

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОЛУЧЕВЫХ СВОЙСТВ ГРАНУЛОЦИТАРНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА

Салухов В.В., Легеза В.И., Першко В.А.

Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова МО РФ

194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6

тел.: (812) -542-47-01 e-mail: kuperit@mail.ru

Резюме: Исследована противолучевая эффективность филграстима как средства ранней патогенетической терапии на животных различных видов, облученных в широком диапазоне доз. Установлено, что курсовое применение Г-КСФ при облучении в минимальной абсолютно летальной дозе экспериментальных животных существенно повышает их выживаемость, снижает выраженность миелодепрессии и ускоряет темпы восстановления числа лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов.

Ключевые слова: гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, цитокины, острая лучевая болезнь, терапия лучевых поражений

EXPERIMENTAL STUDYING RADIODEFENCE EFFICIENCY OF GRANULOCYTE- COLONY-STIMULATING FACTOR

Salukhov V.V., Legeza V.I., Pershko V.A.

194044, St. Petersburg, street Academic Lebedev, 6 Medical Military Academy named after S.M.

Kirov, tel: (812) -542-47-01, e-mail: kuperit@mail.ru

Summary: It is investigated antiradiat efficacy of filgrastim as means of early pathogenetic therapy for animals of the various kinds irradiated in a wide range of doses. It is positioned that course application G-CSF for the animals irradiated in minimum absolutely lethal dose essentially raises survival rate, reduces expressiveness mielodepressed and accelerates rates restoration of number of leucocytes, neutrophils and lymphocytes.

Keywords: granulocyte- colony-stimulating factor, cytokine, acute radiation syndrome, therapy of radiation injuries

Введение. Наиболее грозным осложнением острого радиационного воздействия на организм является поражение костномозгового кроветворения [1, 2]. По современным представлениям, наиболее патогенетически оправданным подходом к коррекции постлучевой миелодепрессии является гемостимулирующая терапия, которая позволяет предупредить или сократить критический период подавления миелопоэза [3, 4]. Данный вид терапии в настоящее время представлен препаратами, разнородными по структуре, точкам приложения и механизмам действия. Судя по данным литературы, наиболее эффективными из них являются гемопоэтические ростовые факторы, в частности, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ) [5, 6]. В настоящее время препараты этого ряда (филграстим, пегфилграстим, ленограстим и др) широко используются при лечении миелодепрессий химиолучевой этиологии у онкологических больных [7, 8]. Данные литературы о применении препаратов Г-КСФ при острых радиационных поражениях немногочисленны и не позволяют получить полного представления об их эффективности при данном виде патологии.

Недостаточная изученность этого вопроса и явилась предпосылкой для выполнения этой работы посвященной экспериментальному изучению противолучевых свойств гранулоцитарного колониестимулирующего фактора при острых радиационных поражениях на животных различных видов.

Цель исследования: Изучение эффективности препарата гранулоцитарного колониестимулирующего фактора филграстима в качестве средства ранней патогенетической терапии костномозгового синдрома лучевой этиологии.

Материалы и методы исследования. Эксперименты выполнены на 400 белых беспородных крысах-самцах массой тела 180 – 200 г, 400 белых беспородных мышках-самцах массой тела 18 – 20 г и 20 беспородных собаках массой 25 – 30 кг. Животных подвергали общему относительно равномерному гамма-облучению на установке ИГУР-1 при мощности дозы 1,02 Гр/мин.

Течение и исходы радиационного поражения оценивали по 30-ти сут выживаемости мелких лабораторных животных, 45-ти сут выживаемости крупных лабораторных животных и величине средней продолжительности жизни (СПЖ) животных. Лабораторные методы исследования выполнялись в соответствии со стандартными методиками и заключались в определении общего количества лейкоцитов, нейтрофилов, лимфоцитов у мелких лабораторных животных в периферической крови и дополнительно тромбоцитов и эритроцитов у собак; общего количества миело- и мегакариоцитов в костном мозге у крыс и собак; содержания КОЕ-с на 9 сут после облучения в селезенке по методу эндогенного колониобразования у мышей.

Препарат Г-КСФ филграстим (торговое наименование «Лейкостим», производство ЗАО «Биокад» Россия) крысам и мышам вводили подкожно в дозе 200 мкг/кг. Введение препарата начинали через 12 ч после облучения и продолжали на протяжении 7 сут с интервалом между инъекциями 12 ч. Собакам препарат вводили подкожно в дозе 10 мкг/кг/сут. Введение препарата начинали через 1 ч после облучения и продолжали на протяжении 10 сут с интервалом между инъекциями 24 ч [9]. Животным группы контроля подкожно вводили 5 % раствор декстрозы в те же сроки, что и филграстим. Одновременно с этим, собакам проводилась антибиотикотерапия цефтриаксоном, который вводили животным внутримышечно в дозе 1 г 2 раза в сутки, начиная с 7 сут после облучения в течение 15 сут.

Статистическую обработку данных экспериментальных и клинических исследований проводили общепринятыми методами с расчетом среднего значения, ошибки средней и среднего квадратического отклонения. Данные во всех таблицах представлены в виде $\bar{X} \pm m_x$.

В случае значительного объема выборки и близкого к нормальному распределению вариант, оценку различий средних значений проводили параметрическими методами с использованием t-критерия Стьюдента. Оценку различий данных, полученных при анализе выборок малого объема ($n < 10$), проводили непараметрическими методами с использованием критерия Вилкоксона-Манна-Уитни [10].

Результаты и их обсуждение. Облучение мышей в дозе 7,0 Гр, близкой к минимальной абсолютно смертельной, вызывало гибель в 96% случаев (таблица 1). Лечебное введение Г-КСФ в этих условиях способствовало увеличению выживаемости животных на 27% и СПЖ. При облучении мышей

в более низких дозах (6,5 и 6,0 Гр) статистически значимого прироста выживаемости облученных животных не отмечалось.

Таблица 1. – Влияние Г-КСФ на выживаемость мышей, облученных в дозах 6,0, 6,5, 7,0 Гр ($X \pm m_x$)

Доза облучения, Гр	Условия эксперимента	n	Выживаемость	СПЖ, сут	
			абс	%	
6,0	облучение (контроль)	22	9	41±11	19±4
	Г-КСФ	32	15	47±9	21±3
6,5	облучение (контроль)	12	3	25±13	15±3
	Г-КСФ	24	9	38±10	17±4
7,0	облучение (контроль)	27	1	4±4	9±1
	Г-КСФ	42	13	31±7	17±3*
*- p<0,05 по сравнению с контролем					

Ниже представлены данные, характеризующие влияние Г-КСФ на постлучевые нарушения гемопоэза у мышей.

Облучение мышей в дозе 6,0 Гр (СД_{70/30}) сопровождалось существенным изменением показателей периферической крови. Как видно из таблицы 2, количество лейкоцитов в периферической крови через 3 сут уменьшилось в 9 раз по сравнению с исходным уровнем. Через 10 сут после облучения количество лейкоцитов снижалось на 92% от исходного и составляло $0,7 \times 10^9/\text{л}$. В последующем у выживших животных наблюдалось постепенное улучшение гематологических показателей.

После введения препарата Г-КСФ выраженность постлучевой лейкопении оказалась значительно менее выраженной. Как видно из таблицы, количество лейкоцитов в крови леченых животных во все сроки наблюдения было в 1,5-2 раза выше, чем в группе контроля.

Влияние Г-КСФ на постлучевую нейтропению также было достаточно выраженным. Так, на пике агранулоцитоза (10 сут после облучения) содержание нейтрофилов в группе животных, получавших Г-КСФ, было более чем в два раза выше в сравнении с группой контроля.

Благоприятное влияние препарата сказалось и на выраженности постлучевой лимфопении: уровень лимфоцитов в крови леченых животных в период разгара заболевания сохранялся на более высоком уровне в сравнении с группой контроля.

Таблица 2 – Влияние Г-КСФ на содержание лейкоцитов, нейтрофилов, лимфоцитов в периферической крови мышей, облученных в дозе 6,0 Гр ($X \pm m_x$, n = 24 в каждой группе)

Показатель	Условия эксперимента	Количество клеток, $n \times 10^9/\text{л}$	
		до облучения	после

			облучения, сут		
			3	10	15
Содержание лейкоцитов	облучение (контроль)	8,7±1,3	0,95±0,05	0,67±0,05	2,45±0,25
	Г-КСФ		1,77±0,20 *	1,37±0,2 *	3,90±0,10 *
Содержание нейтрофилов	облучение (контроль)	3,7±1,2	0,06±0,01	0,90±0,05	1,70±0,1
	Г-КСФ		0,15±0,01 *	1,10±0,1 *	2,10±0,15 *
Содержание лимфоцитов	облучение (контроль)	4,2±1,3	0,25±0,05	0,17±0,05	0,35±0,25
	Г-КСФ		0,37±0,02 *	0,32±0,02 *	0,55±0,10
* - p ≤ 0,05 по сравнению с контролем					

Как видно из таблицы 3, спустя 3 сут после облучения в дозе 7,0 Гр (СД_{90—100/30}), количество лейкоцитов снижалось почти в 7 раз, а к 10 сут - на 93 % от исходного уровня с последующим подъемом до 20 % от фоновых значений. К 10 сут, когда лейкопения достигла уровня агранулоцитоза, количество нейтрофилов составляло 3 %, а число лимфоцитов – 8% от исходных значений. Под влиянием Г-КСФ выраженность лейкопении снижалась (как за счет числа нейтрофилов, так и лимфоцитов), а темпы восстановления клеток «белого» ростка существенно возрастали.

Таблица 3 - Влияние Г-КСФ на содержание лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов в периферической крови мышей, облученных в дозе 7,0 Гр ($\bar{X} \pm m_x$, n = 24 в каждой группе)

Показатель	Условия эксперимента	Количество клеток, п x 10 ⁹ /л			
		до облучения	после облучения, сут		
			3	10	15
Содержание лейкоцитов	облучение (контроль)	5,48±0,08	0,82±0,04	0,39±0,07	1,17±0,05
	Г-КСФ		1,46±0,04 *	0,66±0,03	2,10±0,06 *
Содержание нейтрофилов	облучение (контроль)	1,49±0,08	0,58±0,02	0,04±0,01	0,66±0,9
	Г-КСФ		0,60±0,13	0,12±0,02 *	1,24±0,12 *
Содержание лимфоцитов	облучение (контроль)	4,03±0,14	0,18±0,01	0,33±0,06	0,51±0,16
	Г-КСФ		0,70±0,07 *	0,49±0,01 *	0,89±0,06 *
* - p ≤ 0,05 по сравнению с контролем					

Г-КСФ оказывал положительное влияние и на состояние костномозгового кроветворения у облученных мышей. Как видно из таблицы 4, через 3 сут после облучения в дозе 7,0 Гр количество миелокариоцитов в костном мозге уменьшилось в 10 раз по сравнению с исходным уровнем.

Таблица 4 – Влияние Г-КСФ на содержание миелокариоцитов, мегакариоцитов в костном мозге мышей, облученных в дозе 7,0 Гр ($X \pm m_x$, $n = 24$ в каждой группе)

Показатель	Условия эксперимента	Количество клеток, п х 10 ⁹ /л			
		до облучения	после облучения, сут		
			3	10	15
Содержание миелокариоцит ов	облучение (контроль)	22±1,8	2,4±0,3	3,6±0,2	5,3±0,3
	Г-КСФ		3,7±0,1*	6,0±0,2*	9,2±0,3*
Содержание мегакариоцито в	облучение (контроль)	0,14±0,01	0,01±0,005	0	0,02±0,008
	Г-КСФ		0,02±0,005	0,001±0,005	0,055±0,005*
* - р ≤ 0,05 по сравнению с контролем					

Через 10 сут их число несколько повысилось и составило $3,6 \times 10^9/\text{л}$. Введение Г-КСФ существенно изменяло характер постлучевых изменений количества миелокариоцитов. Несмотря на то, что в первые 3 сут после облучения сохранялось снижение количества миелокариоцитов, через 10 сут их количество у мышей, которым вводили препарат Г-КСФ, было в 2 раза выше, чем в группе контроля. Через 15 сут после облучения количество миелокариоцитов увеличивалось до $9,2 \times 10^9/\text{л}$, что было в 1,8 раза выше, чем в группе плацебо и составило 45% от исходного уровня.

На количество мегакариоцитов в костном мозге облученных мышей Г-КСФ оказывал существенно меньшее влияние. Только через 15 сут после облучения содержание мегакариоцитов в костном мозге леченых животных было достоверно выше, чем в группе контроля.

Оценку модифицирующего действия Г-КСФ по критерию эндогенного колониеобразования проводили на селезенке мышей на 9 сут после облучения в дозах 6,0; 6,5 и 7,0 Гр. Как видно из таблицы 5, применение Г-КСФ у облученных мышей существенно увеличивало количество эндогенных КОЕ-с по сравнению с контролем.

Таблица 5 - Влияние Г-КСФ на количество эндогенных КОЕ-С у мышей на 9 сут после облучения в различных дозах ($X \pm m_x$, $n = 20$ в каждой группе)

Доза облучения, Гр	Среднее число колоний, абс. ед.	
	Облучение (контроль)	Г-КСФ
6,0	$4,6 \pm 0,8$	$8,9 \pm 2,0^*$
6,5	$2,8 \pm 0,9$	$9,2 \pm 1,8^*$
7,0	$1,9 \pm 0,8$	$6,9 \pm 1,2^*$
* - $p \leq 0,05$ по сравнению с контролем		

Положительное влияние ГКСФ отмечалось и по такому показателю как масса селезенки. Как видно из таблицы 6, спустя 10 сут после облучения животных в дозах 6-7 Гр, масса селезенки у леченых мышей была в 1,5-2,7 раза выше, чем в контроле.

Таблица 6 - Влияние Г-КСФ на массу селезенки у мышей, облученных в различных дозах ($X \pm m_x$, $n = 10$ в каждой группе)

Доза облучения, Гр	Масса селезенки, мг	
	Облучение (контроль)	Г-КСФ
6,0	58 ± 3	$90 \pm 5^*$
6,5	42 ± 2	$84 \pm 4^*$
7,0	28 ± 2	$76 \pm 5^*$
* - $p \leq 0,05$ по сравнению с группой контроля		

Таким образом, применение Г-КСФ у мышей увеличило выживаемость животных, облученных в дозах, близких к минимальным абсолютно смертельным, снижало выраженность постлучевой лейкопении, нейтропении и лимфопении, увеличивало выход эндогенных селезеночных колоний и массу селезенки по сравнению с контролем.

Влияние Г-КСФ на исходы радиационного поражения и гематологические нарушения у крыс.

Введение Г-КСФ существенно увеличивало выживаемость и СПЖ у облученных животных, при этом противолучевые свойства Г-КСФ в наибольшей степени проявлялись у крыс, облученных в дозах, соответствующих $СД_{70-100/30}$ и $СД_{90/30}$ (таблица 7).

Так, выживаемость контрольных крыс, облученных в дозе 7,0 Гр $СД_{70-100/30}$ и получавших терапию Г-КСФ, практически не различалась. В группе контроля после облучения крыс в дозе 7,5 и 7,8 Гр выжило 29 и 8 % животных соответственно. Применение Г-КСФ способствовало существенному увеличению выживаемости - к 30 сут после облучения выжило на 25-32% животных больше, чем в контроле.

Таблица 7. – Влияние Г-КСФ на выживаемость крыс, облученных в различных дозах ($X \pm m_x$)

Доза облучения, Гр	Условия эксперимента	n	Выживаемость	СПЖ, сут	
			абс	%	
7,0	облучение (контроль)	12	7	58 ± 15	22 ± 2
	Г-КСФ	24	16	67 ± 10	23 ± 2
7,5	облучение (контроль)	24	7	29 ± 10	16 ± 1
	Г-КСФ	36	22	$61 \pm 8^*$	$22 \pm 2^*$

7,8	облучение (контроль)	12	1	8±8	13±1
	Г-КСФ	12	4	33±15*	20±3*
*- p<0,05 по сравнению с контролем					

Применение Г-КСФ существенно изменяло динамику количества лейкоцитов в периферической крови облученных животных. Как видно из таблицы 8, надир лейкоцитов у леченых животных на 10 сут после облучения был на 20% выше, чем в контроле, а восстановление их количества происходило почти в 2 раза быстрее.

Таблица 8 – Влияние Г-КСФ на количество лейкоцитов в периферической крови крыс, облученных в дозе 7,0 Гр ($X \pm m_x$, n = 12 в каждой группе)

Условия эксперимента	Количество клеток, п x 10 ⁹ /л			
	до облучения	до облучения, сут		
		3	10	15
Облучение (контроль)	13,8 ± 0,22	1,50 ± 0,1	1,20 ± 0,1	2,60 ± 0,2
Г-КСФ		1,89 ± 0,13	1,50 ± 0,1*	4,83 ± 0,3*
*- р<0,05 по сравнению с контролем				

Облучение крыс в дозе (7,5 Гр), соответствующей $СД_{70/30}$, сопровождалось существенным изменением показателей периферической крови. Как видно из таблицы 9, у крыс группы контроля количество лейкоцитов в периферической крови через 3 сут после облучения уменьшилось более чем в 10 раз по сравнению с исходным уровнем, а через 10 сут снижалось на 95 % от исходного и составляло $0,6 \times 10^9/\text{л}$.

В группе животных, получавших Г-КСФ, выраженность постлучевой лейкопении оказалась значительно менее выраженной. С 10 по 15 сут после радиационного воздействия количество лейкоцитов в крови леченых животных было в 1,5-2 раза выше, чем в контроле.

Снижение выраженности постлучевой лейкопении при введении Г-КСФ было обусловлено благоприятным влиянием препарата на индуцированное воздействием ионизирующего излучения снижение количества лимфоцитов и нейтрофилов в периферической крови крыс.

Таблица 9 – Влияние Г-КСФ на содержание лейкоцитов, лимфоцитов, нейтрофилов в периферической крови крыс, облученных в дозе 7,5 Гр ($X \pm m_x$, n = 24 в каждой группе)

Показатель	Условия эксперимента	Количество клеток, п х 10 ⁹ /л			
		до облучения	до облучения, сут		
			3	10	15
Содержание лейкоцитов	Облучение (контроль)	14,6±1,3	0,90 ± 0,04	0,60 ± 0,02	2,6 ± 0,2
	Г-КСФ		1,30 ± 0,05	1,25 ± 0,02*	4,2 ± 0,3*
Содержание лимфоцитов	Облучение (контроль)	11,4 ± 1,1	0,20 ± 0,05	0,25 ± 0,10	1,4 ± 0,1
	Г-КСФ		0,40 ± 0,10*	0,50 ± 0,10*	2,6 ± 0,3*
Содержание нейтрофилов	Облучение (контроль)	2,46±0,15	0,09 ± 0,01	0,45 ± 0,04	0,9 ± 0,2
	Г-КСФ		0,50 ± 0,01*	0,80 ± 0,09*	1,6 ± 0,2*
*- p<0,05 по сравнению с контролем					

Результаты опытов, в которых крыс облучали в дозе 7.8 Гр (СД_{95-100/30}), показали, что такое воздействие приводит к развитию резко выраженных изменений клеточного состава периферической крови. Так, содержание лейкоцитов в периферической крови крыс через 3 сут после облучения уменьшилось в 20 раз по сравнению с исходным уровнем, а через 10 сут после облучения составляло 0,26 х 10⁹/л (таблица 10). Дальнейшее развитие картины поражения у выживших животных характеризовалось тенденцией к постепенному восстановлению значений гематологических показателей. Через 15 сут после облучения количество лейкоцитов повышалось почти в 7 раз по сравнению с предыдущим сроком наблюдения (10 сут) и составило 1,8 х 10⁹/л.

Постлучевая лейкопения характеризовалась снижением количества как мононуклеаров, так и гранулоцитов. В частности, количество лимфоцитов в периферической крови крыс спустя 3-10 сут после облучения снижалось до уровня 1 – 2 % от исходного с последующим небольшим увеличением до 10 % от исходного уровня через 14 сут после облучения.

Содержание нейтрофилов снижалось до минимального уровня (5% от исходного) через 3 сут после облучения, однако уже на 15 сут после радиационного воздействия количество гранулоцитов у выживших контрольных животных существенно возрастало и достигло 35% от исходных значений.

У животных, получавших лечение Г-КСФ, выраженность постлучевой лейкопении оказалась значительно менее выраженной. Количество лейкоцитов (как лимфоцитов, так и нейтрофилов) в крови леченых животных было выше, чем в контроле.

Таблица 10 – Влияние Г-КСФ на содержание лейкоцитов, лимфоцитов, нейтрофилов в периферической крови крыс, облученных в дозе 7,8 Гр ($X \pm m_x$, n = 24 в каждой группе)

Показатель	Условия эксперимента	Количество клеток, п х
------------	----------------------	------------------------

		10 ⁹ /л			
		до облучения	до облучения, сут		
			3	10	15
Содержание лейкоцитов	Облучение (контроль)	14,6±1,3	0,75±0,05	0,26±0,1	1,8±0,3
	Г-КСФ		1,7±0,1*	1,5±0,1*	3,2±0,15*
Содержание лимфоцитов	Облучение (контроль)	11,4 ± 1,1	0,1 ± 0,05	0,2 ± 0,1	0,9 ± 0,1
	Г-КСФ		0,3 ± 0,1*	0,6± 0,1*	2,0 ± 0,3*
Содержание нейтрофилов	Облучение (контроль)	2,46±0,15	0,04 ± 0,01	0,6 ± 0,04	0,8 ± 0,2
	Г-КСФ		0,09±0,01*	0,9 ± 0,09*	1,3±0,15*
*- p<0,05 по сравнению с контролем					

На следующем этапе исследования были изучено влияние Г-КСФ на пострadiационные изменения костномозгового кроветворения.

Данные, приведенные в таблице 11, показывают, что количество миелокарицитов в костном мозге крыс, облученных в дозе 7,5 Гр, через 3 сут после воздействия уменьшилось в 7 раз по сравнению с исходным уровнем. Через 10 сут после облучения количество миелокарицитов несколько повысилось и составило $34 \times 10^9/\text{л}$. В последующем у выживших животных наблюдалось постепенное улучшение гематологических показателей. Введение Г-КСФ существенно изменяло характер пострadiационных изменений количества миелокарицитов в костном мозге. Несмотря на то, что в первые трое суток после облучения также имело место существенное снижение количества миелокарицитов, через 10 сут количество миелокарицитов у крыс, которым вводили Г-КСФ, было в 2 раза выше, чем в облученном контроле. Через 14 сут после облучения количество миелокарицитов увеличивалось до уровня $71 \times 10^9/\text{л}$, что было в 1,8 раза выше, чем в группе контроля и составило 40% от исходного уровня.

В то же время введение Г-КСФ практически не оказывало влияния на количество мегакарицитов в костном мозге облученных крыс, облученных в дозе 7,5 Гр.

Таблица 11 – Влияние Г-КСФ на содержание миелокарицитов и мегакарицитов в костном мозге крыс, облученных в дозе 7,5 Гр ($X \pm m_x$, $n = 24$ в каждой группе)

Показатель	Условия эксперимента	Количество клеток, $n \times 10^9/\text{л}$			
		до облучения	до облучения, сут		
			3	10	15
Содержание миелокарицитов	Облучение (контроль)	116±1,8	17,5±1,8	34±2,1	45±2,6
	Г-КСФ		30±2,1*	64±2,9*	71±3,2*

Содержание мегакариоцито в	Облучение (контроль)	0,1±0,01	0,01±0,005	0	0
	Г-КСФ		0,015±0,008	0,002±0,002	0
*- p<0,05 по сравнению с контролем					

Через 3 сут после радиационного воздействия в дозе 7,8 Гр количество миелокариоцитов в костном мозге животных контрольной группы уменьшилось в 10 раз по сравнению с исходным уровнем (таблица 12). У выживших к десятым суткам после облучения контрольных животных количество миелокариоцитов повышалось до уровня $22 \times 10^9/\text{л}$. В последующем у выживших животных наблюдалось постепенное улучшение гематологических показателей. Так, через 15 сут после облучения количество миелокариоцитов составило $32 \times 10^9/\text{л}$, или в 3 раза выше, чем предыдущее значение показателя, зарегистрированное через 10 сут после облучения.

Таблица 12 – Влияние Г-КСФ на содержание миелокариоцитов и мегакариоцитов в костном мозге крыс, облученных в дозе 7,8 Гр ($X \pm m_x$, $n = 24$ в каждой группе)

Показатель	Условия эксперимента	Количество клеток, п х 10 ⁹ /л			
		до облучения	до облучения, сут		
			3	10	15
Содержание миелокариоцит ов	Облучение (контроль)	116±1,8	10,5±1,0	22±1,7	32±2,2
	Г-КСФ		24,5±1,8*	53,5±1,8*	65±1,7*
Содержание мегакариоцито в	Облучение (контроль)	0,1±0,01	0,005±0,0001	0	0
	Г-КСФ		0,015±0,0001	0	0
*- р<0,05 по сравнению с контролем					

Введение Г-КСФ существенно изменяло характер пострadiационных изменений количества миелокариоцитов в костном мозге. Несмотря на то, что в первые трое суток после облучения также имело место существенное снижение количества миелокариоцитов, через 10 сут их количество у крыс, которым вводили препарат Г-КСФ, было в 2,5 раза выше, чем в группе контроля. Через 15 сут после облучения количество миелокариоцитов увеличивалось до уровня $65 \times 10^9/\text{л}$, что в 2,1 раза выше, чем в группе контроля и составило 55% от исходного уровня.

Как видно из таблицы, Г-КСФ не оказывал заметного влияния на количество мегакариоцитов в костном мозге облученных крыс.

Влияние Г-КСФ на исходы радиационного поражения и гематологические нарушения у собак.

Как видно из таблицы 13, при облучении в дозе 3,5 Гр, вызывавшей гибель 100% собак, в группе животных, которым вводили Г-КСФ, выжило 4 животных (40%). На 12 сут по сравнению с контролем увеличилась и средняя продолжительность жизни собак, которые получали Г-КСФ.

Таблица 13 – Влияние Г-КСФ на течение и исходы острой лучевой болезни у собак, облученных в дозе 3,5 Гр ($X \pm m_x$, $n = 10$ в каждой группе)

Условия эксперимента	Значение показателя		
	Выживаемость	СПЖ, сут	
	абс. ед	%	
Облучение (контроль)	0	0 +10	16 ± 1
Г-КСФ	4	40 ± 15	28 ± 5*
*- $p < 0,05$ по сравнению с контролем			

Применение Г-КСФ существенно улучшало картину белой крови у облученных собак. Как видно из таблицы 14, к 3 сут после облучения у контрольных животных число лейкоцитов в периферической крови снизилось по сравнению с исходным уровнем в 1,6 раза, а к 10 – 14 сут – до 30 и 5% соответственно. У животных, которые получали Г-КСФ, на 3 сут после облучения снижение количества лейкоцитов в периферической крови практически отсутствовало, а к 10 – 14 сут данный показатель у леченых собак в 2 – 3 раза превышал аналогичные значения у животных контрольной группы. Применение Г-КСФ не оказывало существенного влияния на динамику содержания эритроцитов и тромбоцитов.

Таблица 14 – Влияние Г-КСФ на изменения морфологического состава периферической крови собак, облученных в дозе 3,5 Гр ($X \pm m_x$, $n = 10$ в каждой группе)

Показатель	Условия эксперимента	Количество клеток, $n \times 10^9$ /л			
			после облучения, сут		
		До облучения	3	10	15
Содержание лейкоцитов	Облучение (контроль)	14,2 ± 1,4	8,9 ± 0,7	1,9 ± 0,3	0,6 ± 0,3
	Г-КСФ		13,6 ± 1,3*	4,1 ± 0,8*	2,3 ± 0,3*
Содержание нейтрофилов	Облучение (контроль)	9,8 ± 0,7	5,2 ± 0,4	1,1 ± 0,2	0,3 ± 0,1
	Г-КСФ		8,5 ± 1,3*	2,5 ± 0,5*	1,7 ± 0,2*
Содержание лимфоцитов	Облучение (контроль)	3,9 ± 0,6	3,4 ± 0,2	0,5 ± 0,1	0,2 ± 0,1
	Г-КСФ		4,5 ± 0,3*	1,0 ± 0,2*	0,6 ± 0,1*

Содержание эритроцитов	Облучение (контроль)	$8,2 \pm 0,4$	$7,3 \pm 0,3$	$6,4 \pm 0,4^{**}$	$6,2 \pm 0,8^{**}$
	Г-КСФ		$8,1 \pm 0,5$	$6,9 \pm 0,3$	$6,1 \pm 0,5^{**}$
Содержание тромбоцитов	Облучение (контроль)	251 ± 15	190 ± 13	24 ± 3	13 ± 3
	Г-КСФ		195 ± 12	25 ± 5	15 ± 2
*- $p < 0,05$ по сравнению с контролем					

Введение Г-КСФ способствовало изменению динамики количества миелокарицитов в костном мозге у облученных животных (таблица 15).

Таблица 15 – Влияние Г-КСФ на количество миелокарицитов и мегакарицитов в костном мозге собак, облученных в дозе 3,5 Гр ($X \pm m_x$, $n = 10$ в каждой группе)

Показатель	Условия эксперимента	Количество клеток, $n \times 10^9/\text{л}$			
			после облучения, сут		
		До облучения	3	10	15
Содержание миелокарицитов	Облучение (контроль)	$217,5 \pm 22,4$	$9,1 \pm 1,3$	$3,9 \pm 0,5$	$2,0 \pm 0,4$
	Г-КСФ	$230,2 \pm 28,5$	$13,5 \pm 1,6^*$	$7,1 \pm 1,9^*$	$8,5 \pm 1,5^*$
Содержание мегакарицитов	Облучение (контроль)	$0,030 \pm 0,009$	$0,002 \pm 0,002$	0	0
	Г-КСФ	$0,052 \pm 0,012$	$0,004 \pm 0,002$	0	0
*- $p < 0,05$ по сравнению с контролем					

Так, в контроле на 3 сут после облучения количество миелокарицитов в костном мозге собак уменьшилось более чем в 20 раз по сравнению с исходным уровнем и составило $9,1 \times 10^9/\text{л}$. Минимальное количество миелокарицитов наблюдалось на 15 сут после облучения и составило $2,0 \times 10^9/\text{л}$. Количество миелокарицитов у животных, получавших Г-КСФ, на 3-10 сут после облучения, более чем на 30-60% превышало данный показатель группы контроля, а на 15 сут превышало его уже более чем в 4 раза.

У выживших к 20 сут после облучения животных отмечался резкий подъем количества миелокарицитов: оно достигло $60,0 \times 10^9/\text{л}$, а на 45 сут количество миелокарицитов костного мозга еще больше увеличилось и составляло уже $128 \times 10^9/\text{л}$.

Применение Г-КСФ не оказывало существенного влияния на динамику количества мегакарицитов в костном мозге облученных собак.

Таким образом, полученные в ходе эксперимента данные показывают, что применение Г-КСФ способствовало увеличению выживаемости и средней продолжительности жизни животных различных

видов, ускорению восстановления миелопоэза и количества субпопуляций лейкоцитов в периферической крови. В то же время препарат не оказывал модифицирующего действия мегакариоцитарный росток кроветворения и на количество эритроцитов и тромбоцитов в периферической крови.

Полученные результаты подтверждают немногочисленные данные литературы [11, 12] о целесообразности раннего применения Г-КСФ для превентивной терапии острого костномозгового синдрома лучевой этиологии.

Выводы:

1. При облучении мышей и крыс в минимальной абсолютно смертельной дозе курсовое применение филграстима способствует повышению их выживаемости (на 27 и 25% соответственно), увеличению средней продолжительности жизни (на 8 и 6 сут соответственно).

2. Под влиянием курсового лечения филграстимом мышей и крыс, облученных в широком диапазоне доз, снижается выраженность лейкопении и ускоряется восстановление количества лейкоцитов (как нейтрофилов, так и лимфоцитов) в периферической крови, а также числа миелокариоцитов в костном мозге облученных животных, а также существенно увеличивается масса селезенки мышей и количество эндогенных КОЕ-с.

3. Филграстим в сочетании с антибиотикотерапией способствует увеличению выживаемости собак, облученных в минимальной абсолютно смертельной дозе до 40% и средней продолжительности жизни до 12сут, приводит к ускорению восстановления миелопоэза и количества клеток белой крови.

4. Применение филграстима у лабораторных животных различных видов, облученных в широком диапазоне доз, не влияет на динамику постлучевых изменений количества эритроцитов и тромбоцитов в периферической крови и мегакариопоэза в костном мозге.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аветисов Г.М. Медицинские и санитарно-гигиенические проблемы ликвидации последствий радиационных аварий / Г.М. Аветисов, С.Ф. Гончаров // Медицина катастроф. - 2002. - № 3/4 (39-40). - С. 38-42.
2. Баранов А.Е. Аналитический обзор схем лечения острой лучевой болезни, используемых в эксперименте и клинике / А.Е. Баранов, Л.М. Рождественский // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2008. – Т. 48, № 3. – С. 287-302.
3. Гребенюк А.Н. Современные возможности медикаментозной профилактики и ранней терапии радиационных поражений / А.Н. Гребенюк, В.В. Зацепин, В.Б. Назаров, Т.Н. Власенко // Военно-медицинский журнал. – 2011. – Т. 332, № 2. – С. 13-17.
4. Coleman C.N. Medical Response to a Radiologic/Nuclear Event: Integrated Plan From the Office of the Assistant Secretary for Preparedness and Response, Department of Health and Human Services / C.N. Coleman, C. Hrdina, J.L. Bader et al. // Annals of Emergency Medicine. - 2009. – Vol. 53, № 2. - P. 213-221.
5. Dainiak N. First Global Consensus for Evidence-Based Management of the Hematopoietic Syndrome Resulting From Exposure to Ionizing Radiation / N. Dainiak, R.N. Gent, C. Zhanat et al. // Disaster Medicine and Public Health Preparedness. – 2011. - № 10. – P. 1-11.
6. Koukourakis M.I. Radiation damage and radioprotectants: new concepts in the era of molecular medicine / M.I. Koukourakis // The British Journal of Radiology. – 2012. – Vol. 85, № 4. – P. 313–330.
7. Crawford J. Рекомендации ESMO по использованию колониестимулирующих факторов (КСФ) / J. Crawford, C. Caserta, F. Roila // Минимальные клинические рекомендации европейского общества медицинской онкологии (ESMO). – Москва, 2010. – С. 375-380.
8. Naurois J. Рекомендации ESMO по диагностике, лечению и профилактике фебрильной нейтропении / J. Naurois, I. Novitzky-Basso, M. J. Gil et al. // Минимальные клинические рекомендации европейского общества медицинской онкологии (ESMO). – Москва, 2010. – С. 381-390.
9. Цитокины. Экспериментальное и клиническое изучение в качестве средств терапии радиационных поражений: Метод. указания / ФУ «Мед- биоэкстрем» МЗ РФ, ГВМУ МО РФ. - М., 2001. - 16 с.
10. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica – М.: МедиаСфера.- 2002.- 312 С.
11. Waselenko J.K. Medical Management of the Acute Radiation Syndrome: Recommendations of the Strategic National Stockpile Radiation Working Group / J.K. Waselenko, T.J. MacVittie, W.F. Blakely et al. // Clinical Guidelines. – 2004. – Vol. 140, № 12. – P. 1037-1053.

12. Heslet L. Acute radiation syndrome (ARS) – treatment of the reduced host defense / L. Heslet, C. Bay, S. Nepper-Christensen et al. // International Journal of General Medicine. – 2012. – Vol. 5. – P. 105-115.