

ВЛИЯНИЕ ЦИСТАМИНА НА ПРОПУЛЬСИВНУЮ ФУНКЦИЮ ЖЕЛУДКА И ГАЗООБМЕН У КРЫС ПРИ ЛУЧЕВОЙ МИЕЛОАБЛЯЦИИ

О. А. Вакуненко¹, Ю. Ю. Ивницкий¹, О. А. Данилова², Т. В. Шефер²✉, В. Л. Рейнюк¹

¹ Научно-клинический центр токсикологии имени академика С. Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

² Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Облучение реципиентов перед пересадкой стволовых кроветворных клеток способно вызвать желудочно-кишечный стаз (ЖКС). С ним связаны осложнения лучевой миелоабляционной терапии: поздняя рвота, избыточный бактериальный рост, эндотоксикоз, системное воспаление и сепсис. Целью работы было оценить возможность предупреждения ЖКС при лучевой миелоабляции профилактическим введением в желудок цистамина дигидрохлорида. У крыс определяли выраженность ЖКС, содержание маркеров энтероцитов в тканях тонкой кишки и показатель кишечного эндотоксикоза — экскрецию индикана с мочой — через 72 ч после общего однократного рентгеновского облучения в дозе 9,64 Гр (1,1 ЛД_{99/30}); ежедневно регистрировали потребление животными кислорода. Облучение вызывало ЖКС с преобладанием гастростаза, снижало активность холинэстеразы и щелочной фосфатазы в тканях тонкой кишки в 1,5–4,8 раза, вдвое повышало экскрецию индикана с мочой, на 17–32% снижало потребление кислорода организмом. Введение цистамина в основном предупреждало гастростаз, но не оказывало существенного влияния на показатели лучевой энтероцитопении, не предупреждало накопление химуса в слепой кишке, гипериндиканурию, лучевую гипотрофию селезенки и снижение интенсивности газообмена. Цистамин перспективен для апробации на крупных животных в качестве селективного средства экстренной профилактики гастростаза при лучевой миелоабляционной терапии.

Ключевые слова: крысы, лучевая миелоабляция, цистамин, желудочно-кишечный стаз, гастростаз, индикан, энтероцитопения, газообмен

Вклад авторов: О. А. Вакуненко — выполнение экспериментальной части работы; Ю. Ю. Ивницкий — научный замысел, разработка экспериментальной модели, интерпретация и обсуждение результатов; О. А. Данилова — биохимические исследования тканей; Т. В. Шефер — экспериментальная часть, обработка и визуализация данных, разработка экспериментальной модели; В. Л. Рейнюк — методическое руководство исследованиями газообмена. Все авторы участвовали в обсуждении результатов, подготовке и редактировании рукописи статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование выполняли с соблюдением правил биоэтики, утвержденных Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей.

✉ **Для корреспонденции:** Тимур Васильевич Шефер
Лесопарковая ул., д. 4, г. Санкт-Петербург, 195043, Россия; schafer@yandex.ru

Статья получена: 29.09.2023 **Статья принята к печати:** 20.11.2023 **Опубликована онлайн:** 07.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.050

EFFECT OF CYSTAMINE ON GASTRIC PROPULSIVE FUNCTION AND GAS EXCHANGE IN THE RAT MODEL OF RADIATION-INDUCED MYELOABLATION

Vakunenkova OA¹, Ivnitsky JuJu¹, Danilova OA², Schäfer TV²✉, Rejniuk VL¹

¹ Golikov Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical Biological Agency, Saint-Petersburg, Russia

² State Scientific Research Test Institute of the Military Medicine of Defense Ministry of the Russian Federation, Saint-Petersburg, Russia

Radiation exposure of recipients before hematopoietic stem cell transplantation can cause gastrointestinal (GI) stasis. It is associated with complications of myeloablative radiation therapy: delayed vomiting, excess bacterial growth, endotoxemia, systemic inflammation, and sepsis. The study was aimed to assess the possibility of GI stasis prevention by intragastric administration of cystamine dihydrochloride when using radiation-induced myeloablation. The severity of GI stasis, levels of enterocyte markers in the small intestinal tissues and the indicator of intestinal endotoxemia, urinary indican excretion, were assessed in rats 72 h after the single total-body X-ray exposure to the dose of 9.64 Gy (1.1 LD_{99/30}); the animals' whole body oxygen consumption was recorded daily. Irradiation caused GI stasis with predominant gastric stasis, the 1.5–4.8-fold decrease in the cholinesterase and alkaline phosphatase activity in the small intestinal tissues, doubled the urinary indican excretion, the whole body oxygen consumption reduction by 17–32%. Cystamine administration generally prevented gastric stasis, but had no significant effect on the characteristics of radiation-induced enterocytopenia and did not prevent accumulation of chyme in the *caecum*, hyperindicanuria, radiation-induced spleen hypotrophy, and decrease in gas exchange rate. Cystamine is promising for testing in large animals as a selective agent for emergency prevention of gastric stasis during myeloablative radiation therapy.

Keywords: rats, radiation myeloablation, cystamine, gastrointestinal stasis, gastric stasis, indican, enterocytopenia, gas exchange

Author contribution: Vakunenkova OA — experimental procedure; Ivnitsky JuJu — rationale, developing the experimental model, data interpretation and discussion; Danilova OA — tissue biochemistry studies; Schäfer TV — experimental procedure, data processing and visualization, developing the experimental model; Rejniuk VL — methodological guidance of gas exchange assessment. All authors contributed to discussion, manuscript writing and editing.

Compliance with the ethical standards: the study was carried out in accordance with the principles of bioethics, approved by the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes.

✉ **Correspondence should be addressed:** Timur V. Schäfer
Lesoparkovaya, 4, Saint-Petersburg, 195043, Russia; schafer@yandex.ru

Received: 29.09.2023 **Accepted:** 20.11.2023 **Published online:** 07.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.050

Термин «миелоабляция» предложен в 1952 г. для обозначения необратимой панцитопении после общего однократного рентгеновского облучения тела в супралетальной дозе [1]. Лучевая миелоабляция нашла применение в клинике для подготовки реципиентов

к пересадке стволовых кроветворных клеток; такую подготовку обозначают термином «кондиционирование» [2]. Облучение в 1–3 фракции в суммарных дозах 8–12 Гр с пересадкой через 2–5 суток стволовых кроветворных клеток используют для радикального лечения гемобластозов,

ряда солидных опухолей, миелодиспластических и аутоиммунных заболеваний [3]. При острых лейкозах лучевую миелоабляцию применяют изолированно или в комбинации с химиотерапией. В последнем случае ее рассматривают как способ преодоления химиорезистентности опухолевых клеточных клонов [4]. Лучевая миелоабляция — основной метод лечения Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза у детей и взрослых [5, 6]. Облучение в миелоабляционных дозах возможно и вне клиники: на первой стадии аварии энергетического ядерного реактора, при действии проникающей радиации ядерного взрыва, во время пребывания в зонах опасного или чрезвычайно опасного радиоактивного заражения местности продуктами ядерного взрыва [7].

Наиболее частые и тяжелые осложнения лучевой миелоабляционной терапии — расстройства, которые в зарубежных клинических исследованиях фигурируют под диагнозами “oral mucositis” (оральный мукозит) и “gastrointestinal toxicities” (желудочно-кишечные расстройства) [8, 9]. Их общая патогенетическая основа — нарушение регенерации эпителия слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта. Среди его органов наиболее значимо поражение эпителия тонкой кишки. Поэтому избирательная противолучевая защита слизистой оболочки тонкой кишки представляется перспективным подходом к профилактике желудочно-кишечных осложнений лучевой миелоабляционной терапии.

Одно из них — желудочно-кишечный стаз (ЖКС), обратимое дозозависимое торможение транзита желудочно-кишечного химуса. Публикации о таких клинических наблюдениях немногочисленны, но возможность воспроизведения ЖКС облучением в дозах, превышающих 1 Гр, крыс [10], морских свинок [11], собак [12] и обезьян [13] позволяет предположить, что он осложняет лучевую миелоабляционную терапию чаще, хотя и под «маской» других диагнозов. Он развивался у 26% реципиентов после завершения острой первичной реакции на облучение, проявлялся в виде тошноты, рвоты, вздутия и растяжения желудка и был подтвержден сцинтиграфически [14].

Клиническая значимость ЖКС определяется его влиянием на исход лучевого воздействия: он препятствует питанию пациентов, лишает смысла пероральное назначение им медикаментозных средств, способствует повреждению энтерогастрического барьера с поступлением в кровь липополисахаридов грамотрицательных бактерий и развитием сепсиса [15]. Сопровождающий его избыточный рост кишечной микрофлоры ведет к реализации кворум-эффекта, интенсификации образования ею токсичных веществ, формированию эндотоксемии и эндотоксикоза [16]. Некоторые из таких веществ обладают пульмонотоксическим действием, а переполненный химусом желудок может ограничивать экскурсию диафрагмы. Иногда у реципиентов после курса миелоабляционной терапии рентгенологическая тень желудка распространяется на значительную часть не только брюшной, но и грудной полости [17]. Поэтому возможные следствия формирования гастростаза — нарушение внешнего дыхания и газообмена.

Возможно, ЖКС представляет собой защитную реакцию на формирование острого лучевого мукозита, ведущее звено патогенеза которого — цитопения. В связи с этим можно предположить, что предотвращать ЖКС способны препараты, предупреждающие цитопению, — радиопротекторы. Наибольший интерес представляют

индралин, одно из современных табельных противолучевых средств [18], и цистамина дигидрохлорид, ранее использовавшийся в этом качестве. Последний в течение длительного времени был единственным серосодержащим радиопротектором, зарегистрированным в нашей стране, и в 1960–2012 гг. находился в составе аптек и комплектов медицинского имущества для войскового звена медицинской службы Вооруженных Сил Российской Федерации. Имеется и опыт его применения в клинике [19]. Несмотря на то что по состоянию на 20 ноября 2023 г. этот препарат не значится в Государственном реестре лекарственных средств, его апробация в качестве средства патогенетической профилактики ЖКС лучевой природы представляется оправданной. Целью настоящей работы была проверка гипотезы о том, что вводимый в желудок цистамина дигидрохлорид предупредит развитие ЖКС, эндотоксикоза и нарушений газообмена при моделировании на крысах лучевой миелоабляции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовали самцов крыс линии Вистар (161–190 г), приобретенных в питомнике ФГУП «ПЛЖ «Рапполово». Рацион состоял из стандартного корма для крыс и питьевой воды *ad libitum*. Животных случайным образом распределяли по экспериментальным группам. Для лишения корма их на заданное время помещали в клетки с решетчатым полом, исключавшим копрофагию и поедание элементов подстилки при доступе только к воде.

Продолжительность кондиционирования на порядок меньше периода пострadiационного полувосстановления, для человека составляющего 25–45 суток. Поэтому, несмотря на то что дозу миелоабляционного воздействия обычно фракционируют, ее эффективное значение существенно не отличается от значения суммы фракций. С учетом этого лучевую миелоабляцию моделировали общим однократным рентгеновским облучением в многофункциональной передвижной рентгеновской установке (ЗАО «ЭЛТЕХ-Мед»; Россия). Крыс помещали по восемь особей в пеналы из полиэтилентерефталата, которые устанавливали радиально головой к центру в круглый штатив из полиметилметакрилата. Параметры облучения: фокусное расстояние — 564 мм; анодное напряжение — 60 кВ; анодный ток — 13 мА; фильтр: 8 мм полиметилметакрилата + 0,4 мм полиэтилентерефталата; поглощенная доза в геометрическом центре тела — 9,64 Гр (1,1 ЛД_{99/30}). Данная доза идентифицирована по результатам предварительного изучения дозовой зависимости средней продолжительности жизни облученных крыс как максимальная доза, при которой продолжительность жизни всех животных была не менее трех суток после облучения, что для человека соответствует средней продолжительности миелоабляционного кондиционирования. Мощность дозы излучения составила 0,27 Гр/мин. Отношение минимальной и максимальной доз облучения тела составляло 0,9 в каудо-краниальном и 0,5 — в вентро-дорсальном направлении. Облучение, продолжавшееся 52 мин, выполняли в три фракции продолжительностью по 12 мин с двумя интервалами по 8 мин. В предварительных экспериментах такое облучение вело к формированию через трое суток панцитопенического синдрома, снижению относительной массы селезенки на 62% и костного мозга бедра на 41%, удельного содержания ДНК в этих тканях — в 2 и 1,9 раз соответственно, и гибели животных через $5,9 \pm 1,5$ суток ($M \pm m$, $n = 16$).

Лапаротомию, извлечение органов проводили под масочным фторотановым наркозом. Выраженность ЖКС оценивали по относительной массе желудочного и слепок кишечного химусов, которую рассчитывали как разность масс заполненного химусом и пустого органа (*gaster*, *caecum*), г, отнесенную к массе тела, кг.

На первом этапе работы изучали динамику формирования ЖКС после миелоабляционного воздействия. Для этого животных распределяли в восемь групп, из которых четыре были представлены особями, лишенными доступа к корму через 2, 24, 48 или 72 ч после облучения, остальные (контрольные) — лишенными корма в те же сроки, но не облученными, при свободном доступе к воде. Через 72 ч после облучения у животных оценивали выраженность ЖКС.

На втором этапе изучали влияние цистамина дигидрохлорида на выраженность ЖКС, интенсивность роста желудочно-кишечной микрофлоры и содержание маркеров энтероцитов в тканях тонкой кишки. Использовали крыс, имевших неограниченный доступ к воде, но лишенных доступа к корму с 24 по 72 ч после облучения. Животных распределяли в три группы, из которых первая была представлена интактными особями, не получавшими цистамина, а остальные — облученными. Крысы второй группы радиопротектор не получали. В желудок животным третьей группы вводили водный раствор цистамина дигидрохлорида (синтезирован в ГНИИИ ВМ МО РФ) в дозе 120 мг/кг в объеме 10 мл/кг за 30 мин до начала облучения. Эта доза с учетом отношения массы и площади поверхности тела для человека биоэквивалентна дозе 1,2 г, в которой препарат предписывалось принимать за 30–40 мин до облучения, т. е. содержанию пенициллина из аптек индивидуальных АИ-1, АИ-1М и АИ-2. Через 48 ч после облучения крыс помещали в метаболические камеры для сбора мочи. Через 72 ч после облучения животных лапаротомировали, оценивали выраженность ЖКС, извлекали проксимальные отрезки двенадцатиперстной, тощей и дистальные отрезки подвздошной кишок. Для оценки избирательности действия радиопротектора наряду с относительной массой химуса *gaster* и *caecum* определяли относительную массу селезенки в качестве показателя миелопротективного эффекта.

На третьем этапе изучали динамику показателей газообмена и внешнего дыхания в течение трех суток после облучения животных без защиты или на фоне введения им цистамина.

Интенсивность роста желудочно-кишечной микрофлоры оценивали по экскреции индикана с мочой. В собранной за сутки моче количественным колориметрическим методом [20] определяли индикан, экскрецию которого выражали в микрограммах на килограмм массы тела в час.

Энтероцитопению количественно оценивали по активности в тканях *duodenum*, *jejunum* и *ileum* маркеров плазмалеммы энтероцитов: холинэстеразы (ХЭ) и щелочной фосфатазы (ЩФ). Отрезки тонкой кишки длиной по 4 см взвешивали, гомогенизировали в 15-кратном объеме трис-НСl буфера (50 ммоль/л, pH 7,4), замораживали при -20°C , через 15 ч размораживали при 4°C и центрифугировали 10 мин при 2000 g. В супернатанте определяли содержание белка по Брэдфорду. Активность ХЭ определяли методом Элмана на биохимическом анализаторе ChemWell 2910 (Awareness Tech.; США) с ацетилтиохолина йодидом в качестве субстрата. Активность ЩФ определяли кинетическим методом с помощью набора реактивов (ООО «Ольвекс диагностика»; Россия) при 37°C на

биохимическом анализаторе ChemWell 2910 (Awareness Tech.; США).

Интенсивность потребления кислорода организмом определяли в аппарате Миропольского. В течение двух дней до начала исследования животных приучали к респирометрической камере. Интенсивность потребления кислорода организмом — Q_{O_2} , мл/(кг · мин) — находили из уравнения:

$$Q_{O_2} = V \cdot F / (m \cdot \Delta t),$$

где V — объем манометрической жидкости, поступившей в бюретку, мл; F — коэффициент для приведения объема кислорода к нормальным условиям; m — масса тела животного, кг; Δt — длительность пребывания крысы в герметизированной камере, мин.

Продолжительность измерения составляла 3 мин, его абсолютная погрешность — 0,1 мл ($\leq 2\%$ величины V), объем респирометрической камеры — 0,9 л. Животных не фиксировали, они свободно располагались в респирометрической камере и выглядели заторможенными. В это время у них подсчитывали частоту дыхательных движений (ЧДД, мин⁻¹), которую рассматривали как показатель интенсивности внешнего дыхания. Показателем эффективности внешнего дыхания служило среднее потребление кислорода организмом за один дыхательный цикл (мл/кг), которое рассчитывали как соотношение Q_{O_2} и ЧДД. Значения Q_{O_2} , ЧДД и $Q_{O_2}/\text{ЧДД}$, найденные после облучения, выражали в процентах от исходного уровня, который принимали за 100%.

Результаты представляли в виде среднего значения и его ошибки ($M \pm m$). Влияние радиопротектора на исследуемые количественные показатели оценивали с помощью дисперсионного анализа. При значимости полученных различий межгрупповое сравнение средних величин выполняли с помощью теста честной значимой разницы Тьюки. Связь между признаками выражали с помощью рангового коэффициента корреляции Спирмена r_s . Критический уровень значимости α приняли равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Через 72 ч после облучения расширенный и заполненный химусом желудок занимал большую часть объема брюшной полости крыс, лишенных корма в течение 48 ч до лапаротомии; у интактных животных он выглядел пустым. Объем слепой кишки после облучения был увеличен в меньшей степени (рис. 1). Корм, съеденный после облучения, в течение всего времени наблюдения накапливался в желудке, что вело к прогрессирующему увеличению относительной массы желудочного химуса. Накопление химуса в слепой кишке было более медленным, что увеличивало соотношение масс желудочного и слепок кишечного химусов в 2–6 раз в зависимости от продолжительности доступа к корму, в сравнении с соответствующими показателями у необлученных животных (рис. 2).

У облученных крыс, не получавших цистамина и лишенных корма через 24 ч после облучения, масса тела через 72 ч после облучения составляла $78,9 \pm 1,1\%$ от исходного значения. У голодавших в эти же сроки необлученных животных она составляла $84,6 \pm 0,7\%$ от исходной ($p < 0,05$). При этом значения относительной массы желудочного и слепок кишечного химусов облученных крыс превышали соответствующие значения у интактных

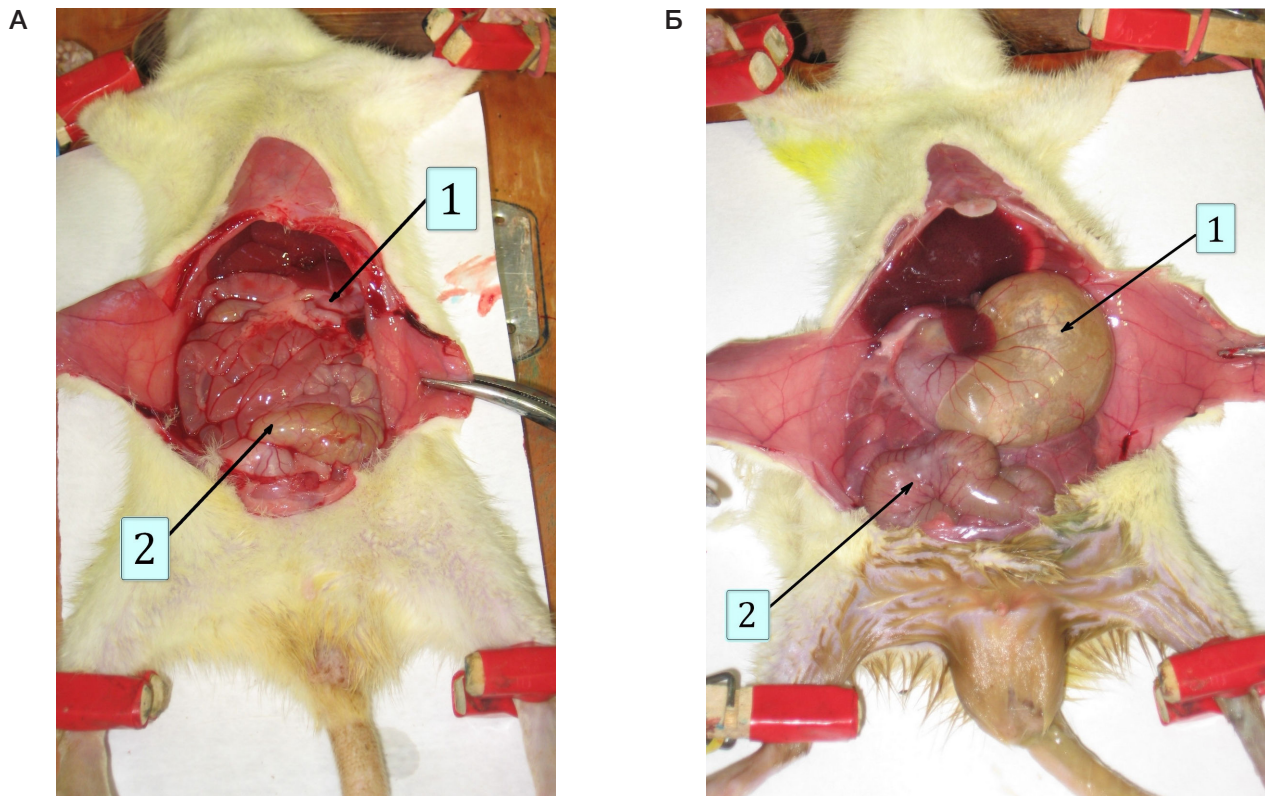


Рис. 1. Органы брюшной полости крыс, лишенных доступа к корму за 48 ч до лапаротомии: интактная (А); через 72 ч после общего однократного рентгеновского облучения в дозе 9,64 Гр (Б). Стрелками показаны: 1 — желудок; 2 — слепая кишка

животных в 5,9 и 2,3 раза соответственно. Введение перед облучением цистамина частично предотвращало гастростаз: относительная масса желудочного химуса была в среднем вдвое меньше, чем у незащищенных животных. Применение цистамина возвращало соотношение масс желудочного и слепкишечного химусов от $1,1 \pm 0,2$ у незащищенных особей к значению $0,4 \pm 0,2$, свойственному интактным крысам при равной продолжительности доступа к корму ($p < 0,05$). Цистамин не оказывал существенного влияния на относительную массу слепкишечного химуса облученных крыс. Его введение мало влияло и на вызванную облучением гипотрофию селезенки (рис. 3А). Экскреция индикана с мочой через 72 ч после облучения была в среднем вдвое выше, чем у интактных крыс; цистамин не оказывал существенного влияния на индиканурию (рис. 3Б). Экскреция индикана облученными крысами, не получавшими радиопротектора, отрицательно коррелировала с относительной массой желудочного химуса, $r_s = -0,77$, и положительно — с относительной массой слепкишечного химуса, $r_s = 0,68$ ($p < 0,05$); на фоне введения цистамина корреляция была слабой. Облучение снижало активность маркеров энтероцитов — ХЭ и ЦЦФ — в тканях тонкой кишки. Наиболее существенно, в 4,8 раза, снижалась активность ХЭ в *ileum*. На фоне применения цистамина значения активности ХЭ во всех отделах тонкой кишки и активности ЦЦФ в *duodenum* и *ileum* имели тенденцию умеренно превышать эти показатели у незащищенных крыс. Наиболее выраженным, 2,5-кратным, было это превышение для ХЭ в *ileum*, однако оно было представлено лишь в виде тенденции (рис. 3В и Г).

Во все сроки после облучения потребление кислорода организмом было меньше, чем у интактных особей. На третьи сутки эта тенденция была значимой при расчете как на единицу времени, так и на дыхательный цикл; в последнем случае она была более выраженной. Межгрупповые

различия значений ЧДД были несущественными. Введение цистамина не оказывало значительного влияния на показатели газообмена и внешнего дыхания (рис. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Моделирование на крысах лучевой миелоабляционной терапии сопровождалось глубоким торможением пропульсивной функции желудка, формировавшимся в ближайшие часы после облучения. Прохождение химуса через желудок длилось больше двух суток, в то время как у здорового человека в норме — не более 48 мин [21]. Экстраполяция этих данных на человека показывает, что гастростаз продолжается большую часть курса миелоабляционного кондиционирования. С ним могут быть связаны типичные для таких пациентов жалобы на потерю аппетита, тошноту, рвоту, боль, тяжесть и вздутие в эпигастральной области. Ввиду отсутствия у грызунов рвотной реакции, разгружающей желудок, его переполнение у крыс могло быть более выраженным, чем у человека при облучении в равных дозах.

Несмотря на развивающееся в результате гастростаза торможение поступления химуса в слепую кишку, относительная масса ее содержимого через трое суток после облучения была в 2,3 раза больше, чем у необлученных животных, отражая снижение пропульсивной функции толстой кишки. Суммарная относительная масса содержимого желудка и слепой кишки облученных крыс возрастала в 3,4 раза: в среднем до 29,5 против 8,8 г/кг в контроле. Несмотря на накопление химуса, масса тела после облучения была на 7% меньше, чем у необлученных животных при равной продолжительности голодания, что указывает на возможную вовлеченность ЖКС в ухудшение общего состояния организма. Одним из механизмов такого влияния мог быть кишечный эндотоксикоз, индикатором

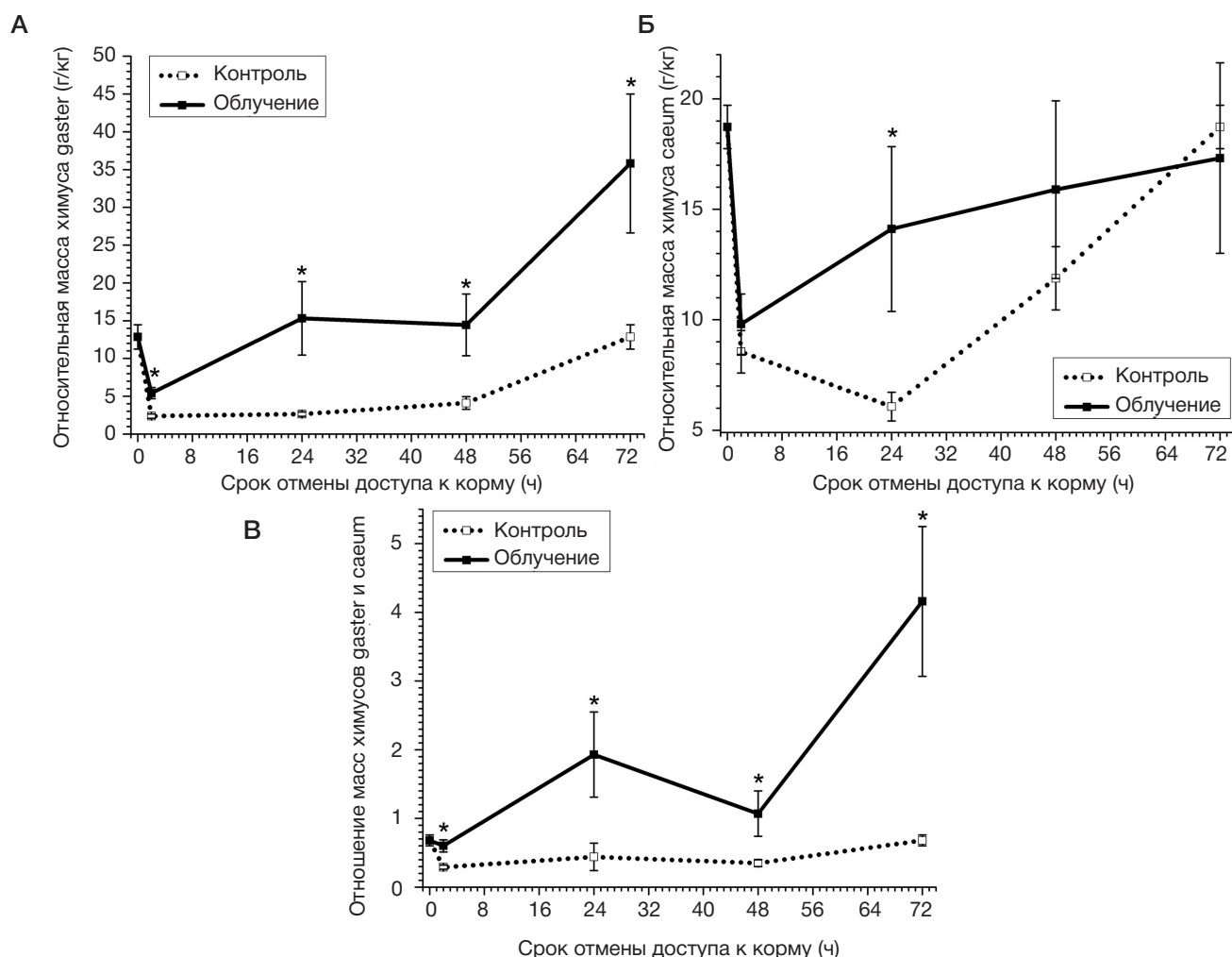


Рис. 2. Относительная масса желудочного (А), слепки (Б) химусов и их соотношение (В) у крыс через 72 ч после общего однократного рентгеновского облучения в дозе 9,64 Гр, $M \pm m$, $n = 8$, в зависимости от продолжительности доступа к корму с момента облучения. Контроль — необлученные животные. В начале оси абсцисс — значения в группе необлученных крыс, имевших неограниченный доступ к корму. * — значимое различие с контролем, $p < 0,05$

которого было двукратное увеличение экскреции с мочой индикана (индоксилсульфата) — конечного продукта окисления индола в индоксил и его сульфирования в печени. Единственным источником индола в организме служит реакция, катализируемая триптофаназой кишечной микрофлоры. Токсичность проявляет как сам индоксилсульфат при содержании в крови, на два порядка превышающем физиологические значения [22], так и индол [23]. Гипериндиканурия указывает на интенсификацию образования в желудочно-кишечном тракте, наряду с индолом, другого токсичного продукта триптофаназной реакции — аммиака. В формирование эндотоксикоза могли быть вовлечены и иные токсиканты кишечного происхождения и продукты их биотрансформации: бактериальный эндотоксин, *p*-крезол, *p*-крезилсульфат, триметиламин, триметиламин-N-оксид, поступление которых в кровь возрастает в условиях ЖКС [22].

Содержание бактерий в химусе толстой кишки, 10^{11} мл⁻¹ — на восемь порядков больше, чем в просвете желудка, $\leq 10^3$ мл⁻¹ [24]. Поэтому накопление химуса в слепой кишке играло преобладающую роль в формировании кишечного эндотоксикоза. В этих условиях гастростаз, замедлявший поступление химуса в слепую кишку, мог ограничивать кишечный эндотоксикоз. На это указывает отрицательная корреляция между относительной массой желудочного химуса и экскрецией индикана с мочой, а также положительная корреляция

последней с относительной массой слепки химуса у крыс, облученных без радиопротектора.

Защитная роль гастростазы могла быть обусловлена не только его тормозящим влиянием на образование токсичных веществ в кишечнике, но и предупреждением дополнительной травматизации эпителия тонкой кишки химусом, поступающим в нее из желудка, в условиях формирующейся энтероцитопении. Ее индикатором было снижение активности маркеров энтероцитов — ХЭ и ЦЦФ — в тканях тонкой кишки после облучения.

Более чем трехкратное снижение относительной массы желудочного химуса на фоне введения в желудок цистамина было результатом его местного противолучевого действия на слизистую оболочку желудка (рис. 3А). Это следует из отсутствия существенного влияния цистамина на лучевую гипотрофию селезенки — чувствительный показатель системного действия радиопротекторов. Такой результат согласуется с известной из литературы невозможностью воспроизвести системный противолучевой эффект цистамина его внутрижелудочным введением крысам [19]. Цистамин препятствовал гастростазу, несмотря на известную из литературы способность его тиоловой формы, цистеамина, обратимо тормозить эвакуацию желудочного химуса за счет повышения секреции соляной кислоты париетальными клетками желудка [25].

Предупреждение гастростазы не могло быть опосредовано местным противолучевым действием

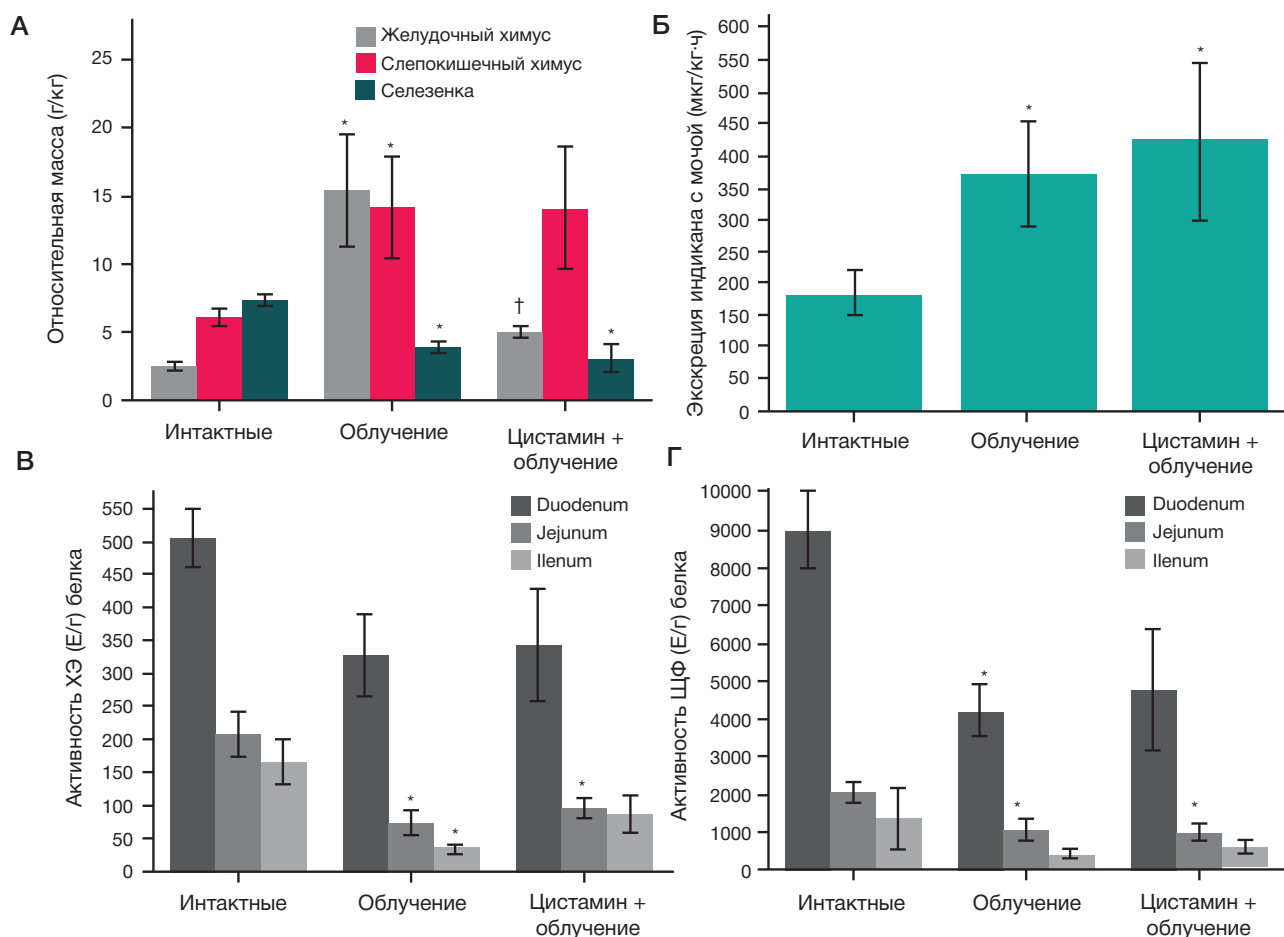


Рис. 3. Относительная масса желудочного, слепокишечного химусов и селезенки (**А**), экскреция индикана с мочой (**Б**), активность в тканях слепой кишки холинэстеразы (**В**) и щелочной фосфатазы (**Г**) у крыс через 72 ч после общего однократного рентгеновского облучения в дозе 9,64 Гр, $M \pm m$, $n = 8$, в зависимости от продолжительности доступа к корму с момента облучения. «Интakтные»: необлученные крысы, не получавшие медикаментозных средств; «Облучение»: подвергнутые облучению без введения радиопротектора; «Цистамин + облучение»: введение в желудок цистамина дигидрохлорида в дозе 120 мг/кг за 30 мин до начала облучения. Все животные лишены доступа к корму через 24 ч после облучения. Значимое различие, $p < 0,05$: * — с интактной группой; † — с группой «Облучение»

цистамина на слизистую оболочку тонкой кишки: оно было слабым, что следует из отсутствия существенного влияния на показатели энтероцитопении — активность ХЭ и ЩФ в тканях тонкой кишки (рис. 3В и Г). Можно предположить, что из-за анатомических особенностей желудка крысы раствор радиопротектора до окончания облучения не успевал поступить в тонкую кишку и контактировал преимущественно со слизистой оболочкой желудка.

Гипотеза о предупреждении гастростаза как результате местного противолучевого действия цистамина на слизистую оболочку желудка согласуется с известным более 70 лет возникновением ЖКС у крыс после местного облучения живота, в то время как общее облучение в равных дозах при экранировании живота ЖКС не вызывает [10]. Полученные данные указывают на то, что триггеры ЖКС локализованы в слизистой оболочке соответствующих отделов желудочно-кишечного тракта и могут быть «отключены» местным воздействием цистамина.

При приеме внутрь цистамина дигидрохлорида человеком в эквивалентной дозе 1,2 г за 30–40 мин до облучения в дозе, вызывающей костномозговой синдром, номинальное значение фактора изменения дозы излучения составляет 1,4 [7]. Из этого следует, что при приеме внутрь цистамина в рекомендуемой дозе человеком предупреждение гастростаза будет сопровождаться системным противолучевым действием, нежелательным при подготовке пациентов к трансплантации стволовых

кроветворных клеток. Поэтому избирательность экстренной профилактики гастростаза цистамином при облучении крыс в миелоабляционной дозе не может быть безоговорочно экстраполирована на человека. Для использования цистамина при подготовке пациентов к трансплантации стволовых кроветворных клеток требуется выявление с использованием крупных животных условий реализации его способности предупреждать гастростаз, не оказывая миелопротективного действия.

В настоящей работе газообмен изучали в условиях, близких к условиям определения основного обмена, поэтому снижение потребления кислорода облученными животными не могло быть результатом их заторможенного состояния. Полученный результат согласуется со снижением потребления кислорода крысами, ранее наблюдавшимся в течение трех суток после их рентгеновского облучения в дозах 300–1000 Р [26]. Угнетение газообмена не могло быть обусловлено уменьшением дыхательного объема в результате ограничения растянутым желудком экскурсии диафрагмы: это следует из отсутствия существенного влияния облучения на ЧДД (рис. 4, Б). Оно не могло быть и результатом прямого повреждающего действия излучения в примененной дозе на тканевой энергетический обмен: в литературе отсутствуют данные о таком эффекте. Снижение потребления кислорода организмом могло быть проявлением кишечного эндотоксикоза, индикатором которого стало повышение экскреции

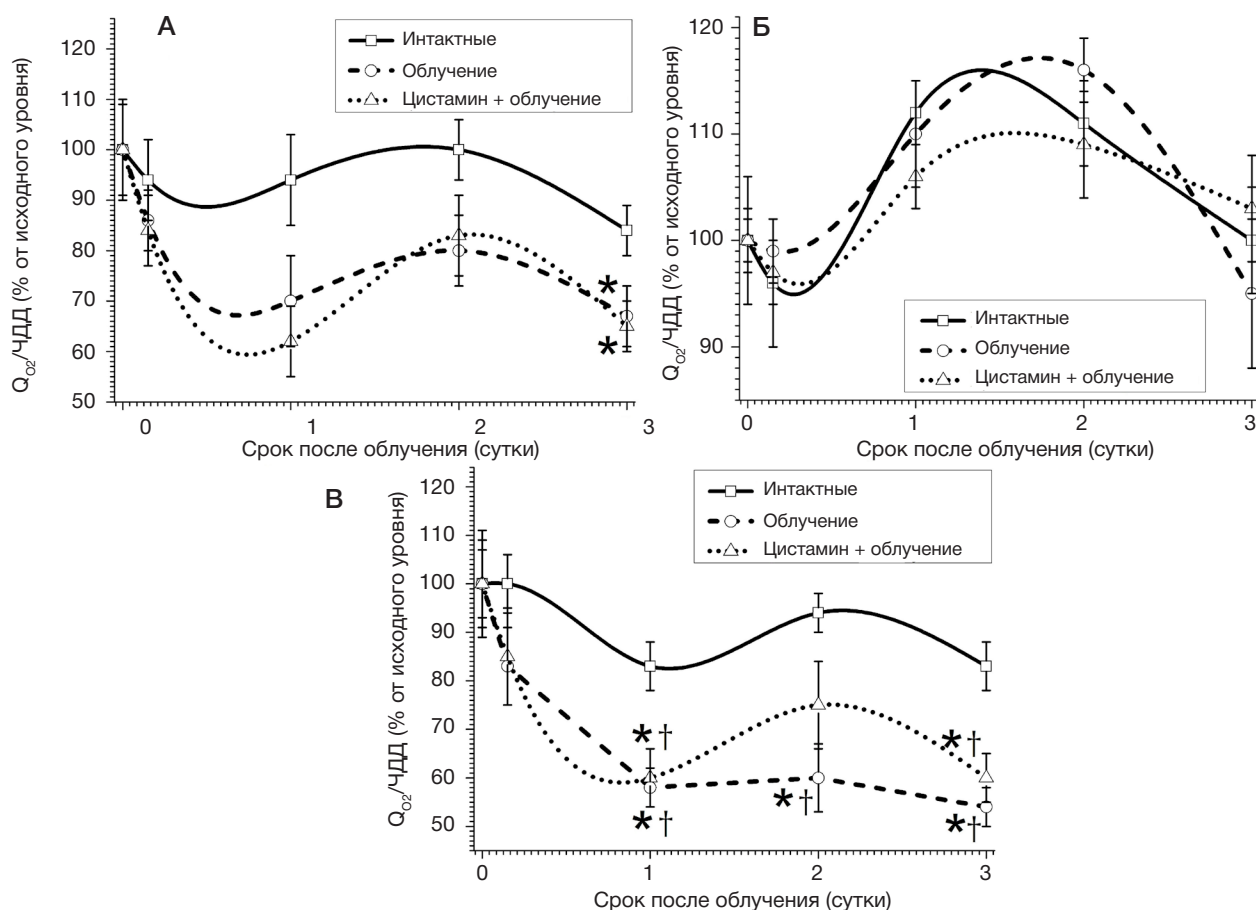


Рис. 4. Потребление кислорода организмом (А), частота дыхательных движений (Б) и потребление кислорода за один дыхательный цикл (В) у крыс через 72 ч после общего однократного рентгеновского облучения в дозе 9,64 Гр, $M \pm m$, $n = 8$. « Q_{O_2} »: потребление кислорода организмом; «ЧДД»: частота дыхательных движений. За 100% приняты значения показателей, определенных за 4 ч до облучения. * — значимое различие с исходным уровнем, $p < 0,05$; † — значимое различие с интактной группой, $p < 0,05$

облученными животными индикана (рис. 3Б). Таким продуктам жизнедеятельности кишечной микрофлоры, как бактериальный эндотоксин и п-крезилсульфат, присуща способность повреждать альвеолярно-капиллярный барьер с формированием отека легких [27, 28]. Индоксилсульфат и бактериальный эндотоксин повреждают митохондрии, нарушая утилизацию кислорода на клеточном уровне [29, 30]. Гипотеза о вовлеченности кишечного эндотоксикоза в эффект пострадиационного снижения газообмена подкрепляется отсутствием влияния на последний цистамина, профилактическое введение которого не предотвращало гипериндиканурию.

Полученные данные указывают на перспективность патогенетического подхода к профилактике гастростаза, вызываемого лучевой миелоабляционной воздействием, и применения радиопротекторов. Данный подход не альтернативен применению симптоматических лекарственных средств купирования общей первичной реакции на облучение — в частности, антагонистов 5-НТ₃-рецепторов.

ВЫВОДЫ

Общее однократное рентгеновское облучение крыс в дозе 9,64 Гр, соответствующей применяемым при

миелоабляционном кондиционировании, ведет к снижению через трое суток содержания энтероцитов в слизистой оболочке тонкой кишки, формированию желудочно-кишечного стаза с преобладанием гастростаза и гипериндиканурии — показателю избыточного роста кишечной микрофлоры, продуцирующей индол. Введение за 30 мин до облучения в желудок крыс цистамина дигидрохлорида в дозе, эквивалентной рекомендуемой для однократного приема человеком, частично предупреждает формирование гастростаза, не оказывая существенного влияния на показатели энтероцитопении, слепокишечного стаза и выраженность гипериндиканурии.

Моделирование на крысах лучевой миелоабляции сопровождается в ближайшие трое суток после облучения снижением потребления животными кислорода, не обусловленным влиянием гастростаза на экскурсию диафрагмы. Введение перед облучением цистамина в желудок не предупреждает этот эффект. У крыс местное противолучевое действие цистамина дигидрохлорида, введенного в желудок, не сопровождается признаками системного противолучевого действия, что, в случае воспроизведения на крупных лабораторных животных, делает этот препарат перспективным средством профилактики гастростаза при лучевой миелоабляционной терапии.

Литература

- Lorenz E, Congdon C, Uphoff D. Modification of acute irradiation injury in mice and guinea-pigs by bone marrow injections. *Radiology*. 1952; 58 (6): 863–77.
- Савченко В. Г., редактор. Протоколы трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. М.: Практика, 2020; 320 с.
- Поп В. П., Рукавицын О. А. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток: перспективы и альтернативы, собственный опыт. *Рос. журн. детск. гематол. онкол.* 2017; 4 (2): 46–69.
- Keit E, Liveringhouse C, Figura N, Weigand J, Sandoval M, Garcia G, et al. Feasibility and toxicity of full-body volumetric modulated arc-therapy technique for high-dose total body irradiation. *Technol Cancer Res Treat.* 2023; 22: 15330338231180779.
- Battipaglia G, Labopin M, Mielke S, Ruggeri A, Zubeyde Nur Ozkurt, Bourhis J, et al. Thiotepa-based regimens are valid alternatives to total-body irradiation-based reduced-intensity conditioning regimens in patients with acute lymphoblastic leukemia: a retrospective study on behalf of the acute leukemia working party of the European society for blood and marrow transplantation. *Transplant Cell Ther.* 2023; Oct 8: S2666-6367(23)01582-8. Online ahead of print.
- Cahu X, Labopin M, Giebel S, Aljurf M, Kyrz-Krzemien S, Socié G, et al. Impact of conditioning with TBI in adult patients with T-cell ALL who receive a myeloablative allogeneic stem cell transplantation: a report from the acute leukemia working party of EBMT. *Bone marrow Transplantation.* 2016; 51 (3): 351–7.
- Драчёв И. С., Зацепин В. В., Иванченко А. В., Ивницкий Ю. Ю., Крюков Е. В., Селезнёв А. Б. Острые поражения, возникающие в результате внешнего облучения организма человека. В книге: Софронов Г. А., Крюков Е. В., редакторы. Военная токсикология, радиология и медицинская защита. СПб.: ВМедА, 2023; с. 507–39.
- Konishi T, Ogawa H, Najima Y, Hashimoto S, Wada A, Adachi H, et al. Safety of total body irradiation using intensity-modulated radiation therapy by helical tomotherapy in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a prospective pilot study. *J Radiat Res.* 2020; 61 (6): 969–76.
- Nakagaki M, Kennedy G, Gavin N, Clavarito A, Whitfield K. The incidence of severe oral mucositis in patients undergoing different conditioning regimens in haematopoietic stem cell transplantation. *Support Care Cancer.* 2022; 30 (11): 9141–9.
- Conard RA. Effect of X-irradiation on intestinal motility of the rat. *Am J Physiol.* 1951; 165 (2): 375–85.
- Krantis A, Rana K, Harding R. The effects of γ -radiation on intestinal motor activity and faecal pellet expulsion in the guinea pig. *Dig Dis Sci.* 1996; 41 (12): 2307–16.
- Erickson BA, Otterson MF, Moulder JE, Sarna SK. Altered motility causes the early gastrointestinal toxicity of irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1994; 28 (4): 905–12.
- Dorval ED, Mueller GP, Eng RR, Durakovic A, Conclin JJ, Dubois A. Effect of ionizing radiation on gastric secretion and gastric motility in monkeys. *Gastroenterology.* 1985; 89 (2): 374–80.
- Eagle D, Gian V, Lauwers G, Manivel J, Moreb J, Wingard J. Post-transplant complications. Gastroparesis following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation.* 2001; 28: 59–62.
- Chapman MJ, Nguyen NQ, Deane AM. Gastrointestinal dysmotility: clinical consequences and management of the critically ill patient. *Gastroenterol Clin North Am.* 2011; 40 (4): 725–39.
- Patel R, Soni M, Soyantar B, Shivangi S, Satarija S, Saraf M, et al. A clash of quorum sensing vs quorum sensing inhibitors: an overview and risk of resistance. *Arch Microbiol.* 2023. 205 (4): 107.
- Anne P, Prioux-Klotz C, Dubergé T, Chargari C, Gisserot O, de Jaureguiberry J-P. Radiation induced gastroparesis – case report and literature review. *J Gastrointest Oncol.* 2017; 8 (4): E52–5.
- Васин М. В. Препарат Б-190 (индралин) в свете истории формирования представлений о механизме действия радиопротекторов. *Рад Биол Радиозкол.* 2020; 60 (4): 378–95.
- Куна П. Химическая радиозащита: пер. с чешск. М.: Медицина, 1989; 192 с.
- Балаховский С. Д., Балаховский И. С. Методы химического анализа крови. 3-е изд. М.: Медгиз, 1953; 746 с.
- O'Grady J, Murphy CL, Burry L, Shanahan F, Buckley M. Defining gastrointestinal transit time using video capsule endoscopy: a study of healthy subjects. *Endosc Int Open.* 2020; 8 (3): E396–E400.
- Ivniysky JuJu, Schäfer TV, Rejniuk VL, Golovko AI. Endogenous humoral determinants of vascular endothelial dysfunction as triggers of acute poisoning complications. *J Appl Toxicol.* 2023; 43 (1): 47–65.
- Мартынова Н. А., Горохова Л. Г. Токсикологическая оценка индола. *Бюл. ВЧНЦ СО РАМН.* 2006; 65 (1): 248–51.
- Sender R, Fuchs S. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS Biol.* 2016; 14 (8): e1002533.
- Tanaka H, Takeuchi K, Okabe S. Role of accumulated gastric content in the pathogenesis of cysteamine- and mepirizole-induced duodenal ulcers in the rat. *J Intern Med Suppl.* 1990; 732: 69–75.
- Mole RH. The effect of X-irradiation on the basal oxygen consumption of the rat. *Q J Exp Physiol Cogn Med Sci.* 1953; 38 (2): 69–74.
- Russ M, Boerger E, von Platen P, Francis R, Taher M, Boemke W, et al. Surfactant depletion combined with injurious ventilation results in a reproducible model of the acute respiratory distress syndrome (ARDS). *J Vis Exp.* 2021; 170: e62327.
- Chang J, Liang S, Thanasekaran P, Chang H, Wen L-L, Chen C, et al. Translational medicine in pulmonary-renal crosstalk: therapeutic targeting of p-Cresyl sulfate triggered nonspecific ROS and chemoattractants in dyspneic patients with uremic lung injury. *J Clin Med.* 2018; 7 (9): 266.
- Thome T, Salyers Z, Kumar R, Hang D, Berru F, Ferreira L, et al. Uremic metabolites impair skeletal muscle mitochondrial energetics through disruption of the electron transport system and matrix dehydrogenase activity. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2019; 317 (4): C701–13.
- Kim Y-S, Lee H, Lee M, Park Ye, Sehwan M, et al. The effect of mitochondrial transplantation on sepsis depend on the type of cell from which they are isolated. *Int J Mol Sci.* 2023; 24 (12): 10113.

References

- Lorenz E, Congdon C, Uphoff D. Modification of acute irradiation injury in mice and guinea-pigs by bone marrow injections. *Radiology.* 1952; 58 (6): 863–77.
- Savchenko VG, redaktor. Protocoly transplantacii allogennyh gemopoeticheskikh stvolovykh cletok. M.: Praktika, 2020; 320 s.
- Pop VP, Rukavicyn OA. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: prospects and alternatives, own experience. *Ros zhurn detsk gematol onkol.* 2017; 4 (2): 46–69. Russian.
- Keit E, Liveringhouse C, Figura N, Weigand J, Sandoval M, Garcia G, et al. Feasibility and toxicity of full-body volumetric modulated arc-therapy technique for high-dose total body irradiation. *Technol Cancer Res Treat.* 2023; 22: 15330338231180779.
- Battipaglia G, Labopin M, Mielke S, Ruggeri A, Zubeyde Nur Ozkurt, Bourhis J, et al. Thiotepa-based regimens are valid alternatives to total-body irradiation-based reduced-intensity conditioning regimens in patients with acute lymphoblastic leukemia: a retrospective study on behalf of the acute leukemia working party of the European society for blood and marrow transplantation. *Transplant Cell Ther.* 2023; Oct 8: S2666-6367(23)01582-8. Online ahead of print.
- Cahu X, Labopin M, Giebel S, Aljurf M, Kyrz-Krzemien S, Socié G, et al. Impact of conditioning with TBI in adult patients with T-cell ALL who receive a myeloablative allogeneic stem cell transplantation: a report from the acute leukemia working party of

- EBMT. Bone marrow Transplantation. 2016; 51 (3): 351–7.
7. Drachyov IS, Zacepin VV, Ivanchenko AV, Ivnitsky JuJu, Kryukov EV, Seleznyov AB. Acute lesions resulting from external irradiation of the human body. In book: Sofronov GA, Kryukov EV, ed. Military toxicology, radiology and medical protection. Saint Petersburg: VMedA, 2023; p. 507–39. Russian.
8. Konishi T, Ogawa H, Najima Y, Hashimoto S, Wada A, Adachi H, et al. Safety of total body irradiation using intensity-modulated radiation therapy by helical tomotherapy in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a prospective pilot study. *J Radiat Res.* 2020; 61 (6): 969–76.
9. Nakagaki M, Kennedy G, Gavin N, Clavario A, Whitfield K. The incidence of severe oral mucositis in patients undergoing different conditioning regimens in haematopoietic stem cell transplantation. *Support Care Cancer.* 2022; 30 (11): 9141–9.
10. Conard RA. Effect of X-irradiation on intestinal motility of the rat. *Am J Physiol.* 1951; 165 (2): 375–85.
11. Krantis A, Rana K, Harding R. The effects of γ -radiation on intestinal motor activity and faecal pellet expulsion in the guinea pig. *Dig Dis Sci.* 1996; 41 (12): 2307–16.
12. Erickson BA, Otterson MF, Moulder JE, Sarna SK. Altered motility causes the early gastrointestinal toxicity of irradiation. *Int J Radiat Oncol. Biol. Phys.* 1994; 28 (4): 905–12.
13. Dorval ED, Mueller GP, Eng RR, Durakovic A, Conclin JJ, Dubois A. Effect of ionizing radiation on gastric secretion and gastric motility in monkeys. *Gastroenterology.* 1985; 89 (2): 374–80.
14. Eagle D, Gian V, Lauwers G, Manivel J, Moreb J, Wingard J. Post-transplant complications. Gastroparesis following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation.* 2001; 28: 59–62.
15. Chapman MJ, Nguyen NQ, Deane AM. Gastrointestinal dysmotility: clinical consequences and management of the critically ill patient. *Gastroenterol Clin North Am.* 2011; 40 (4): 725–39.
16. Patel R, Soni M, Soyantar B, Shivangi S, Satarija S, Saraf M, et al. A clash of quorum sensing vs quorum sensing inhibitors: an overview and risk of resistance. *Arch Microbiol.* 2023. 205 (4): 107.
17. Annede P, Prieux-Klotz C, Dubergé T, Chargari C, Gisserot O, de Jaureguiberry J-P. Radiation induced gastroparesis – case report and literature review. *J Gastrointest Oncol.* 2017; 8 (4): E52–5.
18. Vasin MV. The drug B-190 (indralin) in the light of the history of the formation of ideas about the mechanism of action of radioprotectors. *Rad Biol Radioecol.* 2020; 60 (4): 378–95. Russian.
19. Kuna P. Chemical radioprotection: Transl. from Czech. M.: Medicina, 1989; p. 192. Russian.
20. Balahovskij SD, Balahovskij IS. Methods of chemical analysis of blood. 3th ed. M.: Medgiz, 1953; p. 746. Russian.
21. O'Grady J, Murphy CL, Burry L, Shanahan F, Buckley M. Defining gastrointestinal transit time using video capsule endoscopy: a study of healthy subjects. *Endosc Int Open.* 2020; 8 (3): E396–E400.
22. Ivnitsky JuJu, Schäfer TV, Rejniuk VL, Golovko AI. Endogenous humoral determinants of vascular endothelial dysfunction as triggers of acute poisoning complications. *J Appl Toxicol.* 2023; 43 (1): 47–65.
23. Martynova NA, Gorohova LG. Toxicological evaluation of indole. *Bjul. VSNC SO RAMN.* 2006; 65 (1): 248–51. Russian.
24. Sender R, Fuchs S. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS Biol.* 2016; 14 (8): e1002533.
25. Tanaka H, Takeuchi K, Okabe S. Role of accumulated gastric content in the pathogenesis of cysteamine- and mepirizole-induced duodenal ulcers in the rat. *J Intern Med Suppl.* 1990; 732: 69–75.
26. Mole RH. The effect of X-irradiation on the basal oxygen consumption of the rat. *Q J Exp Physiol Cogn Med. Sci.* 1953; 38 (2): 69–74.
27. Russ M, Boerger E, von Platen P, Francis R, Taher M, Boemke W, et al. Surfactant depletion combined with injurious ventilation results in a reproducible model of the acute respiratory distress syndrome (ARDS). *J Vis Exp.* 2021; 170: e62327.
28. Chang J, Liang S, Thanasekaran P, Chang H, Wen L-L, Chen C, et al. Translational medicine in pulmonary-renal crosstalk: therapeutic targeting of p-Cresyl sulfate triggered nonspecific ROS and chemoattractants in dyspneic patients with uremic lung injury. *J Clin Med.* 2018; 7 (9): 266.
29. Thome T, Salyers Z, Kumar R, Hang D, Berru F, Ferreira L, et al. Uremic metabolites impair skeletal muscle mitochondrial energetics through disruption of the electron transport system and matrix dehydrogenase activity. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2019; 317 (4): C701–13.
30. Kim Y-S, Lee H, Lee M, Park Ye, Sehwan M, et al. The effect of mitochondrial transplantation on sepsis depend on the type of cell from which they are isolated. *Int J Mol Sci.* 2023; 24 (12): 10113.