобина определяли спектрофотометрическим методом. [8]. Концентрацию монооксида углерода и кислорода контролировали с помощью газоанализатора ДАХ-М-03 (Аналит-Прибор, Россия).

В отдельной серии экспериментов методом пробит-анализа по Финни определяли среднелетальную концентрацию (LC₅₀) монооксида углерода по критерию суточной выживаемости.

Эксперимент проводили в два этапа. На первом этапе оценивали влияние монооксида углерода на выживаемость и среднюю продолжительность жизни (СПЖ) мышей, облученных в диапазоне доз LD_{30–90/30}.

Для моделирования комбинированного радиационно-химического поражения облучение животных осуществляли в дозах 6.5; 7.5 и 8.0 Гр. Затем, непосредственно после облучения, животных подвергали ингаляционному воздействию монооксида углерода в течение 30 мин при концентрации 3800 ppm (0.8 LC₅₀). Контрольная группа подвергалась интоксикации при таких же условиях без облучения. Наблюдение за животными осуществляли в течение 30 сут.

В ходе проведения первого этапа эксперимента мыши ($n = 200$) были разделены на следующие группы: 1 – интактные, 2 – контроль – интоксикация монооксидом углерода без облучения, 3–5 – облучение без интоксикации, 6–8 – облучение с последующей интоксикацией монооксидом углерода.

На втором этапе эксперимента оценивали влияние радиопротектора Б-190 и ацизола на выживаемость, СПЖ и гематологические (динамика лейкоцитов, нейтрофильных гранулоцитов и лимфоцитов) показатели облученных животных, подвергнутых воздействию монооксида углерода. Б-190 вводили внутривенно в виде 2.5% взвеси в 0.5%-ном геле картофельного крахмала в дозе 200 мг/кг за 15 мин до радиационного воздействия. По данным М.В. Васина (2006), данная доза (4 мг/особь) для белых беспородных мышечесамцов при внутривенном введении является близкой к эффективной при облучении в дозах СД_{95/30} [9]. Ацизол вводили непосредственно перед облучением внутривенно в дозе 30 мг/кг, что соответствует эффективной дозе для мышей [10]. Облучение животных осуществляли в дозе 6.5 Гр. Ингаляционное воздействие монооксидом углерода осуществляли в течение 30 мин при концентрации токсиканта 2100 ppm. Лабораторные животные ($n = 135$) были разделены на девять групп: 1 – интактные; 2 – интоксикация без облучения; 3 – облучение; 4 – облучение с радиопротектором Б-190; 5 – ацизол и облучение; 6 – облучение и интоксикация; 7 – ацизол, облучение и интоксикация; 8 – облучение с радиопротектором Б-190 и интоксикация; 9 – ацизол, Б-190, облучение и интоксикация.

Наблюдение за животными осуществляли в течение 30 сут. Забор крови проводили на 1-е, 3-е, 7-е, 10-е, 15-е и 27-е сутки после облучения. Кровь отбирали из ретроульбарного синуса микропипеткой в объеме 20 мкл. Подсчет лейкоцитов осуществляли в камере Горяева, для исследования лейкоцитарной формулы применяли способ быстрой окраски мазков крови красной Романовского по Н.Г. Алексееву. Абсолютное значение лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов выражали как число клеток, содержащихся в 1 л периферической крови.

Таблица 1. Влияние монооксида углерода на 30-суточную выживаемость и среднюю продолжительность жизни белых беспородных мышей-самцов, облученных в дозах 6.5, 7.5, 8.0 Гр
Table 1. The effect of carbon monoxide on 30-day survival and average lifespan of white outbred male mice irradiated in doses of 6.5, 7.5, 8.0 Gy

Группа	Доза облучения, Гр					
	6.5		7.0		8.0	
	выживаемость, %	СПЖ, сут	выживаемость, %	СПЖ, сут	выживаемость, %	СПЖ, сут
Интактные	Гибели животных не отмечалось					
Интоксикация СО	Гибели животных не отмечалось					
Облучение	56 ± 18	12.5 ± 3.7	44 ± 18	11.3 ± 3.3	0	10.5 ± 1.2
Облучение + интоксикация СО	11 ± 11	8.6 ± 4.2	0*	6.5 ± 2*	0	3.5 ± 1.3*

* Различия значимы по сравнению с облученной контрольной группой, $p < 0.05$ (точный критерий Фишера).

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica (10.0). Достоверность различий средних значений показателей выживаемости погибших животных оценивали с использованием точного метода Фишера. Для сравнения гематологических показателей нескольких независимых групп и определения значимости межгрупповых различий в исследуемых показателях использовали критерий Краскела–Уоллиса. Парное мно-

жественное сравнение проводили с использованием критерия Ньюмена–Кейлса. Данные в таблицах представлены в виде $M \pm m$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Интоксикация СО в концентрации 3800 ppm (0.8 LC₅₀) после воздействия рентгеновского излучения приводила к резкому снижению выживаемости лабораторных животных, причем 50–67% летальных исходов отмечали в ингаляционной камере. Данные о влиянии монооксида углерода при комбинированном радиационно-химическом воздействии на показатели 30-суточной выживаемости и СПЖ погибших животных представлены в табл. 1.

В контрольной группе (интоксикация монооксидом углерода без облучения) выживаемость составила 100%. Учитывая высокую летальность животных во время ингаляционного воздействия при использовании СО в концентрации 0.8 LC₅₀, представлялось невозможным адекватно оценить 30-суточную выживаемость и другие показатели.

В ходе второго этапа эксперимента животных подвергали воздействию монооксида углерода в концентрации 2100 ppm (0.45 LC₅₀) с целью снижения летальности в ингаляционной камере. Гибель мышей наблюдали в сроки, типичные для костномозгового синдрома острой лучевой болезни. Летальных исходов непосредственно при ингаляционном воздействии СО не было.

Показатели 30-суточной выживаемости и СПЖ животных отражены в табл. 2. Комбинированное воздействие СО и рентгеновского излучения приводило к гибели всех животных в группе. Применение Б-190 перед КРХП не приводило к увеличению выживаемости, в группе также отмечали гибель всех мышей. При совместном применении Б-190 и ацизола выживаемость была выше ($p < 0.05$) по сравнению с группой мышей с ком-

Таблица 2. Влияние профилактического применения Б-190 и ацизола на 30-суточную выживаемость и среднюю продолжительность жизни белых беспородных мышей-самцов, подвергнутых рентгеновскому облучению в дозе 6.5 Гр и воздействию монооксида углерода в концентрации 2100 ppm

Table 2. The effect of the prophylactic use of B-190 and acyazole on the 30-day survival rate and average lifespan of white outbred male mice subjected to X-ray radiation at a dose of 6.5 Gy and exposure to carbon monoxide at a concentration of 2100 ppm

Группа	Выживаемость, %	СПЖ, сут
Интактные	100	—
Интоксикация СО	100	—
Облучение	20 ± 13	8.5 ± 0.85
Б-190 + облучение	50 ± 17	10 ± 0.31
Ацизол + облучение	18 ± 12	7 ± 0.41
Облучение + СО	0	8 ± 0.61
Б-190 + облучение + СО	0	6.5 ± 0.63
Ацизол + облучение + СО	17 ± 11	8 ± 0.43
Б-190 + ацизол + облучение + СО	45 ± 16*#	9 ± 0.81

* Различия значимы по сравнению с группой “Облучение + СО”, $p < 0.05$ (точный критерий Фишера).

Различия значимы по сравнению с группой “Б-190 + облучение + СО”, $p < 0.05$ (точный критерий Фишера).

Таблица 3. Влияние профилактического применения Б-190 и ацизола на динамику лейкоцитов в периферической крови белых беспородных мышей, подвергнутых рентгеновскому облучению в дозе 6.5 Гр и воздействию монооксида углерода в концентрации 2100 ppm, лейкоциты $\times 10^9/л$

Table 3. The effect of the prophylactic use of B-190 and acyzoле on the dynamics of leukocytes in the peripheral blood of white outbred mice subjected to X-ray irradiation at a dose of 6.5 Gy and exposure to carbon monoxide at a concentration of 2100 ppm, leukocytes $\times 10^9/l$

Группа	Исходное количество	Сроки после облучения, сут					
		1	3	7	10	15	27
Интактные	8.8 ± 0.3	8.8 ± 0.3	8.8 ± 0.3	7.9 ± 0.2	8.9 ± 0.4	8.7 ± 0.3	9.0 ± 0.4
Облучение	8.9 ± 0.4	4.4 ± 0.3	1.6 ± 0.3	1.2 ± 0.1	1.5 ± 0.1*	3.3 ± 0.2	8.3 ± 0.4
Б-190+ облучение	8.7 ± 0.4	3.1 ± 0.2	4.4 ± 0.3	2.5 ± 0.2	2.0 ± 0.1	3.6 ± 0.2	9.4 ± 0.4
Ацизол + облучение	8.6 ± 0.3	3.3 ± 0.1	2.0 ± 0.07	1.5 ± 0.1	1.9 ± 0.1	3.0 ± 0.2	9.0 ± 0.1
Облучение + СО	8.4 ± 0.3	2.8 ± 0.1	1.5 ± 0.09	1.7 ± 0.1	1.2 ± 0.06		
Б190 + облучение + СО	7.9 ± 0.3	3.5 ± 0.3	3.8 ± 0.6	1.2 ± 0.1	0.8 ± 0.05		
Ацизол + облучение + СО	8.5 ± 0.3	2.7 ± 0.1	1.2 ± 0.2	1.1 ± 0.07	1.7 ± 0.07*#	3.5 ± 0.2	7.0 ± 0.5
Б-190+ ацизол+ облучение + СО	8.3 ± 0.3	3.1 ± 0.3	2.1 ± 0.3	1.4 ± 0.06	1.7 ± 0.09*#	4.2 ± 0.2	7.8 ± 0.6

* Различия значимы по сравнению с группой “Облучение + СО”, $p < 0.05$ (критерий Ньюмена–Кейлса).

Различия значимы по сравнению с группой “Б-190 + облучение + СО”, $p < 0.05$ (критерий Ньюмена–Кейлса).

Таблица 4. Влияние профилактического применения Б-190 и ацизола на динамику лимфоцитов в периферической крови белых беспородных мышей, подвергнутых рентгеновскому облучению в дозе 6.5 Гр и воздействию монооксида углерода в концентрации 2100 ppm, лимфоциты $\times 10^9/л$

Table 4. The effect of the prophylactic use of B-190 and acyzoле on the dynamics of lymphocytes in the peripheral blood of white outbred mice subjected to X-ray irradiation at a dose of 6.5 Gy and exposure to carbon monoxide at a concentration of 2100 ppm, lymphocytes $\times 10^9/l$

Группа	Исходное количество	Сроки после облучения, сут					
		1	3	7	10	15	27
Интактные	7.23 ± 0.3	7.13 ± 0.3	7.13 ± 0.3	7.43 ± 0.2	7.63 ± 0.2	7.53 ± 0.2	7.53 ± 0.3
Облучение	7.13 ± 0.3	1.33 ± 0.4	0.83 ± 0.01	0.73 ± 0.05	1.03 ± 0.1	1.33 ± 0.1	3.53 ± 0.2
Б-190+ облучение	7.23 ± 0.3	0.63 ± 0.1	3.3 ± 0.2	1.93 ± 0.1	1.43 ± 0.06	1.43 ± 0.1	2.33 ± 0.2
Ацизол + облучение	7.53 ± 0.2	0.73 ± 0.1	1.13 ± 0.1	1.63 ± 0.4	1.23 ± 0.1	1.33 ± 0.1	2.73 ± 0.1
Облучение + СО	7.53 ± 0.3	1.7 ± 0.1	1.03 ± 0.1	1.53 ± 0.1	0.93 ± 0.2		
Б-190 + облучение + СО	7.23 ± 0.3	2.33 ± 0.7	2.73 ± 0.1*	1.23 ± 0.1	0.73 ± 0.2		
Ацизол + облучение + СО	7.53 ± 0.3	1.03 ± 0.04*	1.53 ± 0.1	1.03 ± 0.04	1.53 ± 0.1*#	2.03 ± 0.9	2.43 ± 0.3
Б-190 + ацизол + облучение + СО	7.53 ± 0.3	1.53 ± 0.2	1.63 ± 0.2	1.13 ± 0.1*	1.23 ± 0.1*#	2.33 ± 0.2	3.13 ± 0.2

* Различия значимы по сравнению с группой “Облучение + СО”, $p < 0.05$ (критерий Ньюмена–Кейлса).

Различия значимы по сравнению с группой “Б-190 + облучение + СО”, $p < 0.05$ (критерий Ньюмена–Кейлса).

^ Различия значимы по сравнению с группой “Ацизол + облучение + СО”, $p < 0.05$ (критерий Ньюмена–Кейлса).

бинированным радиационно-химическим воздействием как без лечения, так и на фоне применения Б-190. При применении только ацизола перед воздействием рентгеновского излучения и СО показатели выживаемости были сравнимы с облученным контролем.

В результате исследования гематологических показателей установлено, что изменение общего количества лейкоцитов у животных контрольных

групп было характерным для течения костномозгового синдрома острой лучевой болезни.

При исследовании динамики общего количества лейкоцитов значимые различия между группами были выявлены на 10-е сутки после воздействия (табл. 3). При интоксикации СО после облучения к 10-м суткам не наблюдали их устойчивого роста, количество лейкоцитов было на 20% меньше, чем у животных только облученной

Таблица 5. Влияние профилактического применения Б-190 и ацизола на динамику нейтрофилов в периферической крови белых беспородных мышей, подвергнутых рентгеновскому облучению в дозе 6.5 Гр и воздействию монооксида углерода в концентрации 2100 ppm, нейтрофилы $\times 10^9/\text{л}$

Table 5. The effect of the prophylactic use of B-190 and acyazole on the dynamics of neutrophils in the peripheral blood of white outbred mice subjected to X-ray irradiation at a dose of 6.5 Gy and exposure to carbon monoxide at a concentration of 2100 ppm, neutrophils $\times 10^9/\text{l}$

Группа	Исходное количество	Сроки после облучения, сут					
		1	3	7	10	15	27
Интактные	1.6 ± 0.3	1.5 ± 0.2	1.6 ± 0.3	1.7 ± 0.2	1.9 ± 0.3	1.9 ± 0.2	1.6 ± 0.2
Облучение	1.6 ± 0.3	2.2 ± 0.4*	0.7 ± 0.1	0.54 ± 0.1*	0.51 ± 0.07*	1.9 ± 0.1	4.8 ± 0.5
Б-190+ облучение	1.7 ± 0.2	1.7 ± 0.2	1.0 ± 0.2	0.7 ± 0.1	0.5 ± 0.04	2.5 ± 0.2	6.9 ± 0.3
Ацизол + облучение	1.5 ± 0.2	2.7 ± 0.07	0.5 ± 0.02	0.2 ± 0.05	0.1 ± 0.03	1.7 ± 0.1	6.3 ± 0.2
Облучение + СО	1.9 ± 0.2	1.5 ± 0.4	0.5 ± 0.09	0.1 ± 0.01	0.3 ± 0.06		
Б190 + облучение + СО	1.6 ± 0.3	2.0 ± 0.7	0.8 ± 0.07	0.09 ± 0.01*	0.04 ± 0.001*		
Ацизол + облучение + СО	1.7 ± 0.2	1.2 ± 0.3	0.3 ± 0.02	0.2 ± 0.03*	0.3 ± 0.02	1.3 ± 0.06	5.2 ± 0.3
Б-190+ ацизол+ облучение + СО	1.9 ± 0.2	2.0 ± 0.2^	0.3 ± 0.09	0.3 ± 0.1**	0.5 ± 0.03**^	2.0 ± 1.7^	4.7 ± 0.4

* Различия значимы по сравнению с группой “Облучение + СО”, $p < 0.05$ (критерий Ньюмена–Кейлса).

Различия значимы по сравнению с группой “Б-190+облучение + СО”, $p < 0.05$ (критерий Ньюмена–Кейлса).

^ Различия значимы по сравнению с группой “Ацизол + облучение + СО”, $p < 0.05$ (критерий Ньюмена–Кейлса).

группы. Применение Б-190 на фоне комбинированного радиационно-химического воздействия не оказывало защитного эффекта. Количество лейкоцитов у мышей в группе “Б-190 + облучение + СО” на 10-е сут наблюдения было самым низким из всех групп животных и значимо ниже, чем у животных с монотерапией ацизолом и мышами, которым ацизол вводился вместе с Б-190.

Совместное применение Б-190 и ацизола характеризовалось статистически значимым увеличением общего количества лейкоцитов на 10-е сутки после воздействия относительно животных как с комбинированным поражением без фармакологической коррекции, так и по сравнению с монотерапией Б-190.

По критерию количества лимфоцитов также отмечалась защитная активность комбинации Б-190 + ацизол (табл. 4). Так, на 10-е сутки после комбинированного воздействия их уровень был выше ($p < 0.05$), чем у животных в группах “Облучение + СО” и “Б-190 + облучение + СО”. Использование только Б-190 приводило к уменьшению ($p < 0.05$) количества лимфоцитов относительно групп “Б-190 + ацизол + облучение + СО” и “Ацизол + облучение + СО”.

При исследовании динамики нейтрофильных гранулоцитов было выявлено более выраженное снижение их количества в группах “Облучение + СО” и “Б-190 + облучение + СО” (табл. 5). У животных группы “Облучение + СО” количество нейтрофилов было значимо ниже, чем у только облученных животных в течение всего периода наблюдения. Применение препарата Б-190 перед комбинированным радиационно-химиче-

ским поражением приводило к уменьшению количества нейтрофильных гранулоцитов относительно всех групп. На 7-е и 10-е сутки наблюдения количество нейтрофилов в группе “Б-190 + облучение + СО” было ниже ($p < 0.05$) по сравнению с животными с комбинированным радиационно-химическим поражением без фармакоррекции. При совместном применении Б-190 и ацизола отмечали статистически значимо больший уровень нейтрофилов на 7-е и 10-е сутки по сравнению с мышами группы “Б-190 + облучение + СО”.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют о негативном влиянии монооксида углерода на показатели выживаемости и СПЖ при его действии непосредственно после облучения в широком диапазоне доз. Одним из возможных механизмов повышения летальности лабораторных животных при воздействии рентгеновского излучения и монооксида углерода, по-видимому, может быть взаимное влияние процессов, происходящих в клетках и тканях непосредственно после облучения, и гипоксии, вызванной монооксидом углерода. Одним из первых процессов лучевого поражения является дефицит макроэргических соединений [11, 12]. Данные процессы могут происходить за счет угнетения процессов окислительного фосфорилирования, повышенного расходования АТФ на репарационные процессы лучевых повреждений, повышения активности АТФ-аз, что приводит к энергетическому дефи-

циту тканей [11, 12]. Последующая интоксикация монооксидом углерода, основным следствием которой является гипоксия за счет образования карбоксигемоглобина и блокады дыхательной цепи митохондрий, усиливает вышеописанные процессы и приводит к повышению смертности животных в первые сутки после облучения.

При меньших концентрациях, вызывающих интоксикацию средней степени тяжести, сроки гибели животных смещаются к более типичным для костномозгового синдрома острой лучевой болезни. Применительно к стадиям течения комбинированных радиационных поражений – в период преобладания лучевого компонента [13].

Основная причина гибели мышей в данном случае обусловлена проявлениями панцитопенического синдрома, связанного с угнетением костномозгового кроветворения. Более выраженное угнетение гранулоцитарного и лимфоцитарного ростков у животных, которых подвергали интоксикации после облучения, может быть связано с неполной репарацией ДНК, обусловленной энергодефицитом в первые часы после облучения, усиленным острой гипоксией в результате действия монооксида углерода. В связи с тем, что репарация ДНК – достаточно энергозатратный процесс, требующий АТФ не только как энергетический субстрат, но и донор фосфатного остатка для фосфорилирования протеинкиназ и гистона H2AX, в условиях гипоксии нарушаются практически все пути репарации ДНК. В дальнейшем это приводит к увеличению количества остаточных повреждений ДНК [14]. Кроме того, в условиях гипоксии происходит ингибирование рибонуклеотидредуктазы, приводящее к угнетению синтеза ДНК во время S-фазы митоза [15]. Данный процесс может затруднять репарацию ДНК по типу гомологичной рекомбинации [16]. Вместе с тем вклад гомологичной рекомбинации в восстановление ДНК при облучении в средних и больших дозах составляет порядка 20%, основной путь репарации двухнитевых разрывов в данных условиях – негомологичное соединение концов (НГСК) [16, 17]. Репарация по пути НГСК неизбежно ведет к образованию вставок и делеций. Кроме того, помимо ошибочно репарированных двухнитевых разрывов ДНК нельзя исключить влияние шивок ДНК–белок. Белки в данном случае ковалентно связаны с ДНК, являясь препятствием не только для репликации и транскрипции, но и нарушая связывание белков распознавания повреждений, участвующих в эксцизионной репарации нуклеотидов [18].

Это подтверждается более значительным снижением гранулоцитов и лимфоцитов у мышей, получавших радиопротектор перед комбинированным радиационно-химическим воздействием. Б-190 в данных условиях приводит к утяжеле-

нию повреждения костного мозга за счет компонента циркуляторной гипоксии в дополнение к гемической и увеличению потребления кислорода клетками костного мозга в гипоксических условиях [19]. Ацизол снижает степень гемической гипоксии в результате действия СО, уменьшая энергодефицит тканей и облегчая постлучевую репарацию ДНК [10, 20]. Совместное использование данных препаратов приводит к снижению тяжести КРХП в результате воздействия рентгеновского излучения и монооксида углерода.

При использовании только ацизола перед облучением и интоксикацией значимых различий в показателях выживаемости и СПЖ не отмечено, динамика изменения количества клеток крови практически не отличалась от только облученных животных. Отсутствие радиосенсибилизирующего эффекта ацизола при применении его до воздействия ионизирующего излучения может быть объяснено тем, что при обычном атмосферном давлении относительное напряжение кислорода в тканях близко к 100%, и усиление радиационного поражения возможно только в гипербарических условиях [21]. Ацизол не увеличивает оксигенацию радиочувствительных тканей при циркуляторной гипоксии и не нивелирует радиозащитный эффект Б-190, что подтверждается сравнимыми показателями выживаемости и СПЖ в группах “Б-190 + облучение” и “Б-190 + ацизол + облучение + СО”.

ВЫВОДЫ

1. В результате эксперимента установлено, что воздействие монооксида углерода непосредственно после рентгеновского облучения в дозах LD_{30-90/30} значительно снижает выживаемость и среднюю продолжительность жизни лабораторных животных.
2. Профилактическое применение Б-190 перед комбинированным радиационно-химическим поражением в результате действия рентгеновского излучения и монооксида углерода не оказывает защитного действия.
3. Профилактическое применение Б-190 и ацизола перед комбинированным воздействием рентгеновского излучения и монооксида углерода снижает тяжесть поражения (по показателям выживаемости, темпам восстановления лейкоцитов).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. DiCarlo A.L., Hatchett R.J., Kaminski J.M., Ledney G.D. Medical countermeasures for radiation combined injury: radiation with burn, blast, trauma and/or sepsis // Radiat. Res. 2008. V. 169. № 6. P. 712–721.
2. DiCarlo A.L., Maher C., Hick J.L., Hanfling D. Radiation injury after a nuclear detonation: medical consequences and the need for scarce resources allocation //

- Disaster medicine and public health preparedness. 2011. V. 5. № S1. P. 32–44.
3. *Pellmar T.C., Ledney G.D.* Combined injury: radiation in combination with trauma, infectious disease, or chemical exposures. Armed Forces Radiobiology Research Inst. Bethesda MD, 2005.
 4. *Гуськова А.К., Краснюк В.И., Галстян И.А., Надежина Н.М.* 30 лет аварии на Чернобыльской АЭС: опыт ликвидации медицинских последствий // Мед. радиология и радиац. безопасность. 2016. Т. 61. № 3. С. 30–35. [*Gus'kova A.K., Krasnyuk V.I., Galstyan I.A., Nadezhina N.M.* 30 let avarii na Chernobyl'skoj AES: opyt likvidacii medicinskih posledstvij // Med. radiologiya i radiac. bezopasnost'. 2016. V. 61. № 3. P. 30–35. (In Russian)]
 5. *Кустов В.В., Тиунов Л.А., Васильев Г.А.* Комбинированное действие промышленных ядов. М.: Медицина, 1975. 256 с. [*Kustov V.V., Tiunov L.A., Vasil'ev G.A.* Kombinirovannoe dejstvie promyshlennyh yadov. M.: Medicina, 1975. 256 p. (In Russian)]
 6. *Шахмарданова С.А., Шахмарданов А.З.* Антигипоксическая активность металлокомплексов цинка, кобальта и железа и их влияние на поведение животных // Вестн. Воронежского гос. ун-та. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2014. № 4. С. 144–148. [*Shahmardanova S.A., Shahmardanov A.Z.* Antigipoksicheskaya aktivnost' metallokompleksov cinka, kobal'ta i zheleza i ih vliyanie na povedenie zhyvotnyh // Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Himiya. Biologiya. Farmaciya. 2014. № 4. P. 144–148. (In Russian)]
 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 переводом и изданию тематической литературы, 2012. 48 с. [Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes. (In Russian)]
 8. *Каркищенко Н.Н., Каркищенко В.Н., Шустов Е.Б., Капанадзе Г.Д.* Биомедицинское (доклиническое) изучение антигипоксической активности лекарственных средств // Метод. рек. ФМБА России МР.21.33-2017. М., 2017. [*Karkishchenko N.N., Karkishchenko V.N., SHustov E.B., Kapnadze G.D.* Biomedicinskoe (doklinicheskoe) izuchenie antigipoksicheskoy aktivnosti lekarstvennyh sredstv // Metod. Rek. FMBA Rossii MR.21.33-2017. M., 2017. (In Russian)]
 9. *Васин М.В.* Средства профилактики и лечения лучевых поражений. М.: ВЦМК “Защита”, 2006. 340 с. [*Vasin M.V.* Sredstva profilaktiki i lecheniya luchevykh porazhenij. M.: VCMK “Zashchita”, 2006. 340 p. (In Russian)]
 10. *Стратиенко Е.Н., Катунина Н.П., Петухова Н.Ф., Ромащенко С.В.* Изучение антигипоксической активности новых соединений производных винилимидазола // Кубанский науч. мед. вестн. 2009. № 8. С. 79–80. [*Stratienko E.N., Katunina N.P., Petuhova N.F., Romashchenko S.V.* Izuchenie antigipoksicheskoy aktivnosti novykh soedinenij proizvodnyh vinilimidazola // Kubanskiy nauchnyj medicinskiy vestnik. 2009. № 8. P. 79–80. (In Russian)]
 11. Радиационная медицина: Руководство для врачей-исследователей, организаторов здравоохранения и специалистов по радиационной безопасности. В 4 т. Т. 1. Теоретические основы радиационной медицины / Под общ. ред. Л.А. Ильина. М.: Изд. АТ, ГНЦ Институт биофизики, 2004. С. 206. [Radiacionnaya medicina: Rukovodstvo dlya vrachej-issledovatelej, organizatorov zdravooxraneniya i specialistov po radiacionnoj bezopasnosti. V 4 t. T. 1. Teoreticheskie osnovy radiacionnoj mediciny / Pod obshch. red. L.A. Il'ina. M.: Izd.AT, GNC Institut biofiziki, 2004. P. 206. (In Russian)]
 12. *Романцев Е.Ф., Блохина В.Д., Жуланова З.И., Кошеченко Н.Н.* Молекулярные механизмы лучевой болезни. М.: Медицина, 1984. 132 с. [*Romancev E.F., Blohina V.D., Zhulanova Z.I., Koshcheenko N.N.* Molekulyarnye mekhanizmy лучевой bolezni. M.: Medicina, 1984. 132 p. (In Russian)]
 13. *Легеца В.И., Гребенюк А.Н., Бояринцев В.В.* Комбинированные радиационные поражения и их компоненты. СПб.: ООО “Изд-во Фолиант”, 2015. 216 с. [*Legeza V.I., Grebenyuk A.N., Boyarincev V.V.* Kombinirovannye radiacionnye porazheniya i ih komponenty. SPb.: ООО “Izdatel'stvo Foliant”, 2015. 216 p. (In Russian)]
 14. *Bristow R.G., Hill R.P.* Hypoxia, DNA repair and genetic instability // Nat. Rev. Cancer. 2008. V. 8. № 3. P. 180–192.
 15. *Goto T., Homma H., Kaida A., Miura M.* WEE1 inhibition enhances sensitivity to hypoxia/reoxygenation in HeLa cells // J. Radiat. Res. 2019. V. 60. № 5. P. 714–718.
 16. *Грехова А.К., Пустовалова М.В., Еремин П.С., Озеров И.В.* Оценка вклада гомологической рекомбинации в репарацию двунитевых разрывов ДНК в фибробластах человека после воздействия рентгеновского излучения в малой и средних дозах // Радиационная биология. Радиоэкология. 2018. Т. 58. № 6. С. 589–596. [*Grekhova A.K., Pustovalova M.V., Eremin P.S., Ozerov I.V.* Ocenka vklada gomologicheskoy rekombinacii v reparaciyu dvunitevykh razryvov DNK v fibroblastah cheloveka posle vozdeystviya rentgenovskogo izlucheniya v maloj i srednih dozah // Radiac. biologiya. Radioekologiya. 2018. V. 58. № 6. S. 589–596. (In Russian)]
 17. *Ceccaldi R., Rondinelli B., D'Andrea A.D.* Repair pathway choices and consequences at the double-strand break // Trends Cell Biol. 2016. V. 26. № 1. P. 52–64.
 18. *Nakano T.* Radiation-induced DNA–protein cross-links: Mechanisms and biological significance // Free Radic. Biol. Med. 2017. V. 107. P. 136–145.
 19. *Васин М.В., Ушаков И.Б., Коровкина Э.П., Ковтун В.Ю.* Модификация потребления кислорода клетками костного мозга *in vitro* под влиянием $\alpha 1$ -адреномиметика индралина // Бюл. эксперим. биол. мед. 2013. Т. 155. № 3. С. 337–339. [*Vasin M.V., Ushakov I.B., Korovkina E.P., Kovtun V.Yu.* Modifikaciya potrebleniya kisloroda kletkami kostnogo mozga *in vitro* pod vliyaniem $\alpha 1$ -adrenomimetika indralina // Byulleten' eksperimental'noj biologii i mediciny. 2013. V. 155. № 3. P. 337–339. (In Russian)]
 20. *Бабаниязов Х.Х., Ильяшенко К.К., Леженина Н.Ф., Баринов В.А.* Средство для лечения отравлений и их осложнений: Патент на изобретения. 2008.

- № 2331417. [Babaniyazov H.H., P'yashenko K.K., Lezhenina N.F., Barinov V.A. Sredstvo dlya lecheniya otravlenij i ih oslozhenij // Patent na izobreteniya. 2008. № 2331417. (In Russian)]
21. Васин М.В., Ушаков И.Б., Королева Л.В., Антипов В.В. Потенцирующий эффект нормобарической гипероксии на противоположные свойства индралина, регистрируемые в кроветворной ткани // Радиационная биология. Радиоэкология. 2018. Т. 58. № 6. С. 619–623. [Vasin M.V., Ushakov I.B., Koroleva L.V., Antipov V.V. Potenciuyushchij effekt normobaricheskoy giperoksii na protivopozhnyye svoystva indralina, registriruemye v krovetrovnoy tkani // Radiac. biologiya. Radioekologiya. 2018. V. 58. № 6. P. 619–623. (In Russian)]

Estimation of Efficiency of Preventive Use of B-190 and Acysol in White Outbred Mice under the Combined Exposure of X-Ray Radiation and Carbon Monoxide

A. V. Zavirsky^{a,#}, V. A. Basharin^a, V. V. Zatsepin^a, and P. G. Tolkach^a

^a S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia

[#] E-mail: zyvaver@mail.ru

The article presents data from an experimental study on the effect of carbon monoxide and X-ray radiation on the survival and average lifespan of white male mice. The mice were irradiated in a dose range of LD_{30–90/30}, then subjected to static inhalation exposure to carbon monoxide. External single exposure was performed on an RUM-17 X-ray unit at a dose rate of 0.32 Gy/min. The radiation doses were 6.5, 7.5 and 8.0 Gy. Static inhalation intoxication with carbon monoxide was carried out at toxicant concentrations of 2100 ppm (0.45 LC₅₀) and 3800 ppm (0.8 LC₅₀), exposure time was 30 min. It was established that preliminary X-ray irradiation in the dose range LD_{30–90/30} increases the sensitivity of white mice to subsequent exposure to carbon monoxide. The combined effect of ionizing radiation and carbon monoxide led to a decrease in survival and a decrease in the average lifespan of animals in comparison with the isolated effect of these factors. The effectiveness of acyzole and radioprotector B-190 in combined radiation-chemical injury was studied. The use of a radioprotector with a hypoxic mechanism of action before a combined lesion as a result of exposure to X-ray radiation and carbon monoxide aggravates its course, in terms of 30-day survival, hematological parameters. The combined prophylactic use of acyzole and B-190 before combined radiation-chemical injury increased the 30-day survival rate of white mice, and improved the hematological parameters of peripheral blood.

Keywords: X-ray radiation, radiation, carbon monoxide, acyzol, B-190, survival, average lifespan