

МОДИФИКАЦИЯ РАДИАЦИОННЫХ ЭФФЕКТОВ

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

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ НАФАЗОЛИНА И ФИЛГРАСТИМА ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ РАДИАЦИОННОМ ПОРАЖЕНИИ

© 2022 г. Д. Б. Пономарев^{1,*}, Д. В. Ремизов¹, А. Ю. Кондаков¹, И. С. Драчёв¹,
П. В. Тихомиров¹, В. С. Кудряшов¹

¹ Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины МО РФ,
Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: gniiivm_2@mil.ru

Поступила в редакцию 21.02.2022 г.

После доработки 19.04.2022 г.

Принята к публикации 27.04.2022 г.

В экспериментальных исследованиях на мышах изучено влияние препаратов нафазолин и филграстим при изолированном и совместном применении на течение и исход комбинированного радиационно-механического поражения. Установлено, что у мышей, подвергнутых воздействию ионизирующего излучения в дозе ЛД_{50/30} с последующим нанесением механической травмы, препараты нафазолин и филграстим в условиях изолированного применения снижают выраженность нарушений костномозгового кроветворения и пролиферативной активности гемопоэтических клеток, способствуя увеличению выживаемости животных на 20 и 30% соответственно. Значимый защитный эффект при указанном варианте комбинированного поражения оказывает сочетанное применение нафазолина (профилактически за 15 мин до воздействия) и филграстима (в течение 10 сут после облучения), характеризующийся увеличением выживаемости мышей на 50%, снижением выраженности пострадиационной лейкопении, усилением колониобразования и миелопоэза.

Ключевые слова: гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, комбинированное радиационно-механическое поражение, нафазолин, ионизирующие излучения, острое радиационное поражение, филграстим, эндогенное колониобразование

DOI: 10.31857/S0869803122040099

Особенность патологии при комбинированных радиационных поражениях (КРП) заключается в одновременном или последовательном воздействии на организм двух или более качественно разнородных экстремальных факторов и, как следствие, усиление, по сравнению с однофакторным поражением, тяжести общих и местных патологических изменений [1, 2].

Одним из патологических процессов, оказывающих ключевое влияние на течение и исход острых радиационных поражений (ОРП) и требующих раннего неотложного вмешательства, является нарушение системы гемо- и иммунопоэза [3–5]. При КРП усугубляются признаки лучевого панцитопенического синдрома, инфекционных осложнений и кровоточивости, признаки нелучевых компонентов КРП становятся более выраженными, развивается раневая инфекция, возрастает вероятность возникновения токсико-септических осложнений, прогрессирует полиорганная недостаточность, что увеличивает вероятность летального исхода [6–8]. Эти обстоятельства позволяют

рассматривать КРП как актуальный, а по ряду признаков – особый вид патологии. В связи с вышеизложенным существенно возрастает роль фармакологических средств в патогенетической и симптоматической терапии состояний, формирующихся в результате действия комплекса поражающих факторов.

Несмотря на определенные успехи, достигнутые в последние годы в разработке средств и методов профилактики и лечения изолированных радиационных поражений, патологические процессы, возникающие при КРП, тяжело поддаются фармакологической коррекции и требуют постоянного совершенствования подходов к их терапии [9–14].

К настоящему времени общепризнаны целесообразность и необходимость применения после лучевого воздействия колониестимулирующих факторов с целью коррекции постлучевых нарушений гемопоэза [15–18]. Тем не менее в контексте применения цитокинов в лечении радиационных поражений существует мнение, что грану-

лоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ) является не в полной мере обоснованным или единственно возможным выбором для лечения пораженных, подвергшихся общему облучению в дозе более 3 Гр и при наличии механической травмы и/или ожога [16]. Одной из возможностей улучшения результатов лечения является введение Г-КСФ с другими лекарственными препаратами [15, 17, 18]. Совместное применение Г-КСФ с фармакологическими средствами, обладающими радиозащитным действием, может оказаться более эффективным вследствие синергизма, и эффект сочетанного применения будет превосходить результат, ожидаемый при изолированном применении каждого из препаратов.

В связи с этим цель настоящей работы состояла в оценке эффективности применения нафазолина и филграстима на модели комбинированного радиационно-механического поражения (КРМП).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

В работе использовали нелинейных мышей-самцов массой 18.0–20.0 г. Животных получали из ФГУП “Питомник лабораторных животных “Рапполово” Национального исследовательского центра “Курчатовский институт” (Россия, Всеволожский р-н, Ленинградская обл., д. Рапполово). В течение двух недель мышей содержали в условиях карантина. При работе с экспериментальными животными соблюдали требования и условия, изложенные в нормативно-правовых документах о порядке проведения экспериментальных работ с применением животных [19].

Моделирование КРМП осуществляли в соответствии с требованиями “Методических указаний по отбору лекарственных средств и разработке на их основе новых методов лечения комбинированных радиационных поражений” [20]. Перед началом эксперимента шерсть на спине животных коротко сбривали при помощи машинки для стрижки волос.

Животных подвергали воздействию внешнего однократного равномерного γ -излучения на установке “ИГУР-1” в дозе ЛД_{50/30} – 6.0 Гр, при мощности дозы 0.998 Гр/мин. Распределение поглощенной дозы в теле животного определяли фантомно-дозиметрическим методом. По данным дозиметрии в различных точках по длине и по глубине фантома результаты измерений различаются не более чем на 10%. Для контроля поглощенной дозы применяли дозиметр ИД-11. Сертификат калибровки поля излучения – RU 01 № 210/168-2020 от 06.07.2020 г., выданный ФГУП “ВНИИМ им. Д.И. Менделеева”.

Через 5–10 мин после воздействия ионизирующего излучения (ИИ) животным всех групп с

КРМП проводили общую анестезию путем внутримышечного введения раствора Золетил 50 (Virbac Sante Animale, Франция) в дозе 20 мг/кг. Механический компонент КРП моделировали путем кругового иссечения кожи и подкожной клетчатки спины, площадью 7–10% поверхности тела [20, 21].

В работе использовали филграстим – препарат Зарсио® (гранулоцитарный колониестимулирующий фактор), производства IDT Biologika (Германия), раствор для внутривенного и подкожного введения, 30 млн ЕД (0,300 мг) в 0.5 мл. Препарат вводили мышам подкожно в дозе 5 мкг/кг (0.1 мкг/мышь), ежедневно 1 раз в 12 ч в течение 10 сут после облучения. В качестве средства, повышающего устойчивость организма к действию ИИ, выбран нафазолин – радиопротектор из группы имидазолинов, α 2-адреномиметик (ФГУП “Московский эндокринный завод”, Россия) [22]. Препарат вводили внутрибрюшинно однократно в виде водного раствора в дозе 5 мг/кг за 15 мин до облучения. В качестве растворителя использовали воду для инъекций производства ООО “Гротекс” (Россия), а также в качестве “плацебо” для введения животным контрольной группы.

Эффективность препаратов оценивали по их влиянию на выживаемость и среднюю продолжительность жизни (СПЖ) павших животных. Количество лейкоцитов в периферической крови определяли с помощью автоматического гемонализатора Abacus Junior (Австрия). Пробы крови забирали после декапитации в количестве 0.3–0.4 мл в микропробирку, содержащую ЭДТА. Определение гематологических показателей осуществляли непосредственно после взятия крови.

Влияние лекарственных препаратов на постлучевое изменение костномозгового кроветворения оценивали путем определения количества миелокариоцитов в костном мозге на 9-е сутки после облучения. Для забора костного мозга животных подвергали декапитации. Извлекали бедренную кость, срезали ее проксимальный конец до вскрытия костномозгового канала. Готовили суспензию клеток, смешивая в пробирке 0.02 мл пунктата с 0.4 мл 3%-ного раствора ледяной уксусной кислоты. Содержание миелокариоцитов во взвеси определяли в камере Горяева [23, 24].

Колониеобразующую способность стволовых кроветворных клеток костного мозга оценивали с использованием методики эндогенного колониобразования. Подсчет выросших на селезенке мышей колониобразующих единиц (КОЕс) осуществляли на 9-е сутки после облучения животных. Извлеченные селезенки взвешивали, фиксировали в жидкости Буэна и подсчитывали число эндогенных колоний [25, 26].

Полученные данные подвергали математической обработке методами вариационной стати-

стики [27, 28]. Достоверность различий при сравнении независимых групп оценивали с использованием критерия Манна–Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Установлено, что облучение в дозе 6 Гр вызывало гибель 50% экспериментальных животных при СПЖ 17.1 ± 3.2 сут. Механическая рана существенно отягощала течение ОРП. Выживаемость животных в условиях КРМП составляла 30%, при СПЖ – 14.1 ± 1.2 сут. Курсовое применение филграстима (Г-КСФ) оказывало положительное влияние на течение и исход КРМП и способствовало увеличению выживаемости экспериментальных животных в 1.7 раза (до 50%), с увеличением СПЖ более чем на 4 сут (в среднем – 18.5 ± 1.6 сут). Изолированное введение нафазолина мышам с КРМП способствовало снижению числа случаев постлучевой гибели экспериментальных животных в 2 раза, СПЖ возрастала с 14.1 ± 1.2 сут до 16.3 ± 3.3 сут.

В то же время терапевтическое применение Г-КСФ в условиях однократного профилактического введения нафазолина оказывало более выраженное влияние на выживаемость подопытных мышей, способствуя увеличению количества благоприятных исходов в 2.6 раза (до 80%). Средняя продолжительность жизни павших животных в течение 30 сут после воздействия при этом возрастала в 1.6 раза и составила 22.2 ± 4.9 сут по сравнению с контрольной группой животных, не получавших препараты.

Оценку влияния препаратов на постлучевое восстановление кроветворения проводили посредством анализа изменения значений гематологических показателей периферической крови облученных животных, а также с помощью метода эндогенного колониеобразования на селезенке.

Полученные результаты свидетельствуют, что КРМП приводит к развитию более глубокой степени лейкопении, что обусловлено повышением потребления лейкоцитов в результате развития местной и системной воспалительной реакции. Как видно из табл. 1, облучение вызывало снижение числа лейкоцитов периферической крови по сравнению со значениями, зарегистрированными до облучения: к 3-м суткам – в 3.9 раза ($8.2 \pm 1.9 \times 10^9/л$ до $2.1 \pm 0.8 \times 10^9/л$), к 7-м суткам – в 12 раз (до $0.7 \pm 0.3 \times 10^9/л$). С 14-м суткам исследования количество лейкоцитов начинало восстанавливаться и к 21-м суткам достигало $6.2 \pm 2.0 \times 10^9/л$, что, тем не менее, оставалось в 1.3 раза ниже, чем до облучения.

В условиях КРМП снижение числа лейкоцитов было более выраженным, чем при изолированном воздействии ИИ. Так, через 3 сут после облучения количество лейкоцитов у животных с

Таблица 1. Влияние сочетанного применения нафазолина и Г-КСФ на выживаемость и СПЖ при КРМП ($n = 10, M \pm m$)

Table 1. The effectiveness of naphazoline and G-CSF co-administration survival and MST in CRMI ($n = 10, M \pm m$)

Экспериментальная группа	Выживаемость, %	СПЖ, сут
Облучение	50 ± 16	17.1 ± 3.2
КРМП (Контроль)	30 ± 15	14.1 ± 1.2
КРМП + Г-КСФ	50 ± 16	$18.5 \pm 1.6^*$
Нафазолин + КРМП	60 ± 14	16.3 ± 3.3
Нафазолин + КРМП + Г-КСФ	$80 \pm 13^*$	$22.2 \pm 4.9^*$

* Различия достоверны ($p < 0.05$) по сравнению с группой “Контроль”.

КРМП было почти в 2 раза ниже по сравнению со значением данного показателя у животных, которым не наносили механической раны. На 7-е сутки после КРМП наблюдали дальнейшее прогрессирование постлучевой лейкопении (до $0.3 \pm 0.1 \times 10^9/л$) с сохранением вышеописанных различий между группами. В последующие сроки наблюдения у животных всех экспериментальных групп имело место постепенное восстановление количества лейкоцитов в периферической крови. Однако содержание лейкоцитов в периферической крови у животных с КРМП оставалось к 14-м суткам – в 2 раза, а к 21-м суткам – в 1.5 раза ниже по сравнению со величинами, полученными у животных с изолированным облучением.

Курсовое введение препарата филграстим животным с КРМП способствовало менее выраженному снижению числа лейкоцитов в ранние сроки исследования (по сравнению с животными контрольной группы в 3 раза на 3-и сутки и в 7.6 раза на 7-е сутки), а также скорейшему восстановлению числа клеток в последующем (табл. 2).

При применении нафазолина динамика изменения числа лейкоцитов у подопытных животных с механической раной соответствовала таковой при курсовом применении Г-КСФ, хотя восстановление кроветворения у мышей, которым вводили радиопротектор, происходило медленнее. Установлено, что к 3-м суткам число лейкоцитов у мышей, получавших нафазолин, было почти в 3 раза, а к 7-м суткам – в 6 раз выше, чем у контрольных животных, с постепенным нивелированием вышеуказанных различий к 21-м суткам наблюдения.

Сочетанное применение нафазолина и филграстима у облученных мышей с КРМП обеспечивало защиту клеток “белой” крови, проявляющуюся в менее выраженном снижении числа лейкоцитов, относительно группы Контроль. Минимальные значения показателя зарегистрированы на 7-е сут-

Таблица 2. Влияние сочетанного применения нафазолина и Г-КСФ на количество лейкоцитов периферической крови, при КРМП ($n = 12, M \pm m$)

Table 2. The effect of naphazoline and G-CSF co-administration on peripheral blood leukocytes in CRMI ($n = 12, M \pm m$)

Экспериментальная группа	Количество лейкоцитов, $\times 10^9$ /л, на срок наблюдения				
	фон (до облучения)	3 сут	7 сут	14 сут	21 сут
Облучение	8.2 \pm 1.9	2.1 \pm 0.8 [#]	0.7 \pm 0.3 [#]	3.0 \pm 1.8	6.2 \pm 2.0
КРМП (Контроль)		0.9 \pm 0.3 [#]	0.3 \pm 0.1 [#]	1.5 \pm 0.4 [#]	3.9 \pm 1.2
КРМП + Г-КСФ		2.8 \pm 1.4 [#]	2.3 \pm 1.4 [#]	3.6 \pm 1.5	6.0 \pm 2.1
Нафазолин + КРМП		2.6 \pm 1.5 [#]	1.8 \pm 0.7 [#]	2.4 \pm 0.7 [#]	4.4 \pm 1.5
Нафазолин + КРМП + Г-КСФ		4.3 \pm 1.5*	3.9 \pm 1.5*	5.7 \pm 2.1	7.3 \pm 1.7

* Различия достоверны ($p < 0.05$) по сравнению с группой “Контроль”; # различия достоверны ($p < 0.05$) по сравнению с фоновыми значениями (до облучения).

ки и составляли 47.5% от фона (до облучения). В последующих исследованиях у мышей данной группы было зарегистрировано более интенсивное, по сравнению с контролем, восстановление уровня лейкоцитов периферической крови, и к 21-м суткам значение показателя у них было лишь в 1.1 раза ниже, чем до облучения.

Исследование эндогенного колониобразования показало, что масса селезенки у мышей с КРМП соответствовала таковой у облученных животных (табл. 3). Курсовое применение Г-КСФ способствовало незначительному увеличению массы органа относительно значений показателя у контрольной группы мышей с КРМП. Применение нафазолина также не оказывало существенного влияния на изменение массы селезенки.

Наибольшие значения массы селезенки выявлены у мышей, составляющих группу с КРМП, получавших нафазолин и Г-КСФ. В среднем значение показателя у мышей данной группы было

выше, чем у облученных животных в 1.3 раза, и в 1.2 раза выше, чем у животных с КРМП, не получавших лечение.

При подсчете количества эндогенных колоний, образовавшихся на поверхности селезенки, установлено, что у животных групп “Облучение” и “КРМП (контроль)” их число составило в среднем 10 и 9 абс. ед. соответственно. Профилактическое применение нафазолина в группе животных с КРМП не оказывало существенного влияния на данный показатель. Тем не менее курсовое применение Г-КСФ после КРМП вызывало прирост числа образовавшихся колоний в 1.5 раза, тогда как при сочетанном применении нафазолина и Г-КСФ отмечено более чем двукратное увеличение их числа (в 2.4 раза по сравнению с животными контрольной группы с КРМП), что свидетельствует о выраженном позитивном влиянии данной комбинации препаратов на постлучевое восстановление кроветворения (табл. 3).

При оценке влияния препаратов на количество миелокариоцитов в костном мозге выявлено, что количество клеток у облученных мышей составляло в среднем $389.7 \pm 39.2 \times 10^9$ /л, у животных с КРМП – в 1.2 раза меньше ($311.1 \pm 47.4 \times 10^9$ /л). При применении нафазолина или препарата Г-КСФ количество миелокариоцитов у животных с КРМП увеличивалось – в 1.3 и 2.5 раза соответственно по сравнению с группой Контроль. В условиях сочетанного применения препаратов отмечали увеличение числа клеток в 3.7 раза (до $1146.7 \pm 86.9 \times 10^9$ /л), что свидетельствует об их выраженном позитивном влиянии на гемопоэз у животных с КРМП (табл. 4).

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют, что при КРМП терапевтическое применение Г-КСФ, при условии однократного профилактического применения нафазолина, обладает более выраженной специфической активностью, по сравнению эффектом изолирован-

Таблица 3. Влияние сочетанного применения нафазолина и Г-КСФ на показатели экстрамедуллярного кроветворения при КРМП ($n = 10, M \pm m$)

Table 3. The effect of naphazoline and G-CSF co-administration on extramedullar hemapoiesis' parameters in CRMI ($n = 10, M \pm m$)

Экспериментальная группа	Вес селезенки, мг	Количество КОЕс, абс. ед.
Облучение	36.8 \pm 4.1	10 \pm 2
КРМП (Контроль)	38.7 \pm 7.5	9 \pm 3
КРМП + Г-КСФ	41.3 \pm 10.5	15 \pm 6
Нафазолин + КРМП	39.6 \pm 11.7	11 \pm 4
Нафазолин + КРМП + Г-КСФ	47.3 \pm 10.6	22 \pm 5*

* Различия достоверны ($p \leq 0.05$) по сравнению с группой “Контроль”.

Таблица 4. Влияние применения нафазолина и Г-КСФ на количество миелокариоцитов в костном мозге мышей на 9-е сутки после КРМП ($n = 10, M \pm m$)

Table 4. The effect of naphazoline and G-CSF co-administration on myelocariocyte count in mice bone-marrow for 9 days in CRMI ($n=10, M \pm m$)

Экспериментальная группа	Количество миелокариоцитов, 10^9 /л
Облучение	389.7 ± 39.2
КРМП (Контроль)	311.1 ± 47.4
КРМП + Г-КСФ	$768.5 \pm 52.9^*$
Нафазолин + КРМП	405.9 ± 41.1
Нафазолин + КРМП + Г-КСФ	$1146.7 \pm 86.9^*$

* Различия достоверны ($p \leq 0.05$) по сравнению с группой "Контроль".

ного применения изучаемых фармакологических средств.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты настоящего исследования свидетельствуют о развитии у облученных животных с механической раной панцитопении, одним из ведущих механизмов которой является угнетение "белого" ростка кроветворения. Эти данные согласуются с имеющимися в литературе сведениями о том, что подавление функциональной активности системы кроветворения является одним из важнейших звеньев патогенеза лучевого поражения организма, в том числе при КРП, в значительной степени определяющим характер течения и исход поражения [2, 29].

Одним из перспективных направлений повышения эффективности борьбы с миелодепрессией лучевой этиологии является применение Г-КСФ, механизм действия которого направлен на стимуляцию восстановления костномозгового кроветворения, преимущественно за счет регуляции процессов пролиферации, дифференцировки и созревания миелоидных предшественников нейтрофильных гранулоцитов [15, 30–32].

Как показали проведенные исследования, КРМП приводит к гибели 70% животных, тогда как выживаемость мышей, получавших курсовое лечение Г-КСФ, к 30-м суткам наблюдения составила 50%. При этом у данной группы животных значение СПЖ возрастало на 4.4 сут по сравнению с контролем. Нафазолин, при введении за 15 мин до облучения, повышал выживаемость животных на 30%, а СПЖ на – 2.2 сут. Важно отметить, что сочетанное применение радиопротектора нафазолина и филграстима оказывало более выраженное положительное влияние на выживаемость экспериментальных мышей, уве-

личивая количество благоприятных исходов на 50% (до 80%), а СПЖ – на 8.1 сут (до 22.2 сут).

Нарушения, вызванные КРМП, существенным образом модифицируют адаптационную реакцию организма. Так, при исследовании количества лейкоцитов периферической крови установлено, что нанесение механической травмы одновременно с облучением не приводило к характерному для травмированных животных лейкоцитозу. В течение первых трех суток после КРМП количество лейкоцитов в крови не превышало 0.9×10^9 /л, а в последующие сроки снижалось до 0.3×10^9 /л. Число лейкоцитов при КРМП было ниже по сравнению с изолированным облучением, что, вероятно, связано с мобилизацией пула сохранившихся после облучения циркулирующих лейкоцитов в зону повреждения [33].

Применение препаратов и их комбинации оказывало положительный эффект на клетки периферической крови мышей с КРМП, что проявлялось в снижении в ранние сроки после комбинированного поражения выраженности пострадиационной лейкопении (в 6–13 раз) за счет благоприятного влияния на динамику восстановления числа лейкоцитов. Анализ числа лейкоцитов в периферической крови леченных мышей с КРМП свидетельствует об активации гемопоэза, вероятно, обусловленной повышением выживаемости стволовых клеток в лимфоидных органах, в частности в селезенке, что может быть связано с изменением соотношения активности костномозгового и селезеночного кроветворения.

Исследуемые фармакологические средства оказывали корригирующее действие на выход эндогенных колоний и прирост массы селезенки. Так, на 9-е сутки после КРМП у леченых животных, получавших Г-КСФ, масса селезенки была в 1.1 раза, а количество КОЕс в 1.7 раза больше, чем в группе контроля. Сопоставимые значения показателей были получены и у мышей с КРМП, получавших нафазолин. Однако профилактическое применение нафазолина с последующим курсовым введением Г-КСФ обеспечивало прирост массы селезенки в 1.3 раза и более чем двукратное увеличение числа КОЕс, что свидетельствует о выраженном позитивном влиянии данной комбинации препаратов на восстановление костномозгового кроветворения. Анализ зависимости массы селезенки от количества КОЕс позволяет интерпретировать полученные результаты с точки зрения пролиферативной активности стволовых клеток, формирующих колонии. Увеличение массы органа может свидетельствовать о повышении пролиферативной активности стволовых клеток, а также об увеличении выживаемости последних.

Вероятно, что один из механизмов действия Г-КСФ на фоне применения нафазолина опосре-

дован стимуляцией миграции части выживших под влиянием радиопротектора клеток из костного мозга в селезенку. Этот факт объясняет увеличение при применении препарата числа КОЕс, а также клеточности костного мозга и периферической крови [34].

Полученные результаты свидетельствуют, что препарат Г-КСФ и его комбинация с нафазолином являются перспективными для коррекции нарушений, вызванных комбинированным радиационным поражением, и требуют более детального изучения.

ВЫВОДЫ

1. В условиях изолированного применения препараты филграстим и нафазолин способствуют повышению выживаемости мышей, подвергнутых КРМП, увеличивая значение показателя по сравнению с контролем на 20 и 30% соответственно. Кроме того, препараты способствуют увеличению количества лейкоцитов (на 3-и сутки ~ в 3 раза, на 7-е ~ в 6.5 раза), КОЕс (Г-КСФ – 1.7 раза, нафазолин – 1.2 раза), миелокариоцитов (Г-КСФ – 2.5 раза, нафазолин – 1.3 раза).

2. Сочетанное введение препаратов (нафазолин за 15 мин до облучения и филграстим ежедневно 1 раз в 12 ч в течение 10 сут после воздействия) оказывало более значимый корректирующий эффект на исход КРМП, чем изолированное применение, и обеспечивало увеличение выживаемости облученных животных с травмой на 50%, прирост количества лейкоцитов в ранние сроки (на 3-и сутки ~ в 5 раз, на 7-е сутки ~ в 13 раз) способствовал увеличению образования КОЕс в 2.4 раза и миелокариоцитов – в 3.7 раза.

3. Лечебный эффект комплексного применения препаратов при КРМП обусловлен его влиянием на баланс костномозгового и селезеночного кроветворения. Так, сочетанное применение нафазолина с Г-КСФ обеспечивает прирост массы селезенки на 20% и увеличение числа КОЕс на 60% по сравнению с группой Контроль.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Лебеза В.И., Гребенюк А.Н., Бояринцев В.В.* Комбинированные радиационные поражения и их компоненты. СПб.: Фолиант, 2015. 216 с. [*Lebez V.I., Grebenyuk A.N., Boyarincev V.V.* Kombinirovanny'e radiacionny'e porazheniya i ih komponenty'. SPb.: Foliant, 2015. 216 p. (In Russ.)]
2. *Хоруженко А.Ф.* Комбинированные радиационные поражения при чрезвычайных ситуациях мирного и военного времени // Стратегия гражданской защиты: проблемы и исследования. 2014. Т. 4. № 1. С. 310323. [*Khoruzhenko A.F.* Kombinirovanny'e radiacionny'e porazheniya pri chrezvy'chajny'h situatsiyah mirnogo i voennogo vremeni. Strategiya grazhdanskoj
3. *Galstyan I.A., Suvorova L.A., Nadezhina N.M. et al.* Состояние крови в отдаленном периоде острой лучевой болезни // Саратовский науч.-мед. журн. 2013. Т. 9. № 4. С. 882–890. [*Galstyan I.A., Suvorova L.A., Nadezhina N.M. et al.* Blood status in the long-term radiation syndrome // Saratov Journal of Medical Scientific Research. 2013. V. 9. № 4. P. 882–890. (In Russ.)]
4. *Заветная Г.Л., Берлакова Т.И., Ершова И.Н. и др.* Приоритетные направления научных исследований по проблеме травматического шока // Травма, шок, травматическая болезнь: Республ. сб. науч. тр. СПб., 1993. С. 143–151. [*Zavetnaya G.L., Berlakova T.I., Ershova I.N. et al.* Prioritetny'e napravleniya nauchny'h issledovanij po probleme travmaticheskogo shoka // Travma, shok, travmaticheskaya bolezny': Respubl. sb. nauch. tr. (Conf. proc.). SPb., 1993. P. 143–151. (In Russ.)]
5. *Бритун А.И., Будагов Р.С., Вагнер Е.А. и др.* Комбинированные радиационные поражения: патогенез, клиника, лечение. М.: Медицина, 1992. 288 с. [*Britun A.I., Budagov R.S., Vagner E.A. et al.* Kombinirovanny'e radiacionny'e porazheniya: patogenez, klinika, lechenie. M.: Medicina, 1992. 288 p. (In Russ.)]
6. *Мамотюк Е.М.* Особенности течения восстановительных процессов в организме при комбинированных радиационных поражениях // Экспериментальная и клинич. радиология: Респ. междувед. сб. Киев, 1982. С. 3–7. [*Mamotyuk E.M.* Osobennosti techeniya vosstanovitel'ny'h processov v organizme pri kombinirovanny'h radiacionny'h porazheniyah. E'ksperimental'naya i klinich. radiologiya: Resp. mezhdved. sb. (Conf. proc.) Kiev, 1982. P. 3–7. (In Russ.)]
7. *Cheng T.* Combined Radiation-Burn Injury. Chinese Burn Surgery. Dordrecht: Springer, 2015. P. 313–351. https://doi.org/10.1007/978-94-017-8575-4_13
8. *Будагов Р.С., Ульянова Л.П.* Некоторые последствия системной воспалительной реакции в патогенезе отягощения исходов комбинированных радиационно-термических поражений // Радиационная биология. Радиоэкол. 2005. Т. 45. № 2. С. 191–195. [*Budagov R.S., Ulianova L.P.* Some consequences of systemic inflammatory response in the pathogenesis of aggravation of outcomes of combined radiation and thermal injuries // Radiation Biology. Radioecology. 2005. V. 45. № 2. P. 191–195. (In Russ.)]
9. *Гладких В.Д., Баландин Н.В., Башарин В.А. и др.* Состояние и перспективы развития средств профилактики и лечения радиационных поражений. М.: Комментарий, 2017. 304 с. [*Gladkih V.D., Balandin N.V., Basharin V.A., et al.* Sostoyanie i perspektivy razvitiya sredstv profilaktiki i lecheniya radiacionny'h porazhenij. M.: Kommentarij, 2017. 304 p. (In Russ.)]
10. *Гребенюк А.Н., Гладких В.Д.* Современное состояние и перспективы разработки лекарственных средств для профилактики и ранней терапии радиационных поражений // Радиационная биология. Радиоэкология. 2019. Т. 59. № 2. С. 132–149. [*Grebenyuk A.N., Gladkikh V.D.* Modern condition and prospects for development of medicines for prevention and early treat-

- ment of radiation injures // *Radiation Biology. Radioecology*. 2019. V. 59. № 2. P. 132–149. (In Russ.)] <https://doi.org/10.1134/S0869803119020085>
11. *Ran X., Shi Ch., Zheng H. et al.* Experimental research on the management of combined radiation-burn injury in China // *Radiat. Res.* 2011. V. 175. № 3. P. 382–389. <https://doi.org/10.1667/RR2198.1>
 12. *DiCarlo A.L., Hatchett R.J., Kaminski J.M. et al.* Medical Countermeasures for Radiation Combined Injury: Radiation with Burn, Blast, Trauma and/or Sepsis. Report of an NIAID Workshop, March 26–27, 2007 // *Radiat. Res.* 2008. V. 169. № 6. P. 712–721. <https://doi.org/10.1667/RR1295.1>
 13. *Mendoza A.E., Neely C.J., Charles A.G. et al.* Radiation combined with thermal injury induces immature myeloid cells // *Shock*. 2012. V. 38. № 5. P. 532–542. <https://doi.org/10.1097/SHK.0b013e31826c5b19>
 14. *Чеснакова Е.А., Филимонова М.В., Макачук В.М. и др.* Ингибиторы NOS как средства профилактики и терапии комбинированных радиационно-термических поражений // *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2019. Т. 59. № 2. С. 200–204. [*Chesnakhova E.A., Filimonova M.V., Makarchuk V.M. et al.* NOS inhibitors as agents for prevention and therapy of combined radiation-thermal injuries // *Radiation Biology. Radioecology*. 2019. V. 59. № 2. P. 132–149. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.1134/S0869803119020036>
 15. *Hofer M., Pospíšil M., Komůrková D. et al.* Granulocyte colony-stimulating factor in the treatment of acute radiation syndrome: a concise review // *Molecules*. 2014. V. 19. № 4. P. 4770–4778. <https://doi.org/10.3390/molecules19044770>
 16. *Dainiak N.* Rationale and recommendations for treatment of radiation injury with cytokines // *Health Phys.* 2010. V. 98. № 6. P. 838–842. <https://doi.org/10.1097/HP.0b013e3181b3fce5>
 17. *Гребенюк А.Н., Легеца В.И., Тарумов Р.А.* Радиомитигаторы: перспективы использования в системе медицинской противорадиационной защиты // *Воен.-мед. журн.* 2014. № 6. С. 39–43 [*Grebenyuk A.N., Legezha V.I., Tarumov R.A.* Radiomitigators: prospects for use in medical radiation protection // *Mil. Med. J.* 2014. № 6. P. 39–43. (In Russ.)]
 18. *Халимов Ю.Ш., Гребенюк А.Н., Легеца В.И. и др.* Современное состояние и перспективы совершенствования специализированной медицинской помощи при остром костномозговом синдроме радиационной этиологии // *Воен.-мед. журн.* 2013. № 1. С. 25–32. [*Khalimov Yu.Sh., Grebenyuk A.N., Legezha V.I. et al.* Modern condition and prospects of improvement of the specialized medical aid of acute marrow failure of radiant etiology // *Mil. Med. J.* 2013. № 1. P. 25–32. (In Russ.)]
 19. Директива 2010/63/EU Европейского парламента и совета европейского союза по охране животных, используемых в научных целях // *Rus-LASA, НП “Объединение специалистов по работе с лабораторными животными”, рабочая группа по переводам и изданию тематической литературы.* СПб., 2012. 48 с. [Direktiva 2010/63/EU Evropejskogo parlamenta i soвета evropejskogo soyuza po ohrane zhivotnyh, ispol'zuemyh v nauchnyh celyah // *Rus LASA, NP “Ob`edinenie specialistov po rabote s laboratorny`mi zhivotny`mi”, rabochaya gruppya po perevodom i izdaniyu tematicheskoy literatury`.* SPb., 2012. 48 p. (In Russ.)]
 20. Методические указания по отбору лекарственных средств и разработок на их основе новых методов лечения комбинированных радиационных поражений. Обнинск: Б.и., 1991. 13 с. [Metodicheskie ukazaniya po otboru lekarstvennyh sredstv i razrabotok na ih osnove novykh metodov lecheniya kombinirovannyh radiacionnyh porazhenij. Obninsk: B.i., 1991. 13 p. (In Russ.)]
 21. *Самохвалов И.М., Селезнёв А.Б., Носов А.М.* Способ моделирования комбинированного радиационно-механического поражения с возможностью применения тактики многоэтапного хирургического лечения // Патент РФ № 2628655. 2016. [*Samohvalov I.M., Seleznyov A.B., Nosov A.M.* Sposob modelirovaniya kombinirovannogo radiacionno-mehanicheckogo porazheniya s vozmozhnost'yu primeneniya takтики mnogoe'tapnogo hirurgicheskogo lecheniya // Patent RF № 2628655. 2016. (In Russ.)]
 22. *Владимиров В.Г., Красильников И.И., Арапов О.В.* Радиопротекторы: структура и функции. Киев: Наук. думка, 1989. 264 с. [*Vladimirov V.G., Krasil'nikov I.I., Arapov O.V.* Radioprotektory: struktura i funkicii. Kiev: Nauk. Dumka, 1989. 264 p. (In Russ.)]
 23. *Неменова Ю.М.* Методы лабораторных клинических исследований. М.: Медицина, 1972. 265 с. [*Nemenova Yu.M.* Metody laboratornyh klinicheskikh issledovaniy. M.: Medicina, 1972. 265 p. (In Russ.)]
 24. *Till J.E., McCulloch E.A.* A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells // *Radiat Res.* 1961. V. 14. P. 213–222. <https://doi.org/10.2307/3570892>
 25. Методические рекомендации по вопросам определения численности кроветворных колониеобразующих единиц (КОЕ) с помощью тестов экзогенных и эндогенных селезеночных колоний. Обнинск, 1975. 11 с. [Metodicheskie rekomendacii po voprosam opredeleniya chislennosti krovetvornykh kolonievobrazuyushhih edinic (KOE) s pomoshh'yu testov e'kzogennyh i e'ndogennyh selezenochnykh kolonij. Obninsk, 1975. 11 p. (In Russ.)]
 26. *Гребенюк А.Н., Башарин В.А., Бутомо Н.В. и др.* Практикум по военной токсикологии, радиобиологии и медицинской защите / Под ред. А.Н. Гребенюка. СПб.: Фолиант, 2013. 294 с. [*Grebenyuk A.N., Basharin V.A., Butomo N.V. i dr.* Praktikum po toksikologii i medicinskoj zashhit / Pod red. AN Grebenyuka. Sankt-Peterburg: Foliant, 2013. 294 p. (In Russ.)]
 27. *Гланц С.* Медико-биологическая статистика: Пер. с англ. М.: Практика, 1999. 459 с. [*Glantz S.* Primer of biostatistics. McGraw-Hill, 1994. 459 p. (In Russ.)]
 28. *Зубов Н.Н., Умаров С.З., Бунин С.А.* Математические методы и модели в фармацевтической науке и практике: Руководство для провизоров и руководителей фармацевтических предприятий (организаций). СПб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2008. 249 с. [*Zubov N.N., Umarov S.Z., Bunin S.A.* Matematicheskie metody i modeli v farmaceuticheskoy nauke i praktike: Rukovodstvo dlya provizorov i rukovoditelej far-

- macevticheskikh predpriyatij (organizacij). SPb.: Izd-vo Politehn. un-ta, 2008. 249 p. (In Russ.)]
29. *Владимиров В.Г., Прокофьев П.Б.* Синдром взаимного отягощения как важнейшая особенность комбинированных радиационных поражений // Воен.-мед. журн. 1993. № 4. С. 41–44. [*Vladimirov V.G., Prokofev P.B.* Sindrom vzaimnogo otyagoshheniya kak vazhnejshaya osobennost' kombinirovanny'h radiacionny'h porazhenij // Voен.-med. zhurn. 1993. № 4. P. 41–44. (In Russ.)].
 30. *Medhora M., Gasperetti T., Schamerhorn A. et al.* Wound Trauma Exacerbates Acute, but not Delayed, Effects of Radiation in Rats: Mitigation by Lisinopril // Int. J. Mol. Sci. 2020. V. 21. № 11. P. 3908. <https://doi.org/10.3390/ijms21113908>
 31. *Рождественский Л.М., Щёголева Р.А., Дешевой Ю.Б. и др.* Сравнительная оценка лечебной эффективности разных препаратов гранулоцитарного колониестимулирующего фактора в опытах на облученных мышцах // Радиационная биология. Радиоэкология. 2012. Т. 52. № 5. С. 503–509. [*Rozhdestvensky L.M., Schegoleva R.A., Deshevoi Yu.B. et al.* Comparison of different G-CSF treatment effectiveness in experiments on irradiated mice // Radiation Biology. Radioecology. 2012. V. 52. № 5. P. 503–509. (In Russ.)]
 32. *Yu Z.Y.* Rh G–CSF improves radiation–induced myelosuppression and survival in the canine exposed to fission neutron irradiation // J. Radiat. Res. (Tokyo). 2011. V. 52. № 4. P. 472–480. <https://doi.org/10.1269/jrr.10103>
 33. *Ульянова Л.П., Будагов Р.С.* Изменения в кроветворной системе и в концентрациях геморегуляторных цитокинов после острого облучения и комбинированного радиационно-термического поражения // Радиационная биология. Радиоэкология. 1997. Т. 37. № 2. С. 182–188. [*Ulyanova L.P., Budagov R.S.* Changes in the hematopoietic system and in the concentrations of blood-regulatory cytokines after acute irradiation and a combined radiation-thermal lesion // Radiation Biology. Radioecology. 1997. V. 37. № 2. P. 182–188. (In Russ.)]
 34. *Аклеев А.В., Шапошникова И.В., Чурилова И.А. и др.* Влияние препарата супероксиддисмутазы “Рексод” на число КОЕс у облученных мышцей // Радиационная биология. Радиоэкология. 2021. Т. 61. № 2. С. 158–166. [*Akleyev A.V., Shaposhnikova I.A., Churilova I.V. et al.* The influence of the superoxide dismutase preparation “Rexod®” on survival of CFUs in C57BL/6 mice // Radiation Biology. Radioecology. 2021. V. 61. № 2. P. 158–166. (In Russ.)] <https://doi.org/10.31857/S086980312102003X>

Experimental Study of the Effectiveness of the Naphazoline and Co-Administration of Filgrastim in Combined Radiation Injury

**D. B. Ponomarev^{a,#}, D. V. Remizov^a, A. Yu. Kondakov^a, I. S. Drachyov^a,
P. V. Tikhomirov^a, and V. S. Kudryashov^a**

^a State Scientific Research Test Institute of the Military Medicine Defense Ministry of the Russian Federation, St.-Petersburg, Russia

[#]E-mail: gniivm_2@mil.ru

The effects of drugs naphazoline and filgrastim, upon individual and co-administration, on the course and outcome of combined radiation-mechanical injury were examined in experimental studies in mice. In mice exposed to ionizing radiation at LD_{50/30} with a subsequent mechanical injury, naphazoline and filgrastim, upon individual administration, reduced the bone-marrow hemopoiesis impairment severity and hemopoietic cells' proliferative activity, contributing to survival increase by 20 and 30% correspondingly. Co-administration of naphazoline (prophylactically, 15 min preexposure) and filgrastim (during 10 days) has a significant protective effect under specified combined injury, characterized by a 50% survival increase, a reduced postradiational leukopenia severity, increased colony-formation and myelopoiesis.

Keywords: Granulocyte colony-forming factor, combined radiation-mechanical injury, naphazoline, ionizing radiation, acute radiation injury, filgrastim, endogenous colony-formation