

Н.И. Заргарова, А.Н. Гребенюк,
В.И. Легеза, О.О. Владимирова

Об особенностях феномена взаимного отягощения при сочетанных радиационных поражениях

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

Резюме. В опытах на белых крысах, подвергнутых сочетанному поражению (рентгеновский ожог кожи на площади 10% поверхности тела и общее γ -облучение в дозах 5, 6, 6,5 и 6,75 Гр) изучены особенности феномена взаимного отягощения клинического течения указанных видов радиационной патологии. Установлено, что общее облучение практически не влияет на течение деструктивных процессов в ожоговой ране, однако существенно замедляет скорость ее эпителизации. В то же время местное лучевое поражение значительно увеличивает летальность крыс, подвергнутых общему радиационному воздействию, не усугубляя при этом выраженность гематологических нарушений, характерных для внешнего облучения. Обсуждаются возможные механизмы отличий феномена взаимного отягощения при сочетанных и комбинированных радиационных поражениях. Так, не исключается отягощающее действие лучевого ожога на последствия общего радиационного воздействия «некостномозговых» механизмов, в частности, развития синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания, полиорганной недостаточности и др., которые наблюдались при сочетанных радиационных поражениях у лиц, пострадавших в результате Чернобыльской катастрофы.

Ключевые слова: облучение, местное лучевое поражение, сочетанное лучевое поражение, феномен взаимного отягощения, ожоговая рана, репарация, гематологические нарушения, патогенетические механизмы отягощения.

Введение. Известно, что в условиях массовых радиационных поражений (как при боевом применении ядерного оружия, так и при радиационных авариях, в том числе крупномасштабных) изолированные поражения от острого внешнего облучения наблюдаются достаточно редко [15]. Гораздо чаще возникают комбинированные (радиационно-термические, радиационно-механические) и сочетанные радиационные поражения (СРП). Последние представляют собой комбинацию острого радиационного синдрома от внешнего γ - β облучения и местного лучевого поражения (МЛП), как правило, кожных покровов [6, 7, 11]. Наиболее характерной особенностью такого рода поражений является так называемый «феномен» (более известный как «синдром») взаимного отягощения, суть которого заключается в более тяжелом клиническом течении каждого из составляющих патологический процесс компонентов [6, 15].

К настоящему времени механизм и клинические проявления феномена взаимного отягощения наиболее подробно изучены на экспериментальных моделях радиационно-термических и радиационно-механических поражений, тогда как при сочетанных радиационных поражениях, особенно включающих в качестве одного из компонентов СРП глубокий лучевой ожог кожи? – значительно меньше [6, 11].

Известно, что анатомически наиболее близка к коже человека кожа 4–8-недельных поросят [3]. Однако фактически (прежде всего из экономических соображений) облучение кожи чаще всего осуществ-

ляется в опытах на крысах. Именно на этом виде животных получено большинство данных, характеризующих клинику и патогенез локальных МЛП, а также эффективность различных средств их профилактики и лечения [14, 18, 19].

Весьма существенным является также вопрос о выборе источника излучения при моделировании глубоких МЛП. Трудность заключается в том, что при использовании для этой цели β -аппликаторов различные слои и структуры кожи поглощают неодинаковое количество энергии. Если же в экспериментах используются источники высокоэнергетического излучения, то, хотя различными слоями кожи поглощается одинаковая по величине доза радиации, однако при этом поражаются и подлежащие ткани, в том числе жизненно важные органы в глубине тела [2, 12, 13]. Такой вид МЛП может наблюдаться у онкологических больных как осложнение мегавольтной лучевой терапии, а также в результате случайного контакта с источниками ионизирующих излучений и не является характерным для радиационных аварий, особенностью которых являются обширные по площади и разные по степени тяжести лучевые поражения кожи (поверхностные – на защищенных одеждой и глубокие – на открытых частях тела) [1, 4, 5, 10].

Цель исследования. Изучение особенностей феномена взаимного отягощения при СРП у крыс с использованием модели глубокого лучевого ожога кожи, исключая радиационное повреждение подлежащих тканей.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на белых беспородных крысах-самцах массой 180–200 г из питомника Российской академии медицинских наук «Рапполово» (Ленинградская обл.) и выдержанных в течение 2 недель в карантине в условиях стандартного питания. Исследования проведены согласно требованиям нормативно-правовых документов о порядке проведения экспериментальных работ с применением животных [9]. Накануне местного облучения кожу депилировали теплым 10% раствором сернистого натрия.

Общее облучение животных осуществляли с помощью источника γ -излучения ^{137}Cs . Дозы γ -облучения составляли 5, 6, 6,5 и 6,75 Гр, мощность дозы – 1,37 Гр/мин.

Лучевые ожоги III-б степени моделировали облучением кожи спины от рентгенотерапевтической установки «РУМ-17». Для достижения максимальной дозы на кожу применяли нефльтрованное излучение. Напряжение на трубке составляло 180 кВ, величина анодного тока – 15 мА, минимальное расстояние между облучаемой поверхностью кожи и анодом трубки – 25 см. Доза облучения кожи составляла 60 Гр, мощность дозы – 3,3 Гр/мин. Облучению в такой дозе вызывало в коже развитие лучевого ожога III-б степени с полным некрозом поверхностных участков дермы и придатков кожи. Нижняя граница зоны некроза не выходила за рамки сетчатого слоя, располагаясь в верхней трети дермы (рис. 1). Площадь облучаемого участка кожи составляла 10% поверхности тела. Для предотвращения облучения внутренних органов под кожу облучаемого участка спины животных вводили и фиксировали свинцовую пластину толщиной 2 мм. После облучения пластину извлекали, рану ушивали. На период облучения кожи животных помещали под свинцовый экран толщиной 5 мм.

В ходе эксперимента оценивали визуальные признаки формирования (деструктивная фаза) и заживления (репаративная фаза) локального лучевого поражения кожи [2]. В деструктивную фазу отмечали сроки появления эритемы и формирования струпа, определяли продолжительность периода экссудации.



Рис. 1. Участок кожи крысы через 14 сут после рентгеновского облучения в дозе 60 Гр. Окраска гематоксилином по Карацци и эозином. Ув. $\times 200$

В репаративную фазу регистрировали сроки отслоения струпа и определяли продолжительность периода заживления. По формуле Л.Н. Поповой измеряли площадь раневой поверхности и определяли скорость ее заживления [16]. Степень МЛП, а также состояние процессов заживления ожоговой раны оценивали морфологически. Исследовали характер поврежденной базальной мембраны, клеток базального слоя эпидермиса и волосяных фолликулов. Определяли глубину распространения деструктивных изменений слоев дермы. Степень лучевых поражений кожи оценивали по существующей классификации [8]. При проведении морфологических исследований кусочки облученной кожи иссекали в сроки, соответствующие завершению деструктивной фазы лучевого ожога. Подготовленные срезы окрашивали гематоксилином по Карацци и эозином.

Учитывали летальность облученных животных в течение 30 сут после воздействия и динамику изменений морфологического состава периферической крови по стандартной методике [17].

Данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что под влиянием МЛП летальность животных, подвергнутых общему γ -облучению крыс существенно возрастала (табл. 1). Из таблицы 1 видно, что рентгеновский ожог на площади до 10% поверхности тела способствовал снижению выживаемости животных, тотально облученных в сублетальных и среднелетальных дозах, в среднем на 40%. Как при «чистом» внешнем облучении, так и в условиях СРП гибель животных отмечалась спустя 15–20 сут после начала эксперимента.

Для уточнения механизмов выявленного эффекта на следующем этапе исследования было изучено влияние МЛП на выраженность гематологических

Таблица 1

Влияние местного рентгеновского облучения кожи в дозе 60 Гр на 30-ти суточную выживаемость крыс, подвергнутых общему γ -облучению в различных дозах ($X \pm m_x$; $n = 12$ в каждой группе)

Доза облучения, Гр	Условия эксперимента	Выживаемость	
		абс.	%
5,0	γ -облучение	11	90 \pm 8
	СРП	6	50 \pm 15*
6,0	γ -облучение	8	75 \pm 13
	СРП	4	33 \pm 15*
6,5	γ -облучение	7	58 \pm 15
	СРП	2	17 \pm 13*
6,75	γ -облучение	5	42 \pm 15
	СРП	0	0 \pm 8*

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с γ -облучением (контроль).

нарушений, возникающих в периферической крови тотально облученных крыс (табл. 2). Установлено, что в группе животных, подвергнутых γ -воздействию, наиболее выраженная лейкопения (снижение количества лейкоцитов в крови до 15% от исходного уровня) наблюдалось на 5–10 сут после начала эксперимента. В дальнейшем отмечалось постепенное увеличение числа форменных элементов и к 30 сут оно составляло порядка 60% от фоновых величин.

Количество эритроцитов у облученных крыс в течение всего периода эксперимента практически не изменялось, а ранняя ретикулоцитопения (к 5 сут число ретикулоцитов снижалось до 5% от исходного уровня) вскоре сменялось нормализацией их количества (10 сут) и в последующие сроки (20–30 сут) – ретикулоцитозом.

Динамика количества лейкоцитов при СРП в течение всего периода эксперимента статистически значимо не отличалась от контроля («чистое» общее облучение), более того, наблюдалась отчетливая тенденция к «смягчению» выраженности лейкопении. Так, если на 20 сут в контроле число лейкоцитов составляло 50% от исходного уровня, то при СРП – 90%. Не было выявлено существенных различий между анализируемыми группами и в динамике количества

эритроцитов и ретикулоцитов. Таким образом, увеличение летальности животных под влиянием МЛП не связано с дополнительным угнетающим влиянием последнего на гемопоэз.

Влияние общего γ -облучения на динамику процессов заживления лучевого ожога оценивали на экспериментальных моделях, включающих местное воздействие рентгеновского излучения в дозе 60 Гр и тотальное облучение в дозах 5 и 6 Гр, так как при таких вариантах СРП, с одной стороны, наблюдалось увеличение летальности облученных животных с МЛП (см. табл. 1), с другой – количество выживающих крыс позволяло получить представление о динамике как деструктивной, так и репаративной фазы лучевого ожога в условиях сочетанного поражения.

Выявлено, что длительность деструктивного периода в облученной коже при СРП и изолированном лучевом ожоге была практически одинаковой (табл. 3). В то же время на длительность репаративного периода общее облучение оказывало весьма существенное влияние. Так, под влиянием общего γ -облучения в дозе 5 Гр период заживления МЛП увеличивался почти в 1,5 раза, а при дозе 6 Гр – 1,7 раза; скорость заживления снижалась соответственно на 30 и 40% по сравнению с контролем. Эти различия отчетливо видны на рисунке 2.

Таблица 2

Влияние местного рентгеновского облучения кожи в дозе 60 Гр на изменения в периферической крови крыс, подвергнутых общему γ -облучению в дозе 5 Гр ($X \pm m_x$; n=12 в каждой группе)

Показатель	Условия эксперимента	Срок исследования					
		До облучения	После облучения, сут				
			5	10	15	20	30
Лейкоциты, $\times 10^9$ /л	γ -облучение	10,3 \pm 1,4	1,3 \pm 0,3	1,6 \pm 0,3	3,2 \pm 1,2	4,9 \pm 1,9	6,3 \pm 2,4
	СРП		1,8 \pm 0,3	1,9 \pm 0,2	3,7 \pm 1,3	9,3 \pm 2,5*	7,1 \pm 2,7
Эритроциты, $\times 10^{12}$ /л	γ -облучение	9,3 \pm 0,5	9,1 \pm 0,6	7,9 \pm 0,7	8,3 \pm 0,8	8,6 \pm 1,3	9,3 \pm 0,7
	СРП		9,9 \pm 0,4	8,3 \pm 0,8	8,7 \pm 0,9	9,2 \pm 0,4	7,8 \pm 0,7
Ретикулоциты, %	γ -облучение	2,7 \pm 0,3	0,15 \pm 0,2	2,5 \pm 0,3	3,8 \pm 0,6	4,4 \pm 0,7	4,1 \pm 1,1
	СРП		0,5 \pm 0,2	3,3 \pm 0,4	2,7 \pm 0,5	3,5 \pm 1,1	4,2 \pm 0,5

Примечание: * – p < 0,05 по сравнению с γ -облучением (контроль).

Таблица 3

Влияние общего γ -облучения в различных дозах на динамику формирования и заживления поражений кожи у крыс, подвергнутых местному рентгеновскому облучению в дозе 60 Гр ($X \pm m_x$; n=12 в каждой группе)

Доза общего облучения, Гр	Критерии радиационного поражения кожи					
	деструктивные процессы, сут			репаративные процессы, сут		
	латентный период эритемы	период экссудации	срок формирования струпа	срок отслоения струпа, сут	период заживления, сут	скорость заживления, %-сут ⁻¹
0 (контроль)	7,3 \pm 0,3	6,1 \pm 0,2	13,2 \pm 0,5	60,5 \pm 2,8	47,1 \pm 3,0	2,2 \pm 0,2
5	7,5 \pm 0,8	5,2 \pm 0,7	13,0 \pm 0,6	79,0 \pm 13,0*	67,0 \pm 5,8*	1,6 \pm 0,3*
6	7,6 \pm 0,5	5,4 \pm 0,7	13,2 \pm 0,5	89,3 \pm 10,1*	79,3 \pm 12,5*	1,3 \pm 0,2*

Примечание: * – p < 0,05 по сравнению с контролем.



Рис. 2. Состояние ожоговой раны у крыс при местных (а) и сочетанных (б) радиационных поражениях (55 суток после начала эксперимента). Доза местного облучения – 60 Гр, доза общего облучения – 5 Гр.

Таким образом, на основе разработанной и использованной экспериментальной модели СРП (общее γ - и местное рентгеновское облучение) подтверждено наличие феномена взаимного отягощения при данном варианте радиационной патологии. Феномен проявляется в увеличении (по сравнению с изолированными видами лучевой травмы) летальности и угнетении процессов репарации МЛП.

Показано также, что в отличие от комбинированного радиационного поражения, в условиях СРП не наблюдается усугубления выраженности лейкопении, напротив, отмечается тенденция к некоторому ослаблению гематологических нарушений. Это позволяет полагать, что увеличение летальности подвергнутых общему γ -облучению животных под влиянием МЛП не связано непосредственно с угнетающим влиянием последнего на гемопоэз.

Не исключено, что отягощающее действие лучевого ожога на последствия общего радиационного воздействия обусловлено «некостномозговыми» механизмами, в частности, развитием синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания, полиорганной недостаточностью и др., которые, судя по данным литературы, наблюдались при СРП у лиц, пострадавших в результате Чернобыльской катастрофы [7].

В любом случае дальнейшее изучение механизмов развития феномена взаимного отягощения при СРП и, прежде всего, влияния МЛП на последствия общего облучения представляются весьма важным для совершенствования средств и методов местного лечения сочетанных поражений.

Немаловажным представляется и следующее обстоятельство. Если при комбинированном радиационно-термическом поражении наиболее сложным (особенно в латентном периоде лучевой болезни) является установление факта и степени тяжести лучевого воздействия, то в случае СРП, кроме того, не менее актуальная проблема – диагностика в скрытом периоде наличия как самого МЛП, так его площади и глубины. При этом исследование морфологического состава периферической крови малоинформативно

для решения этих задач, особенно в ранние сроки после облучения. Между тем, именно латентный период является оптимальным для проведения мероприятий по минимизации последствий МЛП при сочетанных поражениях [15]. Все изложенное свидетельствует о необходимости дальнейших исследований по поиску новых высокоинформативных и доступных методов ранней диагностики МЛП, особенно при сочетанных радиационных поражениях.

Выводы

1. Ограниченный глубокий лучевой ожог от рентгеновского излучения на площади 10% поверхности тела способствует значительному (на 40%) увеличению летальности крыс, подвергнутых общему γ -облучению в сублетальных и среднелетальных дозах.
2. Общее γ -облучение крыс в дозах СД10-50/30 сопровождается значительным увеличением длительности процессов репарации лучевого ожога у крыс, вызванного рентгеновским облучением кожи. Скорость заживления ожоговой раны снижается, по сравнению с контролем (местное облучение), на 30–40%.
3. Местное лучевое поражение не усугубляет выраженность гематологических нарушений, вызванных общим радиационным воздействием.
4. В механизмах феномена взаимного отягощения при сочетанных радиационных поражениях важную роль могут играть «некостномозговые» факторы.

Литература

1. Аветисов, Г.М. Местные лучевые поражения у населения: диагностика и лечение. Пособие для врачей / Г.М. Аветисов [и др.]. – М.: ВЦМК «Защита», 2001. – 76 с.
2. Африканова, Л.А. Острая лучевая травма кожи / Л.А. Африканова. – М.: Медицина, 1975. – 193 с.
3. Бесядовский, Р.А. Справочное руководство для радиобиологов / Р.А. Бесядовский, К.В. Иванов, А.К. Козюра. – М.: Атомиздат, 1987. – 126 с.
4. Гогин, Е.Е. Сочетанные радиационные воздействия, их непосредственные и отдаленные воздействия / Е.Е. Гогин // Тер. архив. – 1990. – № 7. – С. 11–15.
5. Гогин, Е.Е. Клинические последствия сочетанного лучевого поражения / Е.Е. Гогин // Тер. архив. – 1987. – № 6. – С. 8–14.
6. Гогин, Е.Е. Сочетанные радиационные поражения / Е.Е. Гогин [и др.]. – М.: ППО «Известия», 2000. – 240 с.

7. Гуськова, А.К. Острые эффекты облучения у пострадавших при аварии на Чернобыльской АЭС / А.К. Гуськова [и др.] // Мед. радиология. – 1987. – Т. 32, № 12. – С. 3–18.
8. Диагностика и лечение ожогов в лечебных учреждениях Вооруженных сил: метод. рекомендации. – М.: Воениздат, 1992. – 5 с.
9. Директива 2010/63/EU Европейского парламента и совета европейского союза по охране животных, используемых в научных целях. – СПб.: Rus-LASA «НП объединение специалистов по работе с лабораторными животными», рабочая группа по переводам и изданию тематической литературы, 2012. – 48 с.
10. Зиновьева, Н.В. Значимость радиационных ожогов кожи для прогнозирования исхода сочетанных лучевых поражений / Н.В. Зиновьева, В.Ю. Соловьев // Медико-биологические эффекты действия радиации: Междунар. конф., Москва, 10–11 апреля 2012 г.: Тез. докл. – М.: ФГУ ФМБЦ им. А. И. Бурназяна ФМБА России, 2012. – С. 150.
11. Комбинированные радиационные поражения – патогенез, клиника, лечение / под ред. А.Ф. Цыба, М.Н. Фаршатов. – М.: Медицина, 1992. – 320 с.
12. Куценко, А.К. Лечение радиационных дерматитов / А.К. Куценко // Воен.-мед. журн. – 1969. – № 4. – С. 76–78.
13. Медведь, А.И. Анатомические изменения в кожных покровах белых мышей при действии на них рентгеновых лучей: автореф. дис. ... канд. мед. наук / А.И. Медведь. – Казань, 1958. – 19 с.
14. Приживойт, И.Ф. Регенераторные процессы в коже и возможность их стимуляции в условиях действующего проникающего излучения: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / И.Ф. Приживойт. – Фрунзе, 1966. – 44 с.
15. Радиационная медицина: руководство для врачей-исследователей и организаторов здравоохранения / под ред. Л.А. Ильина. В 4-х томах. – Т. II. Радиационные поражения человека. – М.: ИздАТ, 2001. – 432 с.
16. Раны и раневая инфекция / под ред. М.И. Кузина, Б.М. Костюченко. – М.: Медицина, 1990. – 592 с.
17. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования / под ред. Е.А. Кост. – М.: Медицина, 1968. – 436 с.
18. Шелеснова, В.И. Процессы повреждения и восстановления в коже крыс при общем внешнем бета-облучении / В.И. Шелеснова // Восстановительные и компенсаторные процессы при лучевых поражениях. – Л., 1982. – С. 232–233.
19. Field, S.B. Early and late reactions in skin of rats following irradiation with X-rays or fast neutrons / S.B. Field // Radiology. – 1969. – Vol. 92, № 2. – P. 381–384.

N.I. Zargarova, A.N. Grebenyuk, V.I. Legeza, O.O. Vladimirova

About features of the phenomenon of mutual burdening at combined radiation injures

Abstract. *In experiences on the white rats subjected to the combined injures (a Roentgen-ray burn of skin on the area of 10% of a surface of a body and the general γ -irradiation in doses of 5, 6, 6,5 and 6,75 Gy) features of a phenomenon of mutual burdening of a clinical current of the specified types of radiation pathology are studied. It is established that the general radiation practically doesn't influence the course of destructive processes in a burn wound, however significantly slows down the speed of its epitelisation. At the same time the local radiation injury considerably increases a lethality of the rats subjected to the general radiation influence, without aggravating thus expressiveness of hematologic violations, characteristic for external radiation. Possible mechanisms of differences of a phenomenon of mutual burdening are discussed at the combined and combined radiation injures. So, we do not exclude aggravating effect of radiation burn to the consequences of the total radiological forcing of «non-bone marrow» mechanisms, in particular, the development of disseminated intravascular coagulation, organ failure, and others, that have been observed with concomitant radiation damage in people who have suffered from the Chernobyl disaster.*

Key words: *irradiation, local radiation injury, combined radiation injury, phenomenon of mutual burdening, burn wound, reparation, hematologic violations, pathogenetic mechanisms of burdening.*

Контактный тел. 8 (812) 329-71-60; e-mail: grebenyuk_an@mail.ru