



Международная конференция
«ПРОБЛЕМЫ ХИМИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ И РЕПАРАЦИИ
ПРИ РАДИАЦИОННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ»

Дубна, 30-31 мая 2018 г.



ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА «СЕМАКС» НА ПОКАЗАТЕЛИ ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ МЫШЕЙ ПРИ ЛУЧЕВОЙ ПАТОЛОГИИ

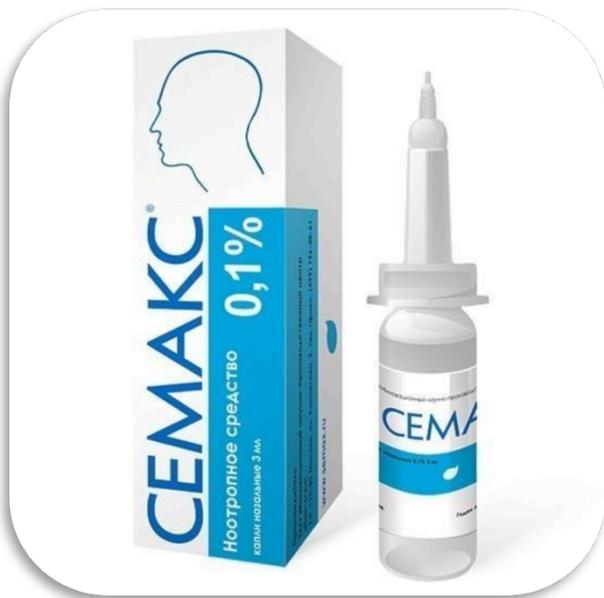
Ляхова К.Н., Колесникова И.А. , Северюхин Ю.С., Утина Д.М., Иванов А.А.

Объединенный Институт Ядерных Исследований
Лаборатория Радиационной Биологии

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Московской области
Университет «Дубна»

НЕЙРОПЕПТИД СЕМАКС

Семакс (метионил-глутамил-гистидил-фенилаланил-пролил-глицил-пролин) – синтетический гептапептид, аналог фрагмента АКТГ, лишенный гормональной активности



- улучшает консолидацию памяти после нейрохирургических вмешательств;
- влияет на процессы, связанные с формированием памяти и обучением;
- усиливает внимание при обучении и анализе информации
- улучшает адаптацию организма к гипоксии, церебральной ишемии, наркозу и другим повреждающим воздействиям
- используют для лечения и профилактики осложнений при астено-невротических расстройствах различной этиологии, в том числе обусловленных **ионизирующим излучением**.

ЗАДАЧИ

Оценить влияние официального препарата «Семакс» (капли назальные 0,1 %) на организм мышей по показателям:

- поведенческие реакции и сила скелетной мускулатуры
- течение острой лучевой болезни;
- морфологические изменения в сенсомоторной коре головного мозга мышей

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные

Аутбредные мыши самки ICR (CD-1), SPF-категории, массой 21-29 г., в возрасте 7-8 недель.



Тип излучения	Доза облучения на входе в замедлитель, Гр	Доза облучения (на центр тела), Гр
Протоны в пике Брэгга, 170 МэВ	1; 1,3	2,3; 3,0

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Необлученный контроль: необлученные (ложнооблученные) мыши

Основная (облученные мыши с введением «Семакса»):

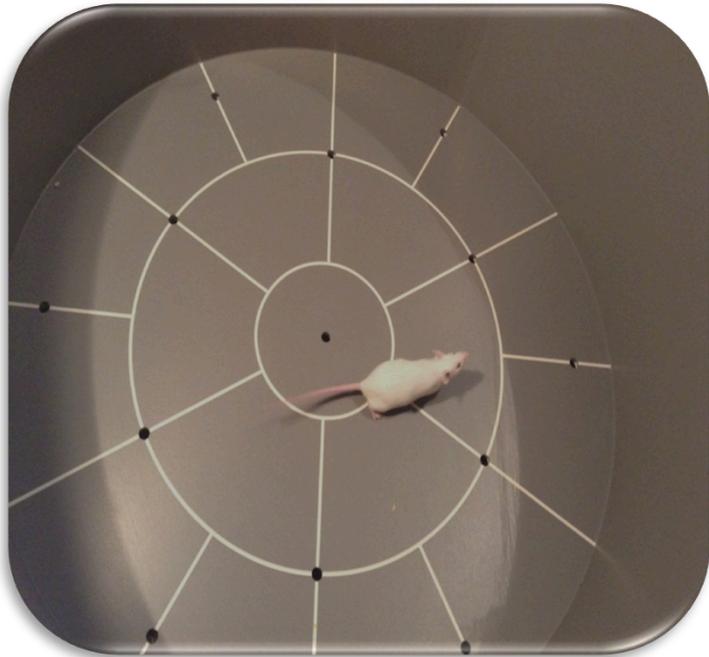
Вводили препарат Семакс 0,1% интраназально по 1 капле, через 2 ч после облучения, 3 раза в сутки в течение 7 суток



Облученный «контроль»:

Вводили кипяченую охлажденную воду интраназально по 1 капле, через 2 ч после облучения, 3 раза в сутки в течение 7 суток

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ



Параметры установки:

- диаметр – 63 см
- высота стенок – 32 см
- диаметр отверстий в полу – 1 см
- цвет арены – серый

Мышь в арене установки «Открытое поле» во время теста

Ориентировочно-исследовательская реакция (ОИР):

- Сектора
- Проход через центр арены
- Норковый рефлекс (заглядывание в круглое отверстие пола камеры)
- Стойки с упором и без упора

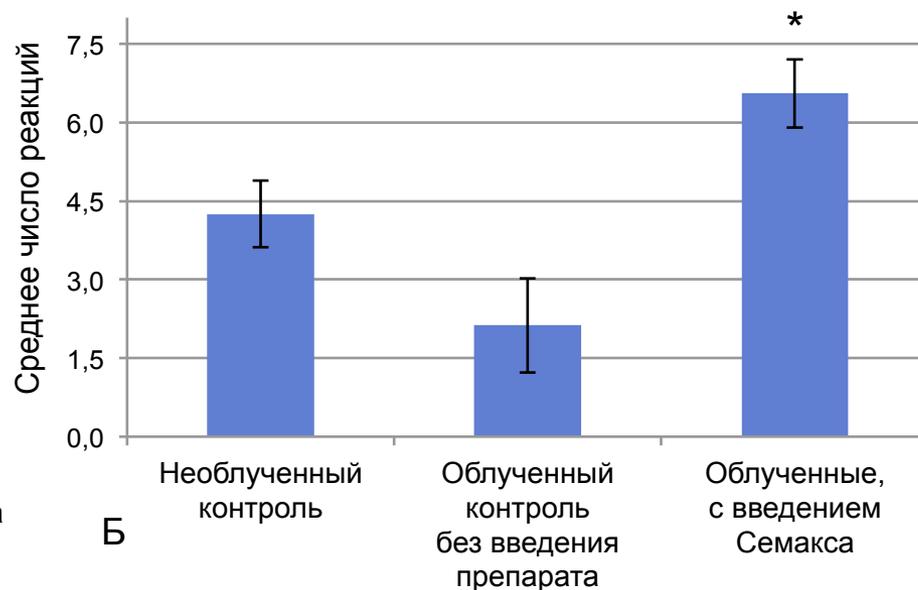
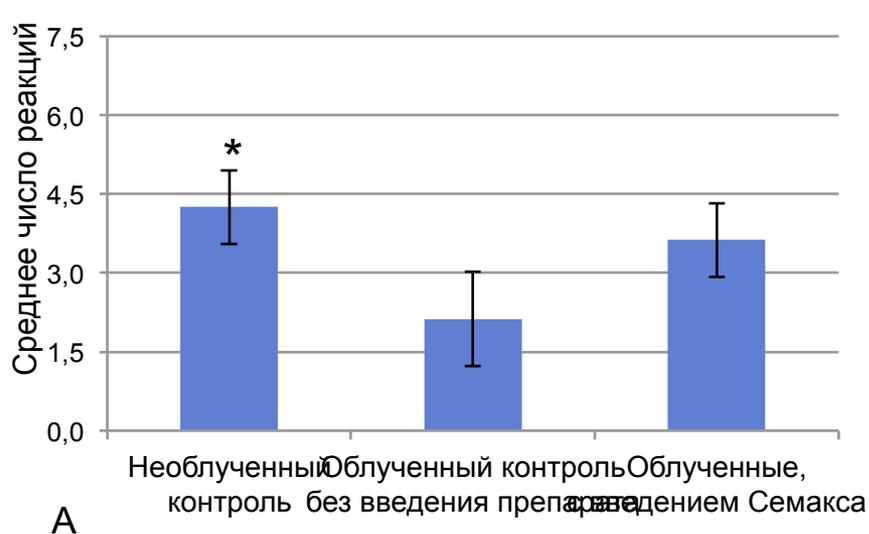
Эмоциональный статус (ЭС):

- Груминг
- Замирание
- Движение на месте

Время тестирования – 3 мин



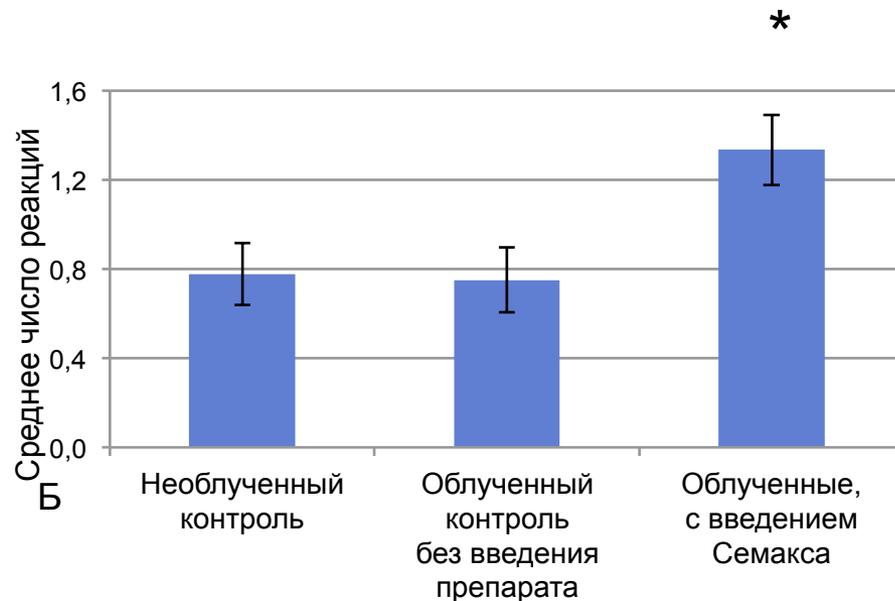
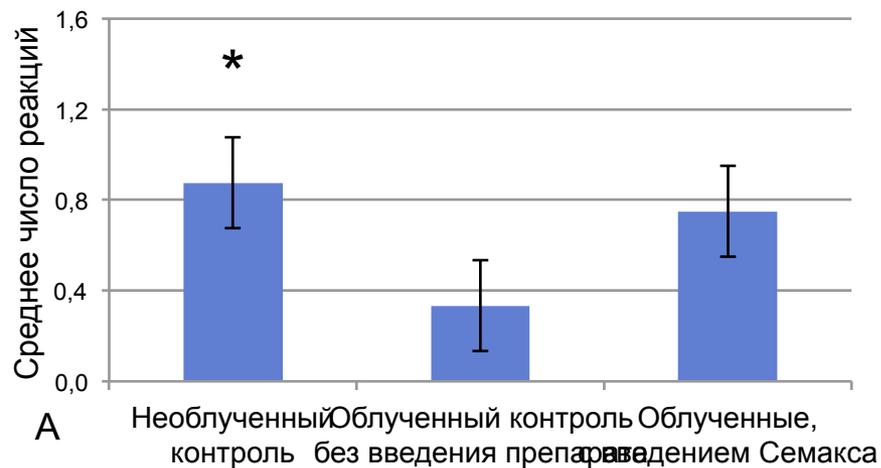
Число реакций выхода в центр мышей на 7 сутки после облучения протонами в дозе: А-2,3 Гр, Б- 3 Гр



Примечание.

* - Статистически значимые различия с группой «Облученный контроль» (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$).

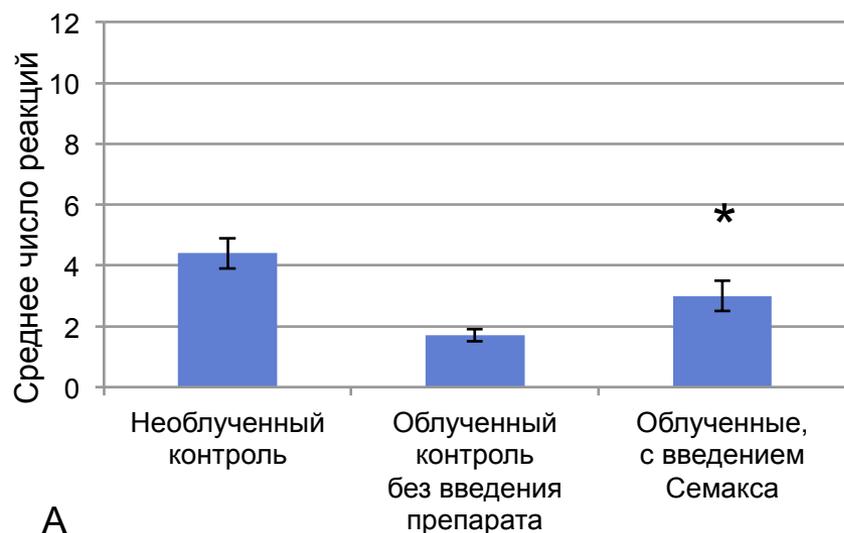
Число груминговых реакций мышей, облученных протонами в дозе: А – 2,3 Гр; Б – 3 Гр



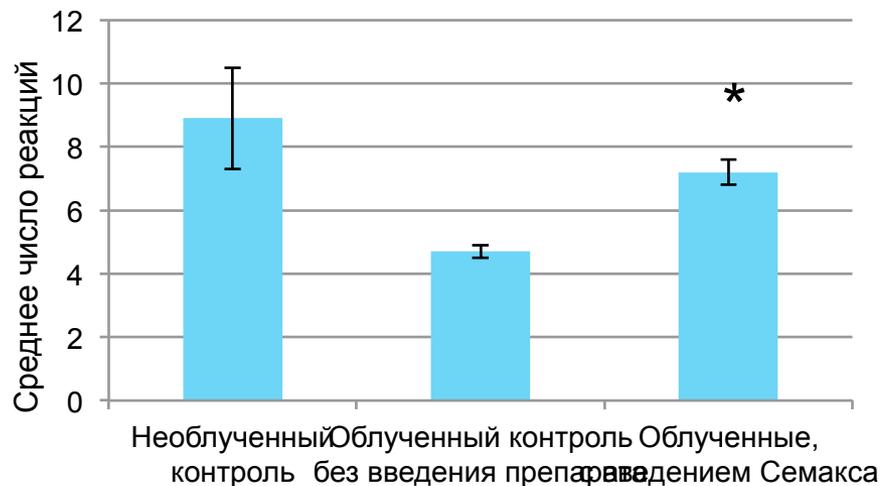
Примечание.

* – Статистически значимые различия с группой «Облученный контроль» (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$).

Показатель эмоционального статуса мышей на 7 сутки после облучения протонами в дозе: А – 2,3 Гр; Б – 3 Гр



А

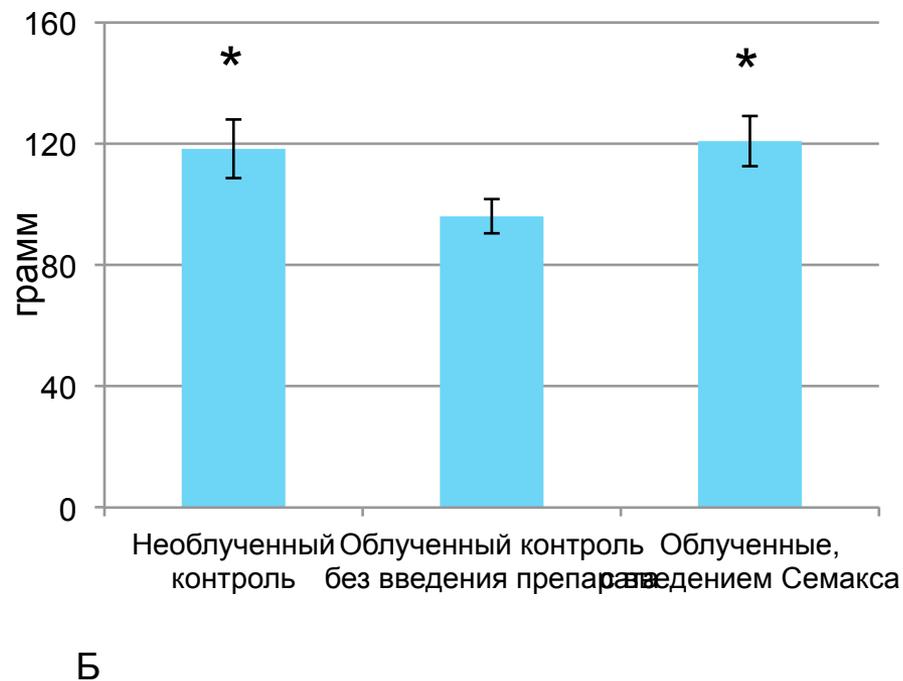
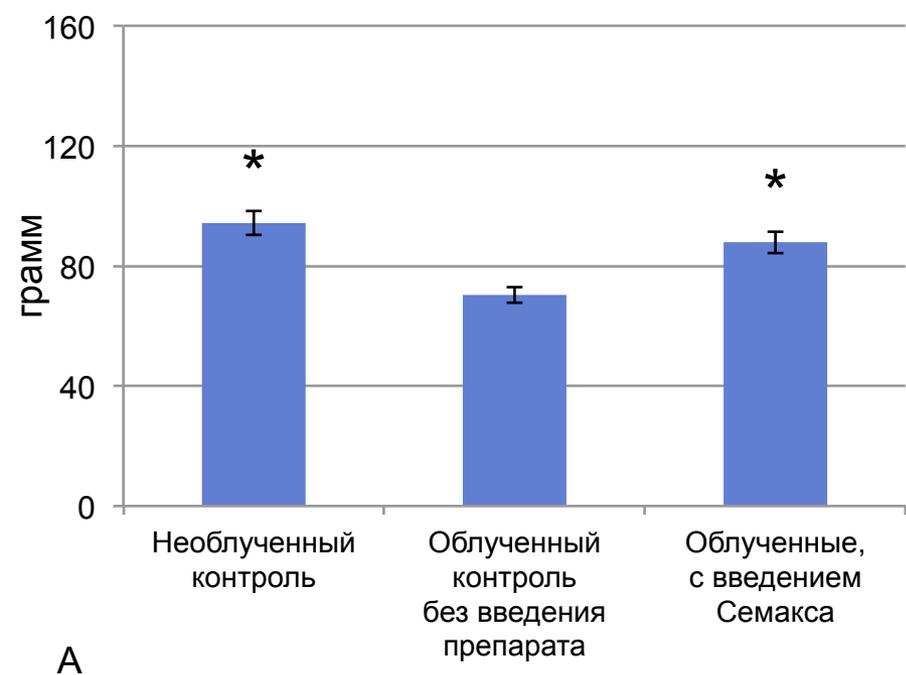


Б

Примечание.

* - Статистически значимые различия с группой «Облученный контроль» (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$).

Сила захвата скелетной мускулатуры мышц на 8 сутки после облучения протонами в дозе : А –2,3 Гр; Б –3 Гр



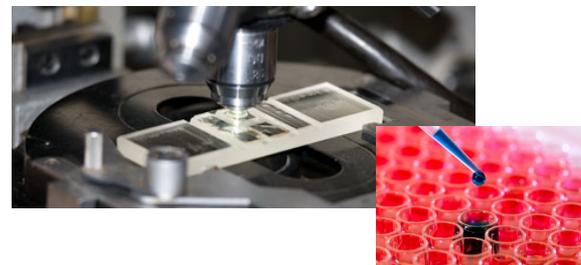
Примечание.

** - Статистически значимые различия с группой «Облученный контроль» (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$).*

Оценка влияния препарата «Семакс» на течение острой лучевой болезни у мышей

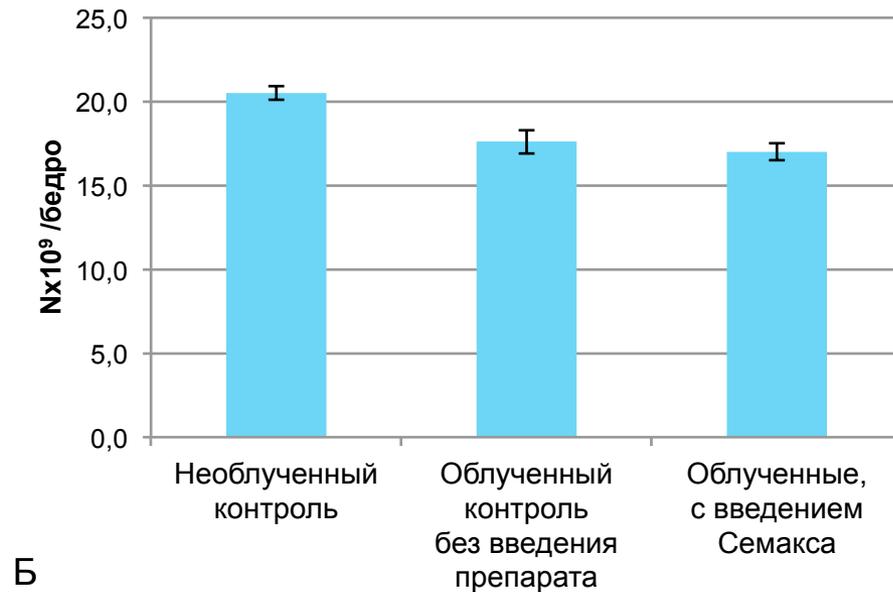
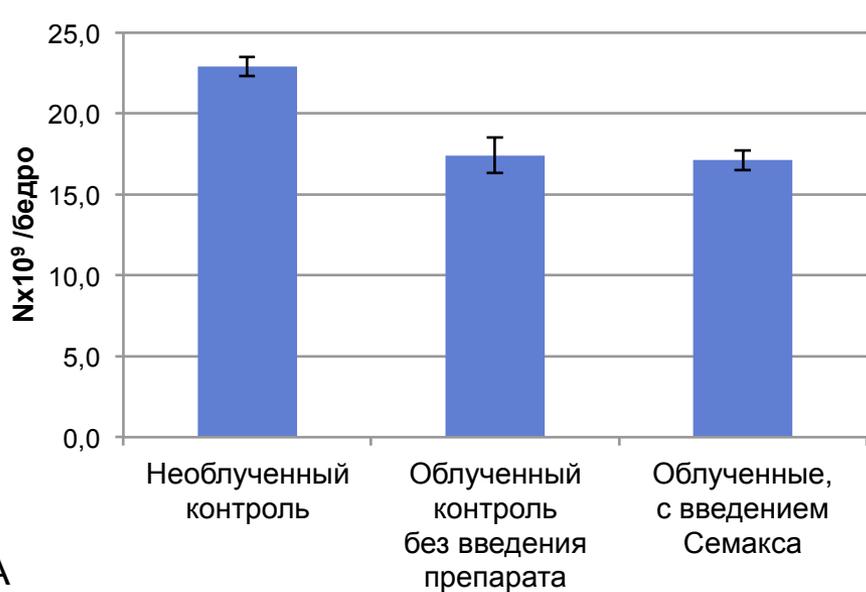
Оценка влияния препарата производилась по большинству исследованных традиционных радиобиологических показателей:

- масса тимуса и селезенки*
- число кардиоцитов в костном мозге*
- число лейкоцитов в периферической крови*



В исследовании была использована общепринятая методика подсчета числа кардиоцитов в костном мозге бедренной кости и числа лейкоцитов в периферической крови в камере Горяева.

Клеточность костного мозга мышей на 8 сутки после облучения протонами дозе:
А – 2,3 Гр; Б – 3 Гр.



МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЕНСОМОТОРНОЙ КОРЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА МЫШЕЙ

Приготовление препаратов по стандартной гистологической методике. Окраска крезил-виолетом по методу Ниссля.

Классификация нейронов по степени нарушений:

1. Нормохромные нейроны;
2. Морфо-функциональные и компенсаторно-приспособительные;
3. Дистрофические (с деструктивными нарушениями)

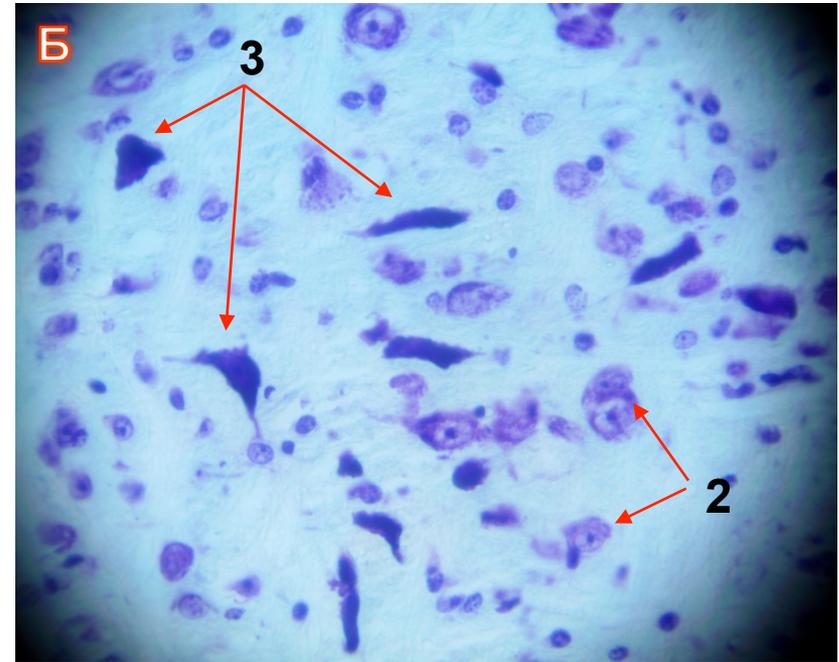
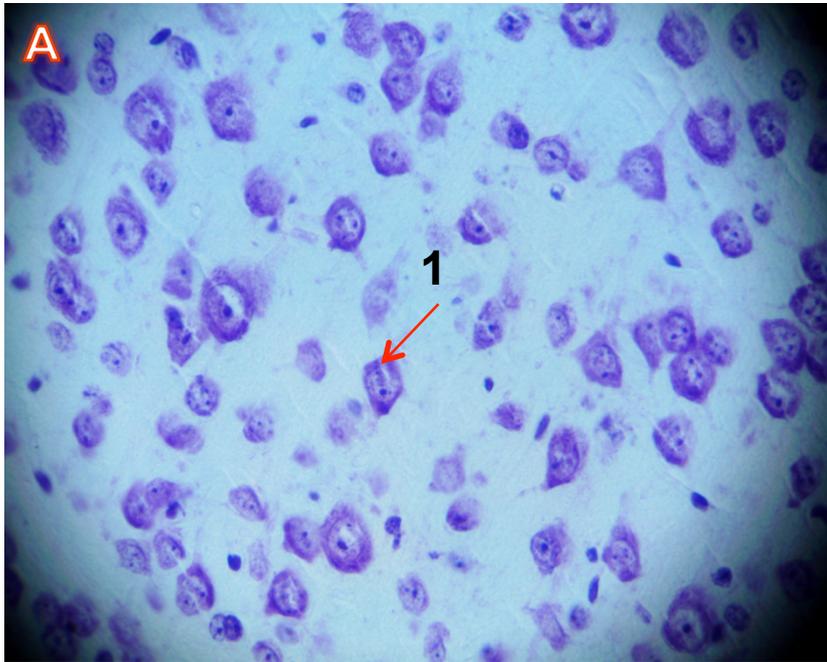
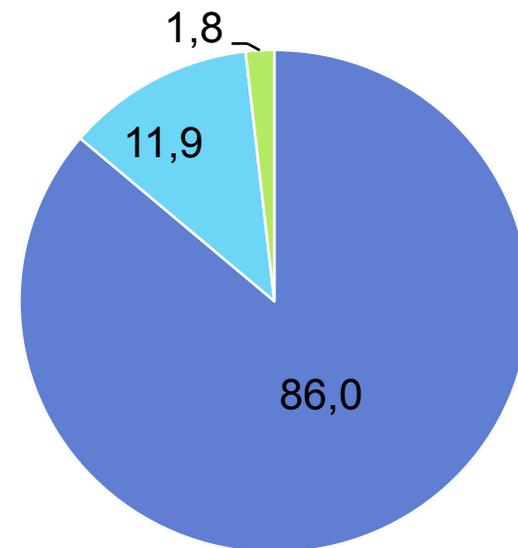
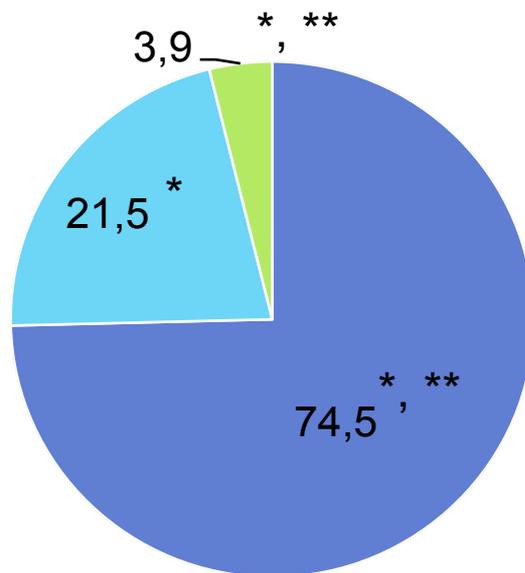
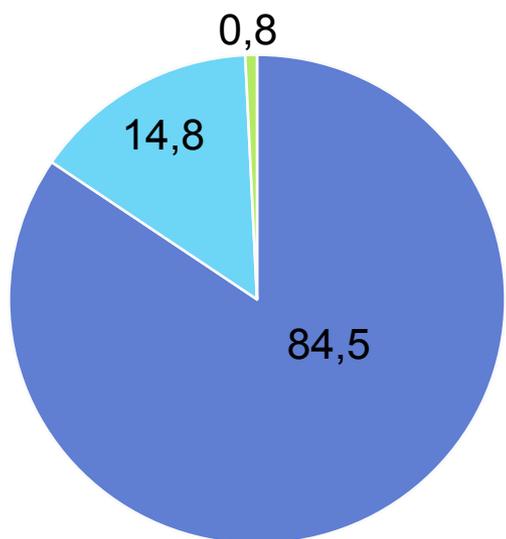


Фото *сенсомоторной коры*: а) препарат животного из группы необлученного контроля; б) препарат мыши из группы облученных, получавших кипяченую воду. Ув. 10 x 40

РЕЗУЛЬТАТЫ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ СЕНСОМОТОРНОЙ КОРЫ БОЛЬШОГО МОЗГА

- Нормохромный нейроны
- Морфо-функциональные и компенсаторно-приспособительные нейроны
- Дистрофические нейроны



№1 Необлученный контроль, %

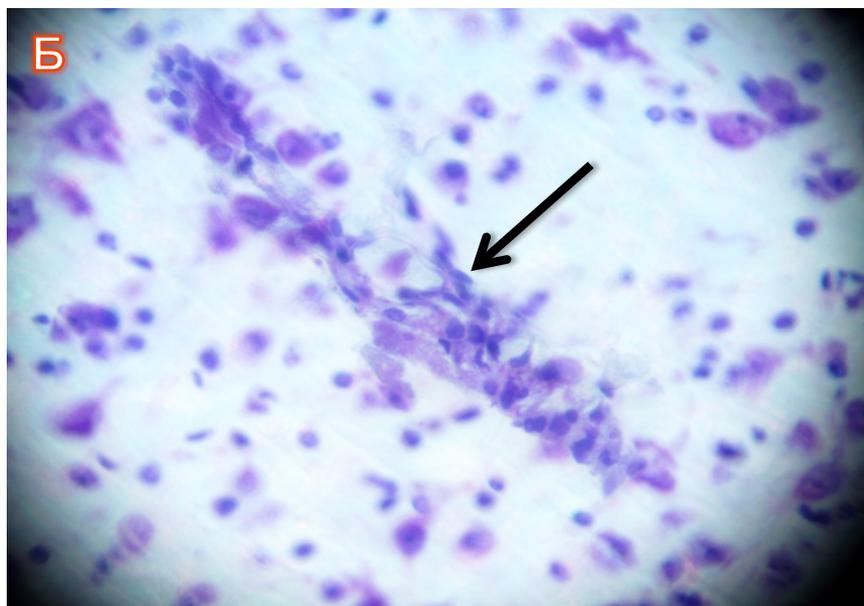
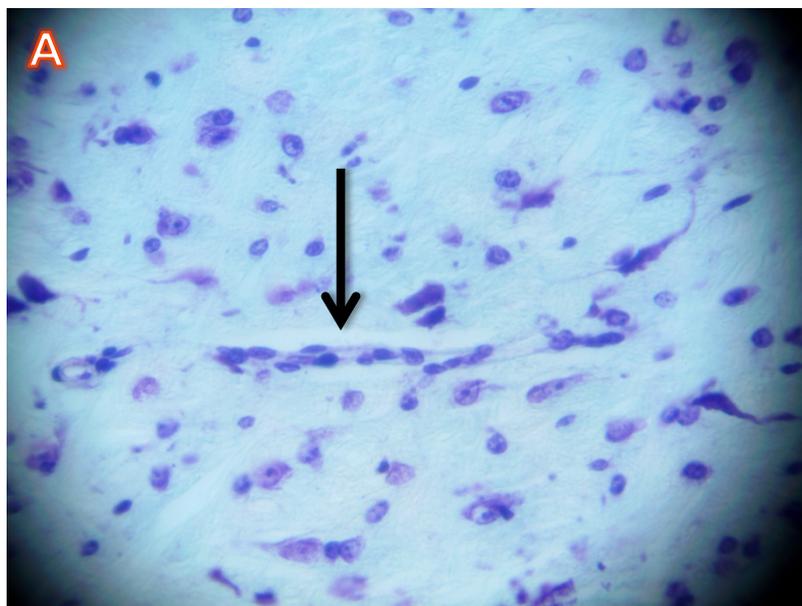
№2 Облученные контроль без введения препарата, %

№3 Облученные с введением Семакса, %

Примечание.

* - статистически значимое различие с группой №1; ** - статистически значимое различие с группой №3.

ВАСКУЛЯРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В КОРЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА



Наблюдается:

- неравномерно расширенные и спавшиеся сосуды
- капилляры с разрыхлением стенок
- набухание ядер эндотелия

Фото сосудов сенсомоторной коры головного мозга:

А) нормальный сосуд. Препарат животного леченного «Семаксом»; Б) сосуд с нарушением целостности. Препарат облученного животного. Ув. 40х40. Окраска крезил-виолетом по методу Ниссля.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- ❖ Препарат «Семакс» нормализует показатель эмоционального статуса (ЭС) на 7-ые сутки после протонного облучения
- ❖ Применение препарата восстанавливает уровень показателя силы скелетной мускулатуры облученных животных до контрольных значений
- ❖ Введение облученным животным препарата «Семакс» не отягощало, по большинству исследованных традиционных радиобиологических показателей, тяжести острой лучевой болезни
- ❖ Морфологическая картина в сенсомоторной коре головного мозга облученных животных, которым интраназально вводили препарат Семакс после облучения, близка к нормальной (у необлученных животных). В коре головного мозга у облученных животных, получавших препарат, практически отсутствуют нарушения капилляров.

**Спасибо за
внимание!**

ПОКАЗАТЕЛИ НЕВРОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА МЫШЕЙ НА 7 СУТКИ ПОСЛЕ ПРОТОННОГО ОБЛУЧЕНИЯ

Доза облучения, Гр	Группа	Показатели: число реакций за 3 мин (M±m)	
		ОИР	число выходов в центр
2,3	Необлученный контроль	143±4,2	4,3±0,7 [*]
	Облученный контроль без введения препарата	156,5±7	2,1±0,9
	Облученные, с введением Семакса	149,1±7,5	3,6±0,7

Примечание.

** – Статистически значимые различия с группой «Облученный контроль» (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$).*

ПОКАЗАТЕЛИ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА МЫШЕЙ НА 7 СУТКИ ПОСЛЕ ПРОТОННОГО ОБЛУЧЕНИЯ

Доза облучения, Гр	Группа	Показатели: число реакций за 3 мин (M±m)		
		ЭС	грумминг	ОИР/ЭС
2,3	Необлученный контроль	4,4±0,5	0,9±0,2*	52,5±5,1*
	Облученный контроль без введения препарата	1,6±0,2	0,3±0,2	101,0±11,8
	Облученные, с введением Семакса	3±0,5*	0,8±0,2	39,0±6,1*

Примечание.

** – Статистически значимые различия с группой «Облученный контроль» (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$).*

ПОКАЗАТЕЛИ НЕВРОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА МЫШЕЙ НА 7 СУТКИ ПОСЛЕ ПРОТОННОГО ОБЛУЧЕНИЯ

Доза облучения, Гр	Группа	Показатели: число реакций за 3 мин (M±m)	
		ОИР	число выходов в центр
3,0	Необлученный контроль	136,3±8	4,3±0,6
	Облученный контроль без введения препарата	141,5±7	2,1±0,9
	Облученные, с введением Семакса	127,2±5 ¹	6,6±0,7 ¹

Примечание.

Статистически значимые различия с группой: 1 – «Облученный контроль» (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$).

ПОКАЗАТЕЛИ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА МЫШЕЙ НА 7 СУТКИ ПОСЛЕ ПРОТОННОГО ОБЛУЧЕНИЯ

Доза облучения, Гр	Группа	Показатели: среднее число реакций за 3 мин ($M \pm m$)		
		ЭС	грумминг	ОИР/ЭС
3,0	Необлученный контроль	8,9±1,6	0,8±0,1 ¹	18,1±1,3 ²
	Облученный контроль без введения препарата	4,7±0,2	0,8±0,2 ¹	30,8±2,7
	Облученные, с введением Семакса	7,2±0,4 ²	1,3±0,2	20,9±1,4 ²

Примечание.

Статистически значимые различия с группой: 1 – «Облученные с введением Семакса»; 2 – «Облученный контроль» (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$).

ПОКАЗАТЕЛИ СИЛЫ СКЕЛЕТНОЙ МУСКУЛАТУРЫ МЫШЕЙ НА 8 СУТКИ ПОСЛЕ ПРОТОННОГО ОБЛУЧЕНИЯ

Доза облучения, Гр	Группа	Сила захвата передних лап по отношению к контролю, %
2,3	Необлученный контроль	100*
	Облученный контроль без введения препарата	84,6
	Облученные с введением Семакса	93,1*

Примечание. :

* - Статистически значимые различия с группой «Облученный контроль» (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$).

ПОКАЗАТЕЛИ СИЛЫ СКЕЛЕТНОЙ МУСКУЛАТУРЫ МЫШЕЙ НА 8 СУТКИ ПОСЛЕ ПРОТОННОГО ОБЛУЧЕНИЯ

Доза облучения, Гр	Группа	Сила захвата передних лап по отношению к контролю, %
3,0	Необлученный контроль	100 [*]
	Облученный контроль без введения препарата	81,3
	Облученные с введением Семакса	102,1 [*]

Примечание.

** - Статистически значимые различия с группой «Облученный контроль» (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$).*

ИММУНОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС МЫШЕЙ НА 8 СУТКИ ПОСЛЕ ПРОТОННОГО ОБЛУЧЕНИЯ

Доза, Гр	№	Группа	Показатели (M±m)				
			Масса тела (г)	Масса тимуса (мг)	Масса селезенки (мг)	Число клеток костного мозга ($n \times 10^9$ /бедро)	Число лейкоцитов в периферической крови ($n \times 10^9$ /л)
2,3	1	Необлученный контроль	23,7±0,5	90,5±4,1 ¹	90,8±7,8	22,9±0,6 ²	3,3±0,1 ²
	2	Облученный контроль без введения препарата	22,3±0,5	78,8±3,1	75,1±3,5	17,4±1,1	1,5±0,1
	3	Облученные, с введением Семакса	22,5±0,3	71,3±2,5	74,5±2,5	17,1±0,6	1,7±0,1
3,0	4	Необлученный контроль	27,7±2,3	78,5±0,7 ³	105±0,5 ⁴	20,5±0,4	2,9±0,1
	5	Облученный контроль без введения препарата	26,5±0,7	53,5±4,4	90,1±4,7	17,6±0,7	1,13±0,2
	6	Облученные, с введением Семакса	25,8±0,8	54,6±3,4	81,6±3	17,0±0,5	1,23±0,2

Примечание. Статистически значимые различия с группой: 1 - №3; 2 - №2 и 3; 3 - №5 и 6; 4 - №6 ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ СЕНСОМОТОРНОЙ КОРЫ БОЛЬШОГО МОЗГА

Группы	№	Неизмененные нейроны, %	Обратимые морфофункциональные и компенсаторно-приспособительные нейроны, %	Дистрофические нейроны, %
Необлученный контроль	1	84,5±0,86	14,8±0,81	0,76±0,33
Облученный контроль без введения препарата	2	74,5±0,78*, **	21,5±0,75*	3,87±0,33*, **
Облученные с введением Семакса	3	86,0±1,31	11,9±1,16	1,80±0,41

Примечание.

Результаты считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$;

* статистически значимое различие с группой №1 ;

** - статистически значимое различие с группой №3