

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НИКОТИНАМИДА НА ВЫРАЖЕННОСТЬ
НЕВРОЛОГИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ РАННЕГО ПЕРИОДА ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ
ФОРМЫ ОСТРОЙ ЛУЧЕВОЙ БОЛЕЗНИ**

Кондаков А.Ю., Драчев И.С., Ремизов Д.В., Кудряшов В.С., Якунчикова Е.А., Данилова
О.А., Тихомиров П.В.

*ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной
медицины» Министерства обороны Российской Федерации
195043, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая д. 4
e-mail: gniiivm_2@mil.ru*

Резюме. В основе развития нарушений, определяющих клиническую картину поражения организма после облучения в сверхвысоких дозах, лежат нарушения функций ЦНС. В настоящее время для профилактики развития церебрального синдрома и возникновения ранней преходящей недееспособности применяется способ фармакологической коррекции энергодифицитного состояния ЦНС, возникающего при облучении в больших дозах. Это может достигаться путем введения в организм ингибитора АДФ-рибозилирования (никотинамида). *Цель исследования.* Оценка специфической активности никотинамида в качестве средства профилактики неврологических расстройств раннего периода церебральной формы ОЛБ. *Материалы и методы.* Исследования выполнены на белых беспородных крысах массой 180-200 г, которых облучали в кранио-каудальном направлении на установке ИГУР-1 в дозе 150 Гр. В группе «Никотинамид» крысы вводили внутривентриально препарат в дозе 100 мг/кг за 30 мин до облучения. Для оценки способности животных к воспроизведению ранее приобретенных навыков и характеристики состояния долговременной памяти использовали модель выполнения задачи в водном тесте «избегание плаванием». Нарушение координации и общей моторной двигательной активности оценивали по способности лабораторных животных проходить по горизонтальной перекладине – тест «Beam walking». *Результаты исследования.* Установлено, что облучение животных в дозе 150 Гр приводит к увеличению времени теста «избегание плаванием» на 26 % по сравнению со значениями до облучения, что в 8,5 раз ниже, чем показатели у необлученных крыс. Профилактическое применение никотинамида способствовало сокращению времени плавания крыс в 2,5 раза, по сравнению с показателем у облученных животных, не получавших препарат. Продолжительность времени выполнения теста «Beam walking» у облученных крыс увеличивалась в 50 раз, при этом отмечали большое количество ошибок (2 балла) по сравнению с необлученными. Через 10 мин после воздействия время плавания различалось всего в 3 раза, облученные крысы выполняли тест

безошибочно (6 баллов). При профилактическом применении никотинамида время на безошибочное выполнение задачи облученными крысами не отличалось от результатов группы «Контроль». *Заключение.* Таким образом, применение никотинамида за 30 мин до облучения в сверхвысоких дозах позволяет предотвратить развитие нарушения когнитивных способностей, мнестических функций, координации движений и других неврологических расстройств раннего периода церебральной формы ОЛБ.

Ключевые слова: радиационное воздействие; сверхвысокие дозы; неврологические расстройства; никотинамид

STUDYING THE EFFECT OF NICOTINAMIDE ON THE EXPRESSION OF EARLY NEUROLOGICAL MANIFESTATIONS OF THE CEREBRAL FORM OF ACUTE RADIATION SICKNESS

Kondakov A.Yu., Drachev I.S., Remizov D.V., Kudryashov V.S., Yakunchikova E.A., Danilova
O.A., Tikhomirov P.V.

*Federal State Budgetary Institution «State Scientific Research Test Institute of military medicine»
Ministry of Defense of the Russian Federation,
195043, Russian Federation, Saint Petersburg, Lesoparkovaya str., 4
e-mail: gniiivm_2@mil.ru*

Abstract. The development of disorders that determine the clinical picture of damage to the body after irradiation at ultrahigh doses is based on dysfunctions of the central nervous system. Currently, to prevent the development of cerebral syndrome and the occurrence of early transient disability, a method of pharmacological correction of the energy-deficient state of the central nervous system that occurs when irradiated in high doses is used. This can be achieved by introducing an inhibitor of ADP-ribosylation (nicotinamide) into the body. *Purpose of the study.* Evaluation of the specific activity of nicotinamide as a means of preventing neurological disorders in the early period of the cerebral form of ARS. *Materials and methods.* The studies were performed on white outbred rats weighing 180-200 g, which were irradiated in the cranio-caudal direction using the IGUR 1 unit at a dose of 150 Gy. The group "Nicotinamide" included rats that were injected intraperitoneally 30 minutes before irradiation with the drug at a dose of 100 mg/kg. To assess the ability of animals to reproduce previously acquired skills and characterize the state of long-term memory, a model of task performance in the water test "avoidance by swimming" was used. Impairment of coordination and general motor activity was assessed by the ability of laboratory animals to walk along a horizontal bar - the "Beam walking" test. *Research results.* It has been established that irradiation of animals at a dose of 150 Gy leads to an increase in the time of

the “swimming avoidance” test by 26 % compared to the values before irradiation, which is 8.5 times lower than in non-irradiated rats. The prophylactic use of nicotinamide contributed to a 2.5-fold reduction in the swimming time of rats, compared with the indicator in irradiated animals that did not receive the drug. The duration of the Beam walking test in irradiated rats increased 50 times, with a large number of errors (2 points) compared to non-irradiated rats. 10 min after exposure, the swimming time differed by only 3 times; the irradiated rats performed the test without error (6 points). With the prophylactic use of nicotinamide, the time for error-free task performance by irradiated rats did not differ from the results of the "Control" group. *Conclusion.* Thus, the use of nicotinamide 30 minutes before irradiation in ultra-high doses makes it possible to prevent the development of impaired cognitive abilities, mnestic functions, coordination of movements, and other neurological disorders of the early period of the cerebral form of ARS.

Key words: radiation exposure; ultra-high doses; neurological disorders; nicotinamide

Введение

В основе развития нарушений, определяющих клиническую картину поражения организма после облучения в сверхвысоких дозах, лежат нарушения функций центральной нервной системы (ЦНС). При этом, в высокорезистентных нервных клетках количество повреждений становится несовместимым с их нормальным функционированием. Одним из возможных ключевых звеньев в пострадиационном нарушении биоэнергетических процессов в клетках головного мозга является активация основной системы репарации ДНК – биосинтез поли-АДФ-рибозы [1, 2].

В настоящее время для профилактики развития ЦНС-синдрома и, в частности, возникновения ранней преходящей недееспособности применяется способ фармакологической коррекции энергодифицитного состояния ЦНС, возникающего при облучении в больших дозах. Это может достигаться путем введения в организм ингибиторов АДФ-рибозилирования. Ингибиторами АДФ-рибозилирования являются никотинамид и его аналоги [3-5].

Цель исследования: оценка специфической активности никотинамида в качестве средства профилактики неврологических расстройств раннего периода церебральной формы ОЛБ.

Материалы и методы. Исследования выполнены на белых беспородных крысах массой 180-200 г. Животных (ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Россия, Всеволожский р-н, Ленинградская обл., д. Рапполово) в течение двух недель выдерживали в карантине. В работе с экспериментальными животными соблюдали требования Приказа Минздрава

России от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики», «Этического кодекса» (1985 г.), Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2000 г.), рекомендациями Федерации европейских научных ассоциаций по содержанию и использованию лабораторных животных в научных исследованиях (FELASA).

Экспериментальные животные были распределены на группы по 10 крыс. Группу «Контроль» составили интактные животные, подвергнутые «ложному облучению». «Облучение» – лабораторные животные, которых облучали в кранио-каудальном направлении на установке ИГУР-1 в дозе 150 Гр, при мощности дозы 22,1 Гр/мин. Контроль поглощенной дозы осуществляли с помощью дозиметра ИД-11 (распределение не более 10 %). В группу «Никотинамид» – входили крысы, которым внутривентрально за 30 мин до облучения вводили препарат в дозе 100 мг/кг.

Для оценки способности животных к воспроизведению ранее приобретенных навыков и характеристики состояния долговременной памяти использовали модель выполнения задачи в водном тесте «избегания плаванием». Тест заключается в обучении животного спасаться из воды, используя веревку [6]. Регистрируемым показателем является время от помещения крысы в воду до момента, когда тело животного, забравшегося на веревку, полностью появится над поверхностью воды. В модификации Баракко Р.А. вариант этого теста позволяет обучить животное за одну попытку. Оценку влияния радиационного воздействия на успешность воспроизведения приобретенного навыка осуществляли через 10 мин после облучения. Обучение выражается в уменьшении латентного периода избегания на второй день [7].

Нарушение координации и общей моторной двигательной активности оценивали по способности лабораторных животных проходить по горизонтальной перекладине. Тест «Beam walking» – интегрированная форма изучения поведения, включающая в себя оценку скрытых двигательных нарушений и двигательного восстановления. Для выполнения теста крыс предварительно тренировали в течение трех дней пересекать деревянную перекладину с затемненной коробкой. Двигательные нарушения оценивали по бальной системе [8].

Данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента. Оценку значимости различий частот наблюдений осуществляли по χ^2 -критерию Пирсона. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение.

О нарушении интегративных функций ЦНС, а именно механизмов извлечения и реализации долговременной памяти, при действии ИИ в высоких дозах свидетельствуют результаты экспериментов по оценке влияния облучения на воспроизведение ранее

приобретенного навыка. Развитие компенсаторных процессов в нервной системе облученных животных оценивали по результатам успешности воспроизведения навыка с использованием водного теста «избегания плаванием».

Результаты исследования представлены в таблице 1. Установлено, что облучение животных в дозе 150 Гр приводит к увеличению времени выполнения задачи на 26 % по сравнению со значениями за 1 сут до облучения (фон), что в 8,5 раз ниже, чем значения показателя у необлученных крыс («Контроль»).

Профилактическое применение никотинамида способствовало сокращению времени плавания крыс, по сравнению со значениями, зарегистрированными в группе «Облучение». Так, через 10 мин после облучения время выполнения теста животными, получавшими препарат, было меньше в 2,5 раза по сравнению с аналогичным показателем у облученных крыс.

Таблица 1.

Влияние никотинамида на способность облученных крыс к воспроизведению ранее приобретенного навыка в водном тесте ($M \pm m$)

№ п/п	Экспериментальная группа, (n = 10)	Время, с	
		фон	через 10 мин
1	Контроль	89,1 ± 19,3	14,6 ± 2,3*
2	Облучение		120,5 ± 41,9 [#]
3	Никотинамид		49,1 ± 18,1
Примечание: * — различие достоверно по сравнению с фоном, p < 0,05; # — различие достоверно по сравнению с группой «Контроль», p < 0,05.			

Для изучения влияния гамма-облучения в сверхвысоких дозах на нарушение координации и общей моторной двигательной активности крыс использовали тест «Beam walking». Способность лабораторных животных проходить по горизонтальной перекладине оценивали в баллах от 1 до 6, где 6 баллов присваивали за безошибочное выполнение теста (табл.2).

Таблица 2.

Влияние никотинамида на время выполнения теста «Beam walking» у крыс, облученных в дозе 150 Гр ($M \pm m$)

№ п/ п	Экспериментальная группа (n = 10)	Время, с			Двигательные нарушения, балл		
		фон	после воздействия	через 10 мин после воздействия	фон	после воздействия	через 10 мин после воздействия
1	Контроль	4,9 ± 1,0	6,1 ± 0,7	5,0 ± 0	5,5 ± 0,5	5,5 ± 0,5	5,5 ± 0,5
2	Облучение		300,0 ± 0* [#]	14 ± 4,2 [#]		2,0 ± 0* [#]	5,5 ± 0,5
3	Никотинами		8,4	6,0		5,5	5,5

	д		$\pm 3,1^{\wedge}$	± 0		$\pm 0,5^{\wedge}$	$\pm 0,5$
Примечание: * — различие достоверно по сравнению с фоном, $p < 0,05$; # — различие достоверно по сравнению с группой «Контроль», $p < 0,05$; $\wedge$ — различие достоверно по сравнению с группой «Облучение», $p < 0,05$.							

Установлено, что у облученных крыс продолжительность времени выполнения теста увеличивается в 50 раз по сравнению с необлученными животными, однако, уже через 10 мин после воздействия этот показатель отличался всего в 2,8 раза. Схожая закономерность прослеживалась и при учете двигательных нарушений. Так, при прохождении перекладины сразу после воздействия облученные животные допускали большее количество ошибок ($2,0 \pm 0$), а при повторном тесте, через 10 мин, облученные крысы выполняли тест безошибочно ($5,5 \pm 0,5$).

Профилактическое применение никотинамида способствовало сохранению двигательных навыков облученных крыс. Время на выполнение задачи по прохождению горизонтальной перекладины экспериментальными животными этой группы не отличалось от результатов, полученных у необлученного контроля, в то время, как в группе «Облучение» данный показатель увеличивался в 35 раз. Также, во время выполнения теста, животные получавшие препарат не допускали ошибок, обусловленных наличием скрытых двигательных нарушений, вызванных облучением в сверхвысоких дозах.

Заключение. Таким образом, профилактическое применение никотинамида в дозе 100 мг/кг позволяет предотвратить развитие таких негативных последствий облучения в сверхвысоких дозах, как снижение когнитивных способностей (нарушение воспроизведения ранее приобретенных навыков), нарушение мнестических функций, нарушение координации движений, общей моторной двигательной активности и других неврологических расстройств раннего периода церебральной формы ОЛБ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бонь Е.И. Характеристика медиаторов и модуляторов, их биологическая роль в функционировании нервной системы. Вестник Новгородского Государственного университета. 2021;1(122):6–14.
2. Ивницкий Ю.Ю., Носов А.В., Малаховский В.Н. Механизмы церебрального лучевого синдрома. Радиационная биология. Радиоэкология. 2001; 41(1): 48–55.
3. Ильин Л.А. Мартиросов К.С., Зорин В.В. Фармакологические средства профилактики церебральной формы острой лучевой болезни. VI Съезд по радиационным исследованиям (радиобиология, радиоэкология, радиационная безопасность): тезисы докладов. Том I (секция I-VII). Москва, 25-28 октября 2010 г. М.: РУДН, 2010:193

4. Красильников И.И. Перспективы разработки новых лекарственных средств на основе ингибиторов АДФ-рибозилирования. Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2005; 64(4): 147–151.
5. Россохин А.В., Шаронова И.Н. Структурная фармакология ГАМК-рецепторов. Анналы клинической и экспериментальной неврологии. 2021;15(4):44–53.
6. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М: Высшая школа, 1991:399.
7. Barraco R.A., Klauenberg B.J., Irwin L.N. Swim escape: A multicomponent, one – trial learning task. Behavioral Biological. 1978;22,114–121.
8. Goldstein L.B., Davis J.N. Influence of lesion size and location on amphetamine-facilitated recovery of beam-walking in rats. Behavioral Neuroscience. 1990;104(2),320.

References

1. Bon' E.I. Characteristics of mediators and modulators, their biological role in the functioning of the nervous system. Vestnik Novgorodskogo Gosudarstvennogo universiteta. 2021;1(122):6-14. (In Russian).
2. Ivnititskiy Yu.Yu., Nosov A.V., Malakhovskiy V.N. Mechanisms of cerebral radiation syndrome. Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya. 2001; 41(1): 48-55. (In Russian).
3. Il'in L.A. Martirosov K.S., Zorin V.V. Pharmacological agents for the prevention of cerebral form of acute radiation sickness. VI S'ezd po radiatsionnym issledovaniyam (radiobiologiya, radioekologiya, radiatsionnaya bezopasnost'): tezis dokladov. Tom I (seksiya I VII). Moskva, 25 28 oktyabrya 2010 g. M.: RUDN, 2010:193. (In Russian)
4. Krasil'nikov I.I. Prospects for the development of new drugs based on ADP-ribosylation inhibitors. Vestnik Rossiyskoy Voenno-meditsinskoy akademii. 2005; 64(4): 147-151. (In Russian)
5. Rossokhin A.V., Sharonova I.N. Structural pharmacology of GABA receptors. Annaly klinicheskoy i eksperimental'noy nevrologii. 2021;15(4):44-53. (In Russian)
6. Buresh Ya., Bureshova O., Kh'yuston D.P. Techniques and basic experiments to study the brain and behavior. M: Vysshaya shkola, 1991:399. (In Russian)
7. Barraco R.A., Klauenberg B.J., Irwin L.N. Swim escape: A multicomponent, one – trial learning task. Behavioral Biological. 1978;22,114–121.
8. Goldstein L.B., Davis J.N. Influence of lesion size and location on amphetamine-facilitated recovery of beam-walking in rats. Behavioral Neuroscience. 1990;104(2), 320.