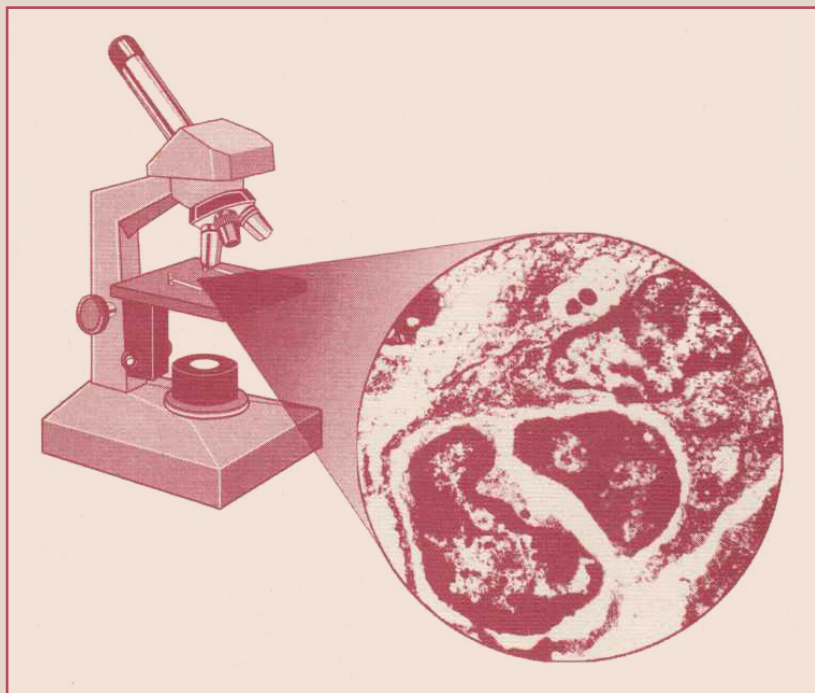


Элеонора Владимировна
МИХАЙЛОВСКАЯ

**ЭМПЕРИПОЛЕЗИС:
ГИПОТЕЗЫ И ФАКТЫ**



**КЛЕТОЧНЫЕ РЕАКЦИИ СТРОМЫ КРОВЕТВОРНЫХ ОРГАНОВ
ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ОРГАНИЗМ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ
И НЕИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ**

НАУЧНЫЕ ТРУДЫ



Элеонора Владимировна
МИХАЙЛОВСКАЯ

**ЭМПЕРИПОЛЕЗИС:
ГИПОТЕЗЫ И ФАКТЫ**

**КЛЕТОЧНЫЕ РЕАКЦИИ СТРОМЫ КРОВЕТВОРНЫХ ОРГАНОВ
ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ОРГАНИЗМ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ
И НЕИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ**

Научные труды

**Киев – Рига
1998**

© Михайловская Э. В. «Эмпериполезис: гипотезы и факты»

Работа посвящена анализу современных представлений о биологическом явлении, которое получило в 1956 г. название «эмпериполезис». На базе собственных исследований представлена морфофункциональная характеристика эмпериполезиса и его отдельных стадий. Приведено достаточное количество фактов, которые обосновывают утверждение об ошибочности термина «мегакариоцитарно-лейкоцитарный эмпериполезис». Предложена гипотеза филогенетического единства эмпериполезиса и фагоцитоза.

© Михайловская Э. В. «Клеточные реакции стромы кроветворных органов при воздействии на организм ионизирующей и неионизирующей радиации».

Научная работа выполнена автором в Научном центре радиационной медицины АМН Украины, г. Киев. Она содержит экспериментальные исследования состояния стромальных элементов кроветворных органов млекопитающих при воздействии на организм ионизирующей радиации в дозах 0,3–2,0 Гр и СВЧ-облучения (плотность потока мощности 0,25 мВт/см²). Установлено, что клетки стромы претерпевают морфофункциональные изменения в зависимости от дозы рентгеновского облучения, которые характеризуются стимуляцией их функций в диапазоне доз 0,3–0,5 Гр и ингибцией последних при дозах 1,0–2,0 Гр. СВЧ-облучение испытанной мощности производит преимущественно стимулирующий эффект, который усиливается при комбинации с рентгеновским облучением в дозе 0,5 Гр. Детально изучено взаимодействие клеток по типу эмпериполезиса и установлено ингибирующее воздействие на этот процесс рентгеновского облучения в дозах свыше 1,0 Гр. Показано стимулирующее и ингибирующее воздействие ионизирующей и неионизирующей радиации на периполезисное взаимодействие мегакариоцитов и нейтрофильных лейкоцитов костного мозга.

Ключевые слова: ионизирующая радиация, неионизирующая радиация, стромальные клетки кроветворных органов, лимфоциты, лейкоциты, эмпериполезис, мегакариоциты, тромбоциты.

Элеонора Владимировна Михайловская (1940–1997), доктор биологических наук, заведующая лабораторией экспериментальной гематологии Научного центра радиационной медицины Академии медицинских наук Украины.

Издание подготовил В. Михайловский

**Издатель: В. Михайловский
© В. Михайловский, 1998**

© **Mykhaylovskaya E. V.** This report is dedicated of modern notion about biological phenomenon which was named emperipolosis in 1956. On the basis of proper data, morphofunctional characteristics of character of concept about existence of “megakaryocyetary-leukocyetary” type of emperipolosis is substantiated. A hypothesis about phylogenetic unity of emperipolosis and phagocytosis is suggested.

© **Mykhaylovskaya E. V. “Cell Reactions in Haemopoietic Organs Stroma under Influence of Ionizing and Non-ionizing Radiation”.**

The scientific work was executed by the author at the National Center of Radiation Medicine, Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv. It contains experimental studies of influence of ionizing radiation exposure in doses 0.3–2.0 Gy and non-ionizing microwave irradiation (rate 0.25 mW/sq.cent.) on stromal elements of mammalian haemopoietic organs. It was discovered that stromal cells had undergone dose-depended morpho-functional changes. These changes were characterized by stimulation of cell functions in dose diapason 0.3–0.5 Gy and inhibition in doses of 1.0 and 2.0 Gy. High-frequency irradiation of tested capacity had mostly stimulating effect, which is forced in combination with X-ray irradiation in dose of 0.5 Gy. Emperipolosis influence has been studied in details and inhibition effect of ionizing irradiation on this process has been revealed at doses above 1.0 Gy. Dose-dependent stimulation and inhibition interaction of megakaryocytes and neutrophilic leucocytes of marrow by ionizing and non-ionizing irradiation was shown.

The key words: ionizing radiation, non-ionizing radiation, stromal cells of haemopoietic organs, lymphocytes, leucocytes, emperipolosis, megakaryocytes, trombogenesis.

Eleonora V. Mykhaylovskaya (1940–1997), M.D., Head of Laboratory of Experimental Haematology of the National Center of Radiation Medicine of the Academy of Medical Sciences of Ukraine.

Preparation of the present publication, V. Mykhaylovskyy

Дорогой читатель!

Невыносимо больно писать о любимой, которая еще вчера была полна счастья, радости, оптимизма. Она до последних дней верила, что победит внезапно свалившееся коварное заболевание и возвратится к своим научным занятиям.

Фанатичная преданность науке, неумная тяга к познанию и в то же время искренность и жизнерадостность предопределили широкий круг ее верных друзей. Не имею возможности назвать всех. И не имею морального права кого-то не назвать. Ибо здесь таится опасность упустить хотя бы одно имя. А это значит – обидеть, прежде всего, Элю.

С 1987 года и до последних дней ее исследовательская деятельность проходила в Научном центре радиационной медицины Академии медицинских наук Украины (директор – академик АМН Украины А. Е. Романенко). С прекрасным коллективом Центра Элю связывала взаимная любовь, верность, привязанность.

Последние годы она работала над рукописью монографии, подводила итоги своих исследований. К сожалению, завершить работу ей не удалось...

Приняв на себя ответственность представить читателю две научные работы Эли, хочу сказать, что основная цель настоящего издания – ознакомить специалистов с результатами ее многолетнего труда, выводами, суждениями, размышлениями. Может быть, это поможет другим в дальнейших исследованиях, приблизит к разгадке одной из тайн загадочного мира живой клетки. Уже слабеющей рукой весной 1997 года Эля записала: «Интересно, будет ли разгадано явление “эмпериполезиса” в нашем веке? Или же человечество заберет эту тайну в XXI век?»

Хотелось бы также, чтобы читатель ощутил драму научного поиска, которая за колонками цифр, описаниями наблюдений, сухими аргументами скрыта от непосвященного. Публиковать или не публиковать новые результаты? Аргументов достаточно и для одного, и для другого решения. Публиковать только научные результаты или предположения, гипотезы, ошибки? Что приближает познание истины?

Приоритет важен, – подчеркивала Эля. Но не менее, а возможно, еще более важны обоснованность, надежность выводов. И главное в науке – честность. Эля считала, что это моральное кредо ученого, независимо от значимости полученных им результатов.

Уверен, что автор еще много работал бы над монографией перед тем, как отдать ее на суд читателя. Но увы...

Надеюсь, что меня не осудят за публикацию не вполне завершенной работы.

Это издание посвящается всем коллегам Эли, ее друзьям и близким и, конечно, любимым ею и любящим ее дочери Лене, внучкам Витусе и Леночке.

Уверен, с этим согласилась бы и Она, моя супруга.

Выражаю глубокую признательность всем, кто помог в подготовке настоящего издания, и прежде всего – И. В. Процык и Н. М. Иващенко.

Не могу не выразить сердечную признательность профессору М. Рудневу, профессору Л. Порохняк-Гановской, президенту Международной организации «Жіноча громада» М. Драч, профессору В. Барабою, профессору Е. Чеботареву, всем организаторам и участникам III симпозиума (декабрь 1997 г., г. Киев) «Диагностика и профилактика негативных последствий радиации», посвятившим его памяти своей коллеги – Э. Михайловской.

Искренне



В. Михайловский

Dear Reader!

It hurts unbearably to write about beloved one who just yesterday lived a life full of happiness, joy and optimism. To her last days she believed she would overcome an insidious disease that had collapsed suddenly and would return to her scientific occupation.

Her selfless service to science, irrepressible thirst for knowledge just as sincerity and joie de vivre predetermined the broad circle of her true friends. I couldn't possibly enumerate all the names. But I don't have the moral right to fail to name anyone either for there's hidden a peril to miss at least a single name. And that means – to offend first of all Elja.

Since 1987 until the last days she held on her scientific activities at the Research Center for radiation Medicine, Academy of Medical Sciences of Ukraine (Director – academician of AMS of Ukraine Anatoliy Romanenko). Mutual love, loyalty, affection associated Elja closely with her excellent colleagues.

During her last years she was working on a manuscript of monographs, summing her scientific researches up. Unfortunately she didn't succeed in concluding the work...

Taking upon myself the responsibility for representation of two Elja's scientific works I'd like to say that the principal purpose of the present publication is to acquaint the experts with the results of her many years work, conclusions, opinions, meditations. Perhaps it will help others in their subsequent scientific researches, to open a door to one of the mysteries of the enigmatic animate cell world. In spring 1997 Elja wrote by already weakened hand: I wonder whether the phenomenon of emperipolesis will be unraveled this century or the mankind will take this mystery away in XXI century?

Also I would like to make a reader sense a dramatic nature of the scientific search hidden from uninitiated behind the columns of figures, descriptions of observations, bear arguments. Should the new results be published or not? There are sufficient grounds for every decision. Should just the exact results be published or suppositions, hypotheses, mistakes either? What draws nearer the cognition of truth?

What important is priority, – Elja underlined. No less or perhaps even more one should consider validity and reliability of the conclusions and above all – integrity of men of science. Elja believed that integrity is a moral credo of a real scientist, irrespective of significance of the conclusions he derives.

I am confident that the author would have been working hard on the monograph before she has placed it for the verdict of readers. But alas...

I hope I won't be blameworthy for publication of the work not quite concluded.

This publication is devoted to ail Elja's colleagues, her dearest and friends and certainly to beloved ones by Elja and hers affectionately daughter Lena, granddaughters Vitusja and Lenochka.

I am sure my wife, She would also agree with mentioned above.

I would like to express deep gratitude to all those who contributed to the preparation of the present publication, in particular, I. Protsyk and N. Ivashchenko.

I cannot but express sincere thankfulness to professor M. Rudnyev, professor L. Porohnyak-Ganovska, president of International (woman's) organization "Zhinocha gromada" M. Drach, professor V. Baraboy, professor E. Chebotarev and acknowledge the organizers and participants of the third symposium (December 1997, Kiev) "Diagnostics and Prophylaxis of the negative consequences of Radiation" dedicated to the memory of their colleague – E. Mykhaylovskaya.

Sincer



V. Mykhaylovskyy

Перечень сокращений и обозначений

СКК	– стволовые кроветворные клетки.
РО	– рентгеновское облучение.
СВЧ-О	– сверхвысокочастотное облучение.
МИ	– митотический индекс.
ИММ	– индекс меченых митозов.
ИМЯ	– индекс меченых ядер.
БГЛ	– большие гранулярные лимфоциты.
Гр	– грэй.

СОДЕРЖАНИЕ

ЭМПЕРИПОЛЕЗИС: ГИПОТЕЗЫ И ФАКТЫ

...

КЛЕТОЧНЫЕ РЕАКЦИИ СТРОМЫ КРОВЕТВОРНЫХ ОРГАНОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ОРГАНИЗМ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ И НЕИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ

ВВЕДЕНИЕ	21
ГЛАВА 1. Обзор литературы	25
ГЛАВА 2. Материал и методы исследования	36
ГЛАВА 3. Гематологические показатели периферической крови экспериментальных животных, подвергшихся разделному и комбинированному воздействию ионизирующей и неионизирующей радиации	40
ГЛАВА 4. Морфофункциональное исследование реакции стромальных клеток кроветворных органов на радиационное воздействие	43
ГЛАВА 5. Морфофункциональное исследование особенностей взаимодействия стромальных клеток и лимфоцитов по типу эмпериполезиса в норме и при радиационном воздействии	57
ГЛАВА 6. Сравнительная оценка раздельного и комбинированного воздействия ионизирующей и неионизирующей радиации на систему мегакариоцитов и тромбоцитов	60
ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	62
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	83
ВЫВОДЫ	89
УКАЗАТЕЛЬ ЛИТЕРАТУРЫ	91
ПРИЛОЖЕНИЕ:	
а) таблицы	103
б) фотоматериалы	120

***ЭМПЕРИПОЛЕЗИС:
ГИПОТЕЗЫ И ФАКТЫ***

На протяжении многих лет работы в области цитологии мы неоднократно задавали себе вопрос: почему порой так труден путь одних открытий (например, для доказательства реальности фагоцитоза И. И. Мечникову понадобилось 15 лет, в течение которых легко могла быть утрачена приоритетность автора) и так просто, без обсуждения или дискуссий, входит в обиход претендующая на открытие фактически нереальная цитологическая информация?

Можно привести множество примеров, когда сомнительные заключения и выводы не только не встречаются должной критической оценки, но и постоянно используются в цитологической литературе в дальнейшем. В монографии Войно-Ясенецкого и др. [1] обобщены сведения о причинах ошибок, встречающихся в работах цитологов, гистологов и патологоанатомов. Их обобщенный вопрос: «Почему столь упорно повторяются ошибки, разоблаченные еще нашими отцами и дедами?» – остается актуальным и сегодня, хотя прошло более 20 лет со времени появления этой чрезвычайно полезной для морфологов работы.

В настоящее время возвращение к данной теме особенно актуально, так как становится очевидным, что увеличивающееся количество цитологических ошибок переходит в качество и закрепляется как истина. Это может повлечь за собой нежелательные последствия, особенно для молодых исследователей, которые, вступая на путь научных познаний, принимают спорные «новинки» за аксиому и, таким образом, сразу же оказываются на пути «нарушений законов логики в суждениях и выводах» [1].

Мы предлагаем рассмотреть этот вопрос исключительно в связи с тем, что в последние годы в цитологической литературе в ряде случаев наблюдается тенденция к терминологической некорректности, которая, на наш взгляд, иногда выходит за пределы допустимого. Мы сознательно представили материал без ссылок на авторов ряда цитируемых источников, исключительно для того, чтобы придать доброжелательный тон дискуссии, если она будет поддержана.

Речь идет о научной интерпретации биологической сути и механизма явления, получившего в 1956 г. название «эмпериполезис». Этот термин ввели в цитологию американские ученые Humble, Jayne и Pulvertaft, обозначив им трудно переводимый на русский язык оборот «inside round about wandering», что подразумевает возможность «блуждания» одного вида клеток в цитоплазме клеток другого вида [2].

В справочнике по иммунологии дана следующая трактовка эмпериполезиса: «Сущность явления состоит в том, что лимфоциты при кинематографическом наблюдении в культуре ткани окружают другие клетки независимо от их вида и без предварительной сенсибилизации проходят через цитоплазму и ядро, деформируя в некоторых случаях ядрышки; при этом лимфоциты могут подвергаться митотическому делению» [3].

Уже в этом определении содержится неточность, так как речь идет о прохождении лимфоцита не только через цитоплазму, но и через ядро другой клеточной формы, причем сообщается об этом как о явлении, абсолютно доказанном. Нет, вероятно, лучшего способа приведения к абсурду любого самого плодотворного понятия, чем неправомерное расширение его содержания вплоть до полной утраты качественной определенности. На протяжении многих лет мы стремимся привлечь внимание специалистов к этому вопросу, так как убеждены, что информация о способности прохождения клеток одного вида через цитоплазму и тем более ядра клеток другого вида не может оставаться без обсуждения [4–6].

Однако, к сожалению, в последние годы все чаще появляются научные работы, авторы которых сообщают о «способности прохождения одних клеточных элементов сквозь другие», о «способности одной клетки проникать в цитоплазму другой, задерживаться там некоторое время или проходить через нее насквозь». Авторы многих трудов, выполненных на современном методическом уровне, используют термины «внутриклеточные», «внутриэпителиальные», «внутриэндотелиальные», «внутристромальные» лимфоциты, не приводя при этом никаких данных о механизме формирования таких структурно-функциональных комплексов.

Не вызывает сомнений, что легкость, с которой указанная выше терминология входит в обиход современного цитолога, объясняется авторитетом ряда достаточно известных специалистов, информирующих в своих работах о возможности миграции зрелых клеток в кровотоки через «поры», которые формируются в цитоплазме эндотелиальных элементов и рассматриваются как своеобразные шлюзы для транзита клеток [7, 8].

Мы не возражаем против этого, так как такие данные получены исследователями стран дальнего зарубежья с помощью сканирующего и просвечивающего электронного микроскопа и, несомненно, подкупают своей доказательностью. Однако даже при этом следует учитывать два обстоятельства. Во-первых, электронная микроскопия позволяет изучать только статичное основание клеток, поэтому «проследить последовательные этапы миграции широкоплазменных лимфоцитов из сосудистого русла через эндотелиальную клетку, базальный слой, соединительно-тканную строму, базальную мембрану эпидимального слоя и в сами эпидимальные клетки» – весьма сложная задача [9]. Во-вторых, для достоверного доказательства возможности трансмуральной миграции кровяных клеток необходима регистрация этого процесса в динамике, что возможно только при прижизненном изучении клеток.

Изучение живой клетки – это естественно новый этап в цитологии. Естественно, в период становления цитологии как науки такой вывод можно было справедливо назвать преждевременным, так как морфологические методы исследования только набирали силу [10]. Однако в настоящее время, когда с помощью морфологических методов исследования и, прежде всего, электронной микроскопии фактически проведена «компьютерная томография» мертвой клетки, становится опасным игнорирование возможностей фазово-контрастной микроскопии живого объекта.

Разве не стоило внести коррективы в представление о количественном представительстве митохондрий в живой клетке [11]? Форма этого органоида оценивалась специалистами обычно такой, какую приходилось видеть на ультратонких срезах, представляющих лишь ничтожно малую часть целой клетки. За наблюдаемой формой автоматически следовало представление о количестве, поскольку каждое сечение митохондрий, в какой бы плоскости оно ни проходило, принималось за целую единицу с вытекающей отсюда интерпретацией топографии и даже способов репродукции. Представительство митохондрий в отдельных клетках стали исчислять тысячами, а генез пытались объяснить исходя из конфигурации митохондрий на срезах, создающих впечатление в одних случаях перешнуровки и простого деления, а в других – почкования.

Однако представление о форме и свойствах митохондрий, сложившееся на основе анализа ультраструктуры фиксированной клетки, не отражает истинного состояния живой клетки и ее органоидов.

Изучая в течение ряда лет взаимоотношения клеток в культурах кроветворных органов экспериментальных животных с помощью метода прижизненной микрокинорегистрации в фазовом контрасте, мы имели возможность не только видеть, но и фотографировать на пленку митохондрии живых стромальных клеток.

При проекции киноматериала на экран в цитоплазме клеток отчетливо видны три-четыре червеобразных образования, каждое равное по своей длине примерно половине длины самой клетки. При этом митохондрии ориентированы вдоль продольной оси клетки и пребывают в непрерывном движении в виде часто повторяющихся змеевидных и спиралевидных изгибов, поворотов, равномерных колебаний. В них нет заметных вздутий или булавовидных утолщений, трубчатый профиль митохондрий остается равномерным на всем их протяжении.

Еще одним наглядным примером важности информации, получаемой методом прижизненной микрокино съемки, является оценка формы и размеров клеток. Вопреки широко распространенным представлениям о существовании клеток, характеризующихся конкретной формой, следует признать, что постоянное изменение формы и размеров – характерная особенность живых клеток. Для правильной интерпретации данных, которые морфологи видят на фиксированных и окрашенных препаратах, представляет интерес следующий вопрос. На чем базируются, например, данные большинства исследователей, которые признают прямой (не митотический) способ клеточной пролиферации? Как правило, это морфологическая регистрация перешнуровок, перетяжек ядер и цитоплазмы, которые делят клетку на равные или неравные части.

В то же время при наблюдении за живыми клетками становится очевидным, что их ядра – чрезвычайно лабильные структуры: легко меняющие исходную форму и приобретающие при этом самую причудливую конфигурацию. Нередко создается впечатление, что ядра клеток формируют перетяжки, которые могут разделить их минимум на две, а иногда – на 3–5 частей. Однако дальнейшие непрерывные наблюдения показывают, что состояние это легко обратимо и через некоторое время ядро принимает прежнюю округлую или овальную форму. Поэтому исследователи, которые представляют амитоз как реальный вариант клеточной репродукции, для подтверждения своих выводов обязаны пользоваться возможностями метода прижизненной кинорегистрации. Лично нам, несмотря на многолетнее пристальное внимание к амитозу, ни разу не удалось зафиксировать на кинопленку этот процесс.

Сегодня уже не вызывает сомнений тот факт, что дальнейший прогресс современной цитологии во многом определяется изучением живых клеток. Широкое внедрение в цитологические работы прижизненного изучения клеток позволит ученым по-новому увидеть и осмыслить многие клеточные потенции, в том числе специфику взаимодействия клеток различного вида при эмпериполезисе.

Мы уже выражали свое отношение к позиции ряда цитологов, легко тиражирующих представления о способности клеток «проходить через клетки», «пенетрировать другие клетки» и т. д. Если это будет достоверно доказано и обосновано, то наше мнение никак не может повлиять на реальность такого поведения клеток. Что же касается оценки явления эмпериполезис как возможности «одной

клетки проникать в цитоплазму другой, задерживаться там некоторое время или проходить через нее насквозь», то мы имеем право уже сегодня обосновать ошибочность такого толкования.

Сущность эмпериполезиса состоит в способности клеток одного вида образовывать в своей цитоплазме вакуоль (такую же, как фагоцитарная), в которой на некоторое время изолируется от окружающей межклеточной среды клетка другого вида. При этом после выхода одной клетки из цитоплазматической вакуоли другой клетки оба партнера остаются как морфологически, так и функционально полноценными. С помощью метода цейтраферной микрокино съемки в фазовом контрасте мы изучили эмпериполезисное взаимодействие между стромальными фибробластами кровеносных органов (костный мозг, тимус, лимфатические узлы) и лимфоцитами. Это лимфоцитарный эмпериполезис. На так называемом мегакариоцитарном варианте этого явления мы остановимся позднее.

При прижизненном наблюдении установлены следующие стадии эмпериполезиса. На первой из них регистрируются приближение лимфоцита к стромальной клетке и прикрепление его к наружной поверхности ее мембраны. Вторая стадия представляет собой процесс «отекания» лимфоидной клетки цитоплазматическими псевдоподиями стромального фибробласта и образования вакуоли. Пребывание лимфоцита в цитоплазматической вакуоли может длиться несколько часов, в течение которых лимфоцит способен подвергаться митотическому делению и бластотрансформации. Последняя стадия эмпериполезиса завершается освобождением лимфоцита (или лимфоцитов) из цитоплазматической вакуоли стромальной клетки в окружающую среду.

Механизмы формирования вакуолей эмпериполезиса и фагоцитоза, вероятно, аналогичны: образование цитоплазматических выростов (псевдоподий), имеющих вид «парусов», «вуалеподобных шлейфов», «пальцевидных образований», которые, обволакивая объект фагоцитоза или эмпериполезиса, втягивают его в тело клетки, формируя вакуолеобразную полость. Разница состоит в том, что при фагоцитозе в цитоплазматическую вакуоль попадают продукты клеточного распада, а при эмпериполезисе – жизнеспособные лимфоциты, которые предварительно избирают для контакта конкретную стромальную клетку.

Возможно, фагоцитоз и эмпериполезис возникли на единой филогенетической основе, но в процессе эволюционных преобразований приобрели специализированное назначение. Эта гипотеза требует отдельного обсуждения.

В настоящей работе мы считаем необходимым затронуть более конкретные цитологические проблемы, имеющие непосредственное отношение к идентификации эмпериполезиса. В первую очередь необходимо подвергнуть ревизии правомочность использования в цитологических работах терминов «внутриклеточный лимфоцит», или «клетка в клетке». Такая «образность» удобна для смыслового выражения характера взаимодействия клеток, однако при этом исследователи должны четко определить свои позиции в отношении механизма возникающей кооперации.

Можно ли считать объекты, которые регистрируются в вакуолях эмпериполезиса, равно как и в вакуолях фагоцитоза, находящимися «внутриклеточно»? В отношении пино- и фагоцитоза дан однозначный ответ на этот вопрос в фундаментальном руководстве «Физиология клетки» [12]. «Поглощенный материал находится, строго говоря, вне клетки, точно так же как содержащаяся в просвете кишечника пища – вне тела. Для того чтобы поглощенный субстрат смог включиться в обменные про-

цессы клетки, он должен проникнуть через мембрану вакуоли. Так как мембрана вакуоли, образующаяся в процессе пиноцитоза, по существу, представляет собой фрагмент плазматической мембраны, то логично предположить, что она сохраняет и ее свойства. Возникает вопрос, не происходит ли в некоторых случаях уже после образования вакуоли разрушения мембраны, в результате чего ранее изолированный субстрат оказывается в непосредственном контакте с содержимым клетки. Фактов, которые свидетельствовали бы о таком разрушении, пока мало», – пишет автор руководства Х. Иост.

Что же касается явления эмпериполезиса, то состояние наружных плазматических мембран взаимодействующих клеток явилось для нас предметом наиболее пристального внимания. Для того чтобы считать объект эмпериполезиса «внутриклеточным», необходимо зарегистрировать разрушение мембран вакуоли, в результате чего ее содержимое могло бы оказаться в непосредственном контакте с органоидами клетки, в цитоплазме которой сформировалась вакуоль. Однако методом электронной микроскопии достоверно показаны идентичность и непрерывность поверхностной мембраны клетки, содержащей в цитоплазме другую клеточную форму, и мембраны, образующей вакуоль эмпериполезиса.

Таким образом, если речь идет о явлении эмпериполезиса, то под термином «внутриклеточный», или «клетка в клетке», подразумевается обязательное наличие в цитоплазме клетки, в которой зарегистрирована жизнеспособная клетка другого вида, вакуоли, выявляемой на светооптическом или ультраструктурном уровнях и при изучении живых клеток. Любые другие трактовки понятия «внутриклеточный» требуют от исследователей предоставления в публикуемых работах более полной цитологической информации, которой они располагают.

В настоящем сообщении мы не имеем возможности в полном объеме обсуждать вопрос о механизмах формирования клетками цитоплазматических вакуолей. Отметим, казалось бы, общепризнанное: при завершенном фагоцитозе после «втягивания» клеткой внутрь клеточного тела вакуоли, заполненной материалом фагоцитоза, должно обязательно произойти слияние мембраны противоположных участков псевдоподий, обеспечивающих фагоцитоз [13]. Мы не беремся оспаривать этот факт. Однако совершенно очевидно, что в некоторых случаях слияния мембран двух смыкающихся отростков клетки не происходит.

Это вариант фагоцитоза, известный под названием «регургитация». Суть его состоит в том, что по каким-то в настоящее время еще не известным причинам не происходит слияния мембраны участков клетки, которые формируют цитоплазматическую вакуоль. При такой ситуации поступающие в фагосому лизосомные ферменты могут выделяться из нее во внеклеточное пространство через щели, возникающие между не полностью сомкнувшимися псевдоподиями фагоцитирующей клетки.

Высказывается мнение, что регургитация – это и есть эмпериполезис, когда «макрофаг захватывает мелкие клетки (к примеру, лимфоциты), которые в составе фагосом проходят определенный путь внутри макрофага, а затем освобождаются из него» [14].

Это еще один пример поспешности в выводах. Макрофаги как специализированные фагоцитирующие клетки не вступают во взаимодействие с другими клетками по типу эмпериполезиса. Эмпериполезис – это прерогатива стромальных клеток кроветворных органов (ретикулярных, фибробластов, возможно, эндотелиальных).

Основное отличие эмпериполезиса от фагоцитоза состоит в том, что при фагоцитозе активна фагоцитирующая клетка (макрофаг), в то время как при эмпериполезисном взаимодействии клетка, в которой формируется вакуоль эмпериполезиса, инертна и выбор ее как мишени для эмпериполезиса определяется поисковым потенциалом лимфоцитов.

Поэтому, чтобы избежать ошибок и заблуждений при идентификации эмпериполезиса, в настоящее время следует рекомендовать использование метода прижизненного наблюдения и регистрации процесса взаимодействия клеток на киноплёнку.

Мы считаем необходимым подтвердить последнее результатами собственных данных, позволивших нам сделать вывод об ошибочности представленных в зарубежной литературе сведений о «мегакариоцитарном» варианте эмпериполезиса.

Действительно, в последние годы в литературе появилась серия работ, посвященных изучению взаимодействия лейкоцитов костного мозга с мегакариоцитами по типу эмпериполезиса [15–17]. «На пути к эндотелиальной стенке клеткам крови приходится проходить иногда и сквозь другие клеточные элементы, например, мегакариоциты. Такое прохождение одних клеточных элементов сквозь другие получило название эмпериполезиса... зафиксировано, что именно во время эмпериполезиса оксифильных нормоцитов через мегакариоциты и эндотелиальные клетки происходит их обезъядривание», – пишет Владимирская [18].

Сомневаясь в правильности подобной трактовки сущности эмпериполезиса, мы провели гистологический анализ клеточного комплекса «мегакариоцит – лейкоциты» в костном мозге экспериментальных животных. На гистологических срезах видно, что отдельные мегакариоциты, к которым, несомненно, «тяготеют» лейкоциты, окружены различным количеством этих клеток, многие из которых находятся как бы внутри мегакариоцитов. Это впечатление подкрепляется на препарате при движении микровинта микроскопа, определяющего глубину резкости изучаемого объекта. Каждый из таких лейкоцитов (чаще всего это сегментоядерные нейтрофильные лейкоциты) окружен светлой неокрашенной красителем зоной. Нередко эти светлые пространства тесно прилегают к многопластному или многодольчатому ядерному комплексу мегакариоцита и имеют вид вдавленных в него полостей.

С помощью метода прижизненной микрокиносъемки мы неоднократно регистрировали на киноплёнку взаимодействие лейкоцитов и мегакариоцитов костного мозга. Уже первые наблюдения показали, что это не эмпериполезис. Киноматериал, которым мы располагаем, однозначно свидетельствует о способности лейкоцитов оказывать на мегакариоциты лизирующее воздействие. На киноплёнке отчетливо видно, что по мере внедрения одного или нескольких лейкоцитов в мегакариоцит происходят фрагментация цитоплазмы последнего, распад ее до зернистости и лизиса. Выделяя (по принципу действия пульверизатора) в цитоплазму тромбоцитогенных мегакариоцитов вещества, обеспечивающие цитолиз, лейкоциты не только разрушают последние, но и, обволакиваясь слоем прилипающих к ним тромбоцитов, разносят их в различные участки зоны роста клеток костного мозга [19].

Небезынтересен тот факт, что и на гистологических срезах можно зарегистрировать признаки деструкции неполноценности мегакариоцитов, с которыми взаимодействуют лейкоциты. Подробный анализ морфологии таких мегакарио-

цитов представлен Власовым [20], который сумел сделать вывод о том, что морфологическая картина, изучаемая им на статистических препаратах, не укладывается в рамки понятия об эмпериполезисе. Автор допускает, что в данном случае *in situ* в костном мозге проявляется эффект цитотоксичности нейтрофильных лейкоцитов, направленной против мегакариоцитов. Однако объективно обосновав доказательства цитотоксической способности лейкоцитов костного мозга, автор считает более правильным использовать в данном случае появившийся недавно в литературе стран дальнего зарубежья термин «агрессивный эмпериполезис» [21, 22].

Мы еще раз позволим себе напомнить, что эмпериполезис по определению не несет в себе признаков агрессивности. И поэтому трактовка взаимодействия лейкоцитов и мегакариоцитов в костном мозге или Т-лимфоцитов с вирусосодержащими дендритными клетками в кроветворных органах при инфицировании ВИЧ с позиции агрессивного, т. е. цитолитического эмпериполезиса, на наш взгляд, слабо аргументирована и преждевременна.

В заключение следует отметить, что в настоящее время сведений об изучении эмпериполезиса в цитологической литературе настолько мало, что наша работа может рассматриваться как очередная попытка привлечь внимание исследователей к этому уникальному клеточному феномену. Мы полагаем, что явления эмпериполезиса и фагоцитоз – это два самостоятельных биологических процесса, стоящих у истоков эволюционного формирования иммунной системы организма. Возможно, механизмы неспецифической защиты реализуются клетками посредством фагоцитоза, в то время как способность к специфической селективной иммунорегуляции осуществляется путем эмпериполезисной кооперации иммунокомпетентных элементов.

На основе изучения особенностей взаимоотношений стромальных клеток и лимфоцитов в интактной и патологически настроенной кроветворной ткани человека и экспериментальных животных мы предлагаем гипотезу, согласно которой явление эмпериполезиса отражает на морфологическом уровне механизм, обеспечивающий наиболее благоприятные условия для реализации иммунокомпетентными клетками их потенциальных возможностей. Такая интерпретация биологической сути эмпериполезиса дает возможность ответить на вопрос, каким образом конкретный иммунорегулятор оказывает влияние в организме именно на данный тип лимфоцитов, данную субпопуляцию и данного клона и что предотвращает его воздействие на миллионы других лимфоцитов, имеющих одинаковые или сходные рецепторные структуры [23]. Не исключено также, что взаимодействие стромальных клеток и лимфоцитов по типу эмпериполезиса обеспечивает унифицированный вариант «обучения» иммунокомпетентных клеток. В этом плане явление эмпериполезиса может оказаться тем связующим звеном между теоретической и прикладной гематологией, которое позволит разработать критерии оценки функционального состояния стромы кроветворных органов и откроет перспективы поиска путей воздействия на него. Окончательная расшифровка биологической сущности уникального клеточного симбиоза может заполнить пробелы в эмбриологии, гематологии, иммунологии и онкологии, которые тормозят решение ряда важных практических задач современности, в том числе такой, как борьба со злокачественными заболеваниями.

Мы надеемся, что данная работа будет способствовать дальнейшему развитию представлений об эмпериполезисе, и с благодарностью примем все критические замечания в свой адрес.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Войно-Ясенецкий М. В., Жаботинский Ю. М. Источники ошибок при морфологических исследованиях. – М.: Медицина, 1970. – 319 с.
2. Humble J., Jayne W., Pulvertaft R. Biological interaction between lymphocytes and other cells // Brit. J. Haematol. – 1956. – N 2. – P. 283–294.
3. Jungman R. Иммунология: Справочник. – Киев: Наук. думка, 1981. – 461 с.
4. Михайловская Э. В. Критерии оценки явления эмпериполезиса в цитологических исследованиях // Докл. АН УССР. – 1986. – № 10. – С. 79–81.
5. Михайловская Э. В. К вопросу о целесообразности изучения нового биологического явления эмпериполезиса // Гематология и трансфузиология. – 1989. – № 3. – С. 60–62.
6. Михайловская Э. В. Теоретическое и практическое значение изучения явления эмпериполезиса в гематологии // Гематология и переливание крови. – Киев: Здоровье, 1991. – Вып. 25. – С. 17–19.
7. Мажуга П. М. Кровеносные капилляры и ретикулоэндотелиальная система костного мозга. – Киев: Наук. думка, 1978. – 190 с.
8. Хрущов Н. Г., Старостин В. И., Домарацкая Е. И. и др. Стволовые клетки крови. – М: ВИНТИ, 1988. – Т. 13. – 205 с.
9. Шахламов В. А., Битнер Е. Г. Морфологические аспекты миграции широкоплазменных лимфоцитов через эндимальную клетку сосудистого сплетения млекопитающих // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1992. – № 7. – С. 81–83.
10. Роскин Г. И., Левинсон Л. В. Микроскопическая техника. – М.: Медицина, 1957. – 189 с.
11. Мажуга П. М., Михайловская Э. В. Митохондрии живых клеток // Дифференцировка клеток в гисто- и органогенезах. – Киев: Наук. думка, 1975. – С. 19–23.
12. Иост Х. Физиология клетки. – М: Мир, 1975. – 861 с.
13. Фрейдлин И. С. Система мононуклеарных фагоцитов. – М.: Медицина, 1984. – 272 с.
14. Маянский Д. Н. Клетка Купфера и система мононуклеарных фагоцитов. – Новосибирск: Наука, 1981. – 169 с.
15. Le-Pasquale A. Emperipoiesis of granulocytes within megakaryocytes // Brit. J. Haematol. – 1985. – 60, N 2. – P. 384–386.
16. Tavassoli M. Modulation of megakaryocyte emperipoiesis by phlebotomy // Blood Cells. – 1986. – 12, N 1. – P. 205–216.
17. Lee K. P. Emperipoiesis of hematopoietic cells within megakaryocytes in bone marrow of the rat // Vet. pathol. – 1989. – 26, N 6. – P. 473–478.
18. Владимирская Е. Б. Костномозговое кроветворение. Оценка миелограммы // Гематология и трансфузиология. – 1990. – № 8. – С. 29–31.
19. Михайловська Е. В. Вплив роздільної і комбінованої дії іонізуючої радіації на тромбоцитопоез // Укр. радіол. журнал. – 1994. – № 3. – С. 192–194.

20. Власов П. А. Эмпериоплезис и взаимоотношение между мегакариоцитами и нейтрофильными гранулоцитами в костном мозге здоровых собак // Арх. анатомии, гистологии, эмбриологии. – 1989. – 96, № 2. – С. 60–63.

21. Gostanzi G. (цит. по Бутенко З. А.) 2-я встреча Европейской ассоциации гематопатологов // Гематология и трансфузиология. – 1990. – N 6. – С. 38–39.

22. Vago L., Berta L., Boldorini E. et al. Ultrastructural evidence of lymphocyte peri- and emperipolesis into follicular dendritic cells during HIV infection // Pathol. res. practice. – 1989. – 185, N 1. – P. 42–45.

23. Чипенс Г. И. Модель тетиновой системы иммунорегуляции // Механизмы иммуностимуляции. – Киев, 1985. – С. 262–264.

Науч. центр радиац. медицины АМН Украины, Киев ISSN 0564–3783. Цитология и генетика. 1997. Т.31. № 3

**КЛЕТОЧНЫЕ РЕАКЦИИ
СТРОМЫ КРОВЕТВОРНЫХ ОРГАНОВ
ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ОРГАНИЗМ
ИОНИЗИРУЮЩЕЙ
И НЕИОНИЗИРУЮЩЕЙ
РАДИАЦИИ**

ВВЕДЕНИЕ

На современном этапе развития медицины и биологии сформировалась достаточно полная и научно обоснованная точка зрения относительно роли кроветворения в реализации биологических эффектов радиации.

Однако биологические эффекты воздействия ионизирующей радиации по-прежнему остаются малоизученным вопросом. Важность этой проблемы возросла в связи с аварией на Чернобыльской АЭС, которая создала беспрецедентную в мире ситуацию пролонгированного воздействия на миллионы людей ионизирующей радиации в виде внешнего гамма-облучения и инкорпорированного облучения радионуклидами. Изучение этого вопроса стало одним из главных направлений на современном этапе развития радиобиологии и медицины.

Выяснилось, что классическая радиобиология оказалась неготовой к однозначной оценке последствий специфического радиационного фактора, возникшего после аварии. Сочетанное воздействие малых доз радиации низкой интенсивности с многочисленными факторами внешней среды (пестициды, минеральные удобрения, промышленные отходы, лекарственные препараты, выхлопные газы автотранспорта, увеличение интенсивности УФ-излучения в приземном слое и появление в его спектре более короткого УФ-излучения, электромагнитные поля, рост количества опасных для организма химических соединений в пищевых продуктах и т. д.) практически не позволяет выделить «чистую» радиационную компоненту (Я. И. Серкиз и соавт., 1992).

В то же время, вызывая, возможно, определенные изменения в системе крови, перечисленные факторы при комбинированном воздействии могут производить как синергический, так и антагонистический эффект.

Поэтому центр тяжести фундаментальных радиобиологических исследований начал перемещаться с хорошо изученных эффектов острого облучения (резко выраженных и относительно быстро протекающих) на вероятностные и отдаленные последствия, вызываемые малыми дозами облучения, особенно в сочетании с другими экологическими факторами.

Можно предполагать, что особую актуальность приобретут исследования биоэффектов комбинированного воздействия ионизирующей и неионизирующей радиации, которое, несомненно, может рассматриваться в качестве реально существующей суммы факторов, постоянно оказывающих влияние на организм человека.

При изучении эффектов воздействия на систему крови человека любых факторов окружающей среды основным биологическим материалом для исследования является периферическая кровь. Однако для корректного заключения о закономерностях изменений в системе гемопоэза под воздействием любых неблагоприятных для организма факторов, в том числе и, вероятно, прежде всего ионизирующей и неионизирующей радиации, необходимы исследования характера и динамики изменений клеточных показателей как периферического, так и центрального звеньев гемопоэза. Так как органы кроветворения (костный мозг, тимус, селезенка, лимфатические узлы различной локализации) у человека практически недоступны для анализа без специальных медицинских показаний для пункции или биопсии, данные изменений в этих структурах системы крови человека при воздействии различных видов радиации в низких дозах практически отсутствуют.

Поэтому необходимы экспериментальные исследования, которые позволяют создавать на животных модели различных морфологических и функциональных перестроек и разрабатывать, при всех существующих трудностях, критерии возможной экстраполяции полученных данных на организм человека (Г. А. Заликян, 1990 г., В. Г. Тяжелова, 1988).

На основании имеющихся в литературе данных можно полагать, что любое нарушение физиологического равновесия в системе гемопозза формируется в органах кроветворения задолго до появления регистрируемых в периферической крови изменений. Не вызывает сомнений, что разработка критериев «донозологической» диагностики воздействия на систему крови радиации ионизирующей или неионизирующей природы в значительной мере может быть реализована на базе выявления «дефектов», возникающих в органах кроветворения на стадиях физиологической адаптационно-компенсаторной регуляции, еще не перешедших в область патологических изменений (Н. Seide, 1982; З. А. Бутенко и др., 1984). Поэтому основная перспектива расшифровки механизмов реакции клеток гемопозитической системы во многом определяется изучением морфофункциональных особенностей клеток кроветворных органов.

Сказанное целиком относится к воздействию на организм ионизирующего и неионизирующего излучения в дозах, не вызывающих острых реакций, а также к их комбинированному эффекту.

Для дальнейшего углубления знаний в этой области необходим поиск новых методических и методологических подходов, дающих возможность динамического изучения ответных реакций клеток кроветворных органов на радиационное воздействие.

В этом плане незаменим метод тканевых и клеточных культур, который прочно вошел в число наиболее плодотворных методических приемов во многих областях биологии и медицины. Все вышеизложенное позволило сформулировать цель и задачи исследования.

Цель настоящей работы состоит в изучении биологических эффектов ионизирующей (рентгеновское облучение в дозах от 0,3 до 2,0 Гр) и неионизирующей (СВЧ-облучение при плотности потока мощности 0,25 мВт/см²) радиации в раздельном и комбинированном вариантах на стромальные клетки кроветворных органов по морфофункциональным характеристикам, потенциальным возможностям и кооперативным взаимодействиям в системе *in vitro* для определения возможности использования полученных данных для ранней диагностики воздействия радиации на клетки стромы и прогнозирования пострадиационных нарушений кроветворения.

В соответствии с поставленной целью решались следующие задачи.

1. Изучить в эксперименте характер морфологических реакций клеток крови и кроветворных органов животных на общее радиационное воздействие с целью выяснения зависимости морфофункциональных изменений в строме кроветворных органов от вида и дозы радиации.

2. Провести *in vitro* прижизненную хронометрию продолжительности митоза и его фаз в стромальных клетках кроветворных органов облученных экспериментальных животных для выявления стабильности или изменчивости этого процесса после воздействия на организм радиационного фактора.

3. Изучить особенности взаимодействия стромальных клеток и лимфоцитов по типу эмпериполезиса в строме кроветворных органов интактных и облученных животных.

4. Изучить характер морфофункциональных изменений в центральном и периферическом звеньях тромбоцитарного дифферона экспериментальных животных, подвергшихся воздействию ионизирующей и неионизирующей радиации в раздельном и комбинированном вариантах.

5. Оценить особенности взаимодействия лейкоцитов и мегакариоцитов в костном мозге экспериментальных животных в норме и при радиационных воздействиях.

Можно утверждать

а. В морфофункциональном плане стромальные клетки кроветворных органов следует отнести к достаточно радиочувствительной популяции. Последнее манифестируется особенностями поведения клеток облученного организма в условиях последующего их культивирования *in vitro*. Доказаны стимулирующий и блокирующий эффекты радиации на фазы митоза клеточного цикла и их зависимость от дозы. Одновременно наблюдаются снижение силы межклеточных контактов, усиление экструзии ядерного материала, образование многоядерных и гигантских форм. Указанные явления в разных проявлениях регистрируются в клетках стромы кроветворных органов экспериментальных животных, облученных ионизирующей (в диапазоне доз 0,3–2,0 Гр) и неионизирующей (0,25 мВт/см²) радиацией.

б. Ионизирующая радиация в дозах свыше 1,0 Гр способствует накоплению *in vitro* стромальных клеток с явлениями эмпериполезиса как особой формы их взаимодействия с лимфоцитами, но с одновременным ингибированием выхода последних из стромальных элементов, что оценивается как незавершенный эмпериполезис.

в. Величина пула тромбоцитов в периферической крови определяется не только интенсивностью тромбоцитопоза, но и взаимодействием мегакариоцитов с костномозговыми лейкоцитами. Последние обладают свойством вызывать лизис зрелых мегакариоцитов с последующим освобождением тромбоцитов. Малые дозы радиации оказывают стимулирующее воздействие на этот процесс, особенно при комбинированном варианте ионизирующего и неионизирующего излучения. При воздействии на организм рентгеновского облучения в дозах 1,0 и 2,0 Гр имеет место как снижение числа мегакариоцитов в костном мозге, так и ингибция их взаимодействия с лейкоцитами. Открытое явление позволяет по новому объяснить механизм пострadiaционных изменений содержания тромбоцитов в периферической крови.

Работа выполнена в качестве эксперимента, полученные данные могут рассматриваться как основа для расшифровки клеточных механизмов раздельного и комбинированного воздействия ионизирующей и неионизирующей радиации на стромальный компонент кроветворного микроокружения.

При разработке морфологических критериев оценки радиационного воздействия на клетки стромы, помимо традиционного описательного способа, применен метод цейтраферной микрокиносъемки живых клеток в фазовом контрасте, что позволило объективизировать механизм и направленность морфологиче-

ских преобразований в изучаемых клетках. Впервые в сравнительном аспекте получены количественные характеристики продолжительности митоза стромальных клеток кроветворных органов при воздействии радиации в разных дозах. Установлено, что после воздействия на организм радиационных факторов в дозах, не вызывающих острых лучевых реакций, в стромальных клетках культур кроветворных органов *in vitro* регистрируются нарушения цитоплазматических контактов и сокращение продолжительности митоза независимо от вида и дозы радиации.

Получены неизвестные ранее факты, расширяющие и углубляющие представление о характере взаимодействия стромальных клеток и лимфоцитов по типу эмбриополезиса под влиянием радиационных факторов. С помощью метода цитотраферной микрокино съемки живых клеток костного мозга доказано, что взаимодействие мегакариоцитов и лейкоцитов – процесс, не имеющий ничего общего с феноменом эмбриополезиса.

Впервые показано, что величина пула тромбоцитов периферической крови определяется не только интенсивностью тромбоцитопоеза, но и взаимодействием мегакариоцитов с костномозговыми лейкоцитами, которые обладают способностью вызывать лизис зрелых мегакариоцитов с последующим высвобождением тромбоцитов. Открытое явление позволяет по-новому трактовать механизм пострадиационных изменений количества тромбоцитов в периферической крови.

Полученные результаты и попытка их теоретического обобщения дополняют и расширяют представление о воздействии ионизирующей (0,3–2,0 Гр), неионизирующей (0,25 мВт/см²) радиации и их комбинации на клетки стромы кроветворных органов и характер их взаимодействия с гемопоэтическими элементами. Полученные данные могут быть использованы для разработки новых методов биоиндикации воздействия радиации на организм. С этой целью предлагается применять метод культуры стромальных клеток кроветворных органов. При этом пролиферативная активность клеток, прочность межклеточных контактов и завершенность эмбриополезиса используются как критерии пострадиационных изменений.

Выявленные морфофункциональные изменения стромальных элементов кроветворных органов требуют разработки методов их коррекции для более эффективного восстановления кроветворения в облученном организме. С другой стороны, при лечении радиационно-индуцированных нарушений гемопоэза определенные потенциальные возможности стромальных элементов могут быть использованы для определения терапевтической эффективности применяемых препаратов, а также служить определенным прогностическим тестом.

Для практической медицины важнейшее значение имеют открытое новое явление участия сегментоядерных нейтрофильных лейкоцитов костного мозга в процессе освобождения тромбоцитов из мегакариоцитов, а также возможность модуляции этого процесса при воздействии радиационного фактора. Не исключено также, что ингибиторное воздействие высоких доз ионизирующего облучения на выброс в периферическую кровь тромбоцитов может быть откорректировано путем использования медикаментозных препаратов, способных активизировать функции сегментоядерных лейкоцитов.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Специфика реакций стромальных клеток кроветворных органов на воздействие радиации.

Как известно, цитоархитектоника различных кроветворных органов достаточно близка по своему структурному построению, отличаясь лишь специфическими блоками, которые обеспечивают их функциональную полноценность. Подробное описание структуры кроветворных органов дано в монографиях и руководствах по гистологии, а также в работах многих авторов (М. А. Чепелева, 1962; L. Weiss, 1965; Н. А. Юрина, Л. С. Румянцева, 1975; П. М. Мажуга, 1978; А. Я. Фриденштейн, Е. А. Лурия, 1980; И. Л. Чертков, О. А. Гуревич, 1984; и др.).

Поэтому данные вопросы будут рассмотрены очень кратко, насколько это необходимо для общего представления о морфологии изучаемого материала.

Одним из наиболее важных структурных компонентов кроветворных органов является микроциркуляторная сеть, обеспечивающая транспортировку пластических и энергетических материалов, необходимых для функционирования кроветворной ткани, а также упорядоченную и бесперебойную рециркуляцию зрелых и созревающих клеток между кровью и кроветворными органами.

Для понимания процессов лучевого поражения кроветворной ткани необходимо учитывать особенность ее кровоснабжения, которое представляет собой практически открытый тип кровообращения. Эта особенность наиболее демонстративна в костном мозге, где происходит дифференцировка всех клеток – предшественников гемопоэза. Внутрикостные полости пронизаны сетью мелких сосудов, кровеносных капилляров и синусов, покрытых изнутри слоем эндотелиальных, а снаружи – ретикулярных клеток. Таким образом, тесный контакт кроветворных и стромальных элементов является физиологически необходимым условием нормального гемопоэза.

Процесс взаимообмена клетками между кровью и кроветворной тканью реализуется по типу «шлюзового» поочередного закрывания и открывания сфинктеров, которыми снабжены венозные синусы и синусоиды костного мозга (М. Muto, 1976; М. Р. Сапин и соавт., 1978; Н. Г. Хрущов и соавт., 1988). Большинство исследователей считает, что эндотелиальная выстилка сосудов (посткапиллярных венул) характеризуется наличием широких щелей, через которые проходят клетки (А. Поликар, 1965; Ф. Вернет, 1971).

С помощью наблюдений в сканирующем и просвечивающем электронном микроскопе доказано, что кроветворные клетки могут проходить через поры, образуемые в цитоплазме эндотелиальных клеток (V. T. Marchesi, 1964; G. Sainte-Marie, 1970; P. Quesenberry, 1987; H. Benestad, 1989). Крупные поры имеют диаметр 3–4 мкм и возникают, возможно, периодически в момент транзита через них кровяных клеток (W. Yonosuke, 1965; F. Campbell, 1967). Однако о механизмах этого процесса известно еще очень мало.

Важным компонентом ретикулярной ткани является межклеточное вещество, представленное основным аморфным веществом и ретикулиновыми волокнами, образующими своеобразный каркас для размещения кроветворных клеток (R. Мое, 1963; M. Tavassoli, 1974). Установлено, что это аморфное межклеточное вещество – матрикс – нерастворимо и слабо окрашивается в розовый

цвет при ШИК-реакции (Е. Keaken, 1955). Ретикулиновые волокна легко импрегнируются серебром, отличаясь слабой окрашиваемостью пикрофуксином и по Маллори, большой стойкостью к воздействию ферментов, кислот и щелочей (М. Р. Сапин и соавт., 1978). Итак, основное вещество кроветворной ткани, представленное гликозаминогликанами, гепарином, фибронектином, коллагеном, вместе с ретикулиновыми волокнами образует непосредственную среду обитания, в которой находятся кроветворные клетки.

Анализ изменений, возникающих в межклеточном веществе и системе микроциркуляции при воздействии ионизирующей радиации, позволяет сделать однозначный вывод о том, что восстановление микроциркуляции является обязательным условием для нормализации гемопоэза после облучения (W. Knospe, 1977; M. A. Pitkanen, 1985; T. M. Flidner, 1986).

Ретикулярные клетки составляют клеточную основу всех кроветворных органов, образуя так называемую ретикулярную ткань, в петлистых ячейках которой располагаются свободные кроветворные клетки. Это эритроциты, гранулоциты, лимфоциты, моноциты, плазматические, жировые, тучные клетки и предшественники всех перечисленных форм, так называемые бласты.

Регистрируемые различные морфологические, цитологические, ультраструктурные и функциональные особенности ретикулярных клеток послужили основанием для разделения этих клеток на отдельные виды.

На основании изучения особенностей ультраструктурной организации ретикулярных клеток различного типа Й. Мори, К. Леннерт составили атлас электронно-микроскопической характеристики этих клеток в норме и патологии (K. Lennert, 1961; Y. Mori, K. Lennert, 1969). При этом они подтвердили общее мнение о большом морфологическом и функциональном разнообразии ретикулярных клеток.

Однако в связи тем, что основанием для такого разделения служили разнообразные, порой неадекватные критерии, полученные данные всегда были трудно сопоставимы и чрезвычайно разноплановы.

Наиболее корректной оказалась классификация ретикулярных клеток на неподвижные, находящиеся в синцитиальной связи, и свободно лежащие (Г. И. Козинцев, 1975).

Первые характеризуются цитоплазматическими отростками, заходящими в промежутки между другими клетками, что делает их контуры нечеткими. Ядро довольно крупное, часто с выемками различной глубины. Хроматин ядра имеет нежногранулярное строение и обычно располагается более плотно возле ядерной мембраны. Цитоплазма бедна органеллами, митохондрии обнаруживаются в небольших количествах, они набухшие, с очень короткими внутренними мембранами – кристами. Эргастоплазма состоит из сплюснутых цистерн, мало развита, так же как пластинчатый комплекс. Форма свободно лежащих ретикулярных клеток многообразна, как и их субмикроскопическое строение. Обнаруженные вариации формы и структуры этих ретикулярных клеток связывают с приспособлением их к различному местонахождению и с функциональными особенностями.

Представляют интерес данные о существовании нескольких видов ретикулярных клеток, характерных для различных функциональных зон лимфоидных органов, – дендритных клеток светлых центров (В-зона) и интердигитирующих ретикулярных клеток паракортикальной зоны (Т-зона) лимфатических узлов (D. Veldman, 1970, М. Р. Сапин и соавт., 1978).

Известно, что ретикулярные клетки принимают активное участие в реализации иммунных реакций организма. Считается, что роль их при этом весьма разнообразна. Благодаря данным автораддиографических исследований можно утверждать, что после подкожного введения меченого антигена последний прежде всего регистрируется в макрофагах мозгового слоя регионарных лимфатических узлов (А. Я. Фриденштейн, 1980). В макрофагах антиген находится в различных цитоплазматических образованиях – лизосомах, фаголизосомах, аутофаготических вакуолях. На поверхности мембран макрофагов антиген можно зафиксировать только в первые часы после его поступления в организм. Затем он погружается внутрь макрофага в составе фагоцитарной вакуоли, где подвергается соответствующей обработке. Что же касается ретикулярных клеток, то антиген в них, как правило, локализуется на поверхности мемbrane длинных отростков цитоплазмы, вокруг которых образуются скопления лимфоцитов. Встреча зрелого покоящегося В-лимфоцита с антигеном может произойти в любом участке иммунной системы, но чаще всего это происходит в лимфоидных органах, где антиген фиксируется и длительно удерживается системой различного типа ретикулярных клеток. Предполагается, что именно таким образом антиген становится доступен для рецепторов клеток, синтезирующих антитела (Ф. Бернет, 1978). Допускается, что предоставление лимфоцитам экзогенных эпитопов осуществляется специализированными антигенпредставляющими клетками (АПК), к которым относятся и дендритные клетки кроветворных органов. Этот механизм осуществляется путем постоянного контактирования лимфоцитов с АПК. С помощью метода автораддиографии показано, что после введения в организм меченого антигена он регистрируется на поверхности АПК и является стимулятором пролиферативной активности расположенных рядом с ними В-лимфоцитов (Н. Durkin и др., 1973; J. Mitohell, 1973).

В последние десятилетия в связи с появлением новых методов функциональной оценки процессов гемопоэза представление о роли и значимости ретикулярной ткани кроветворных органов получило новое осмысление. На базе безукоризненных по своей методологии экспериментов J. Till и E. McCulloch развились ставшие к настоящему времени классическими методы, которые позволили проследить динамику становления клеток кроветворного пула, оценить пролиферативные и дифференцировочные потенциалы элементов, претендующих на роль родоначальных клеток крови. В экспериментальные исследования были адаптированы методы трансплантации и репопуляции клеток костного мозга, а также различные способы их клонирования. На базе экспериментальных данных было доказано существование в костном мозге стволовых кроветворных клеток (СКК), способных давать начало кроветворным колониям различных ростков кроветворения в селезенке смертельно облученных мышей (J. Till, E. McCulloch, 1961; J. Till, E. McCulloch, 1980; А. Я. Фриденштейн, И. Л. Чертков, 1969; И. Л. Чертков, А. Я. Фриденштейн, 1977; И. Л. Чертков и соавт., 1979; B. Lord, E. Q. Wright, 1980, и др.). Концепция А. А. Максимова о малом лимфоците как родоначальной (стволовой) клетке кроветворения вновь привлекла внимание специалистов (А. Maximow, 1927; О. К. Гаврилов и др., 1985; Е. Б. Владимирская, Н. А. Торубарова, 1985).

Параллельно с изучением СКК лимфоцитарного происхождения развивалось новое направление современной гематологии – представление о кроветворном микроокружении и его индуцирующем влиянии на гемопоэз. В 1967 году было сформулировано и дано определение понятию «индуцирующее кроветворное микроокружение», которое рассматривается как «сумма факторов, индуцирующих и поддерживающих кроветворение на уровне стволовых кроветворных клеток» (J. Curry, J. Trentin, 1967).

Установлено, что костный мозг представлен доменами-дискретными регуляторными территориями, содержащими наряду с кроветворными клетками элементы микроокружения (J. Trentin, 1978; L. Weiss, 1980). Являясь источником белковых колониестимулирующих факторов (КСФ), обладающих специфическим действием в отношении различных ростков кроветворения, клетки кроветворного микроокружения осуществляют близкодействующую (короткоранговую) регуляцию гемопоэза (M. Tavassoli, 1978; D. Metcalf, 1983; A. Burgess, N. Nicola, 1984; Б. В. Афанасьев, В. А. Алмазов, 1985). Дальнедействующая регуляция гемопоэза обеспечивается совокупностью факторов, основным среди которых является наличие в крови определенного вида биологически активных веществ. Сюда относятся кейлоны (тканеспецифические ингибиторы клеточной пролиферации), простагландины (регуляторы метаболизма и клеточной дифференцировки), лимфокины и различные другие соединения, обеспечивающие биохимическую стабильность межклеточной среды организма в каждый определенный период времени (И. Л. Чертков, А. И. Воробьев, 1973; S. H. Chan, D. Metcalf, 1973; M. Cline, D. Golde, 1979; J. Fitch et al., 1982).

В 1978 г. R. Schofield была предложена гипотеза, согласно которой в кроветворном микроокружении существуют специализированные клеточные структуры, так называемые ниши, в которых ПГСК оказываются полностью изолированными от каких-либо посторонних воздействий. Со стороны элементов, образующих «нишу», ПГСК может получить только один сигнал, дающий ей право на пролиферацию с образованием новых СКК. Пройдя несколько этапов коммитации, эти клетки могут на неопределенно длительное время приостанавливать свое развитие, занимая временно «пустую нишу» в микроокружении. И. Л. Чертков дополнил гипотезу R. Schofield, считая, что созревание ПГСК определяется не числом сделанных ею делений, а временем, в течение которого она находится вне «ниши» (И. Л. Чертков и соавт., 1983, 1984).

Предполагается, что ПГСК, находящиеся в «нишах», сильнее связаны со строимой, чем покинувшие ее клетки. Последние обладают полным спектром пролиферативно-дифференцировочной активности. Поскольку в периферической крови преобладают СКК с самым низким пролиферативным потенциалом, напрашивается вывод, что по мере дифференцировки в СКК снижается их адгезивная способность, в результате чего возрастает подвижность. Они могут продвигаться в области, где ослаблен их контакт со стромальной подложкой, в связи с чем значительно облегчается выход в костномозговые синусы. Обсуждается также возможность упорядоченного расположения СКК в костном мозге в зависимости от степени дифференцировки (B. Lord, 1980). Допускается, что «ниши» располагаются по периферии костного мозга, ближе к кости. Выходя из них, СКК по мере созревания перемещаются в центральные участки костномозговой ткани. В опытах по изучению способности СКК к самоподдержанию в очагах экто-

пического кроветворения костный мозг перед имплантацией облучали в дозах, приводящих к гибели всех кроветворных предшественников (10,0–15,0 Гр). Было показано, что при этом эктопический очаг кроветворения содержит полноценные «ниши» (И. Л. Чертков, О. А. Гуревич, 1984). Более того, в случае радиационного поражения количество «ниш» в строме костного мозга уменьшается, однако их способность сохранять пролиферативный потенциал ПГСК не изменяется.

Оценка пострадиационных изменений функции кроветворного микроокружения проводится на базе таких показателей, как содержание в облученных кроветворных органах стромальных клеток, изменение их пролиферативной и дифференцировочной активности, пригодность облученной стромы для заселения колониями гемопоэтических клеток и способность такой стромы переносить микроокружение при гетеротропной трансплантации (А. Я. Фриденштейн, Е. А. Лурия, 1980). Анализ перечисленных показателей после облучения стромы в пределах 10,0 и более Гр представлен в обширных обзорах, статьях и монографиях многих исследователей в области изучения кроветворного микроокружения (А. Я. Фриденштейн, Е. А. Лурия, 1980; И. Л. Чертков, О. А. Гуревич, 1984; Н. И. Дризе и соавт., 1986; О. В. Семина и соавт., 1987; D. Lippori, 1988; В. Г. Лебедев и соавт., 1989). Прямое определение радиочувствительности клоногенных предшественников стромальных механоцитов (КОЕф), образующих *in vitro* колонии фибробластов и эндотелиальных клеток, подтверждает, что оба вида клеток стромы более радиорезистентны, чем полипотентные предшественники кроветворных клеток. Так, для клоногенных стромальных механоцитов Do составляет около 2,0 Гр (И. М. Кузьменко и соавт., 1972). Для эндотелиальных – 1,6 Гр (R. De Cowin, 1976). Для стволовых кроветворных клеток Do составляет 1,0 Гр (J. Till, E. Me Culloch, 1980). Доза Do стромальных механоцитов при тестировании их в культуре составляет у разных животных от 1,5 до 4,0 Гр (E. D. Werts et al., 1978, 1980; А. Г. Коноплянников, 1984).

Большая радиорезистентность предшественников стромальных механоцитов по сравнению с полипотентными колониеобразующими единицами в селезенке смертельно облученных животных (КОЕс) продемонстрирована рядом авторов в условиях повторного радиационного воздействия (С. Xu, J. Hendry et al., 1986). Так, при рентгеновском облучении мышей отдельными фракциями доз от 0,75 до 4,5 Гр четырехкратно с трехнедельными интервалами было установлено, что пороговой величиной общей дозы для снижения количества КОЕф в костном мозге является 6 Гр (J. Hendry, C. Xu et al., 1983). У мышей, облученных в общей дозе 9 Гр (4 фракции по 2,25 Гр каждая), количество КОЕф снижалось на 30% и на этом уровне поддерживалось в течение 12 месяцев после воздействия.

Повреждение предшественников стромальных клеток являлось наиболее глубоким при повторном облучении в дозе 4,5 Гр (общая доза 18 Гр), когда количество КОЕф падало на 70% по сравнению с контролем и до конца периода наблюдения (12 месяцев) не превышало 50% от контрольного значения одновозрастных интактных мышей. Предполагается, что в клоногенных стромальных клетках более активно происходит репарация повреждений, чем и объясняется их более низкая радиочувствительность (А. Г. Коноплянников, 1984).

Однако, обладая рецепторами к ростостимулирующим факторам, стромальные клетки активно вступают в митотический цикл, и их репродуктивные потенции могут быть чрезвычайно велики. Об этом свидетельствуют данные, по-

лученные как *in vitro*, так и *in vivo*. При облучении организма в дозах более 2,5 Гр эти клетки начинают активно размножаться, увеличивая свой пул в десятки раз. Так, регенерация после радиационного повреждения в костном мозге начинается с пролиферации клеток стромы, за которой следует развитие гемопоэтических элементов (И. Л. Чертков, О. А. Гуревич, 1979). Установлено, что существует корреляция между величиной дозы облучения и способностью стромальных фибробластов формировать ткань, поддерживающую гемопоэз. После однократного тотального облучения экспериментальных животных в дозе 4,5 Гр приблизительно через 3 месяца наблюдается полное восстановление стромальных элементов костного мозга. Однако способность стромального микроокружения поддерживать гемопоэз полностью не восстанавливается даже через 1 год после облучения (R. Gallini et al., 1988; J. Bierkens et al., 1990). Не исключено, что после облучения в дозе 5,0 Гр в строме кроветворной ткани остаются скрытые пострадиационные дефекты, которые препятствуют полноценному гемопоэзу (W. Fried, 1980; И. Л. Чертков, О. А. Гуревич, 1984). Приводятся данные о том, что облучение *in vitro* фибробластов костного мозга в дозе 6,0 Гр вызывает полное подавление колониеобразующей способности их предшественников (А. Ф. Панасюк и соавт., 1972). Восстановление способности стромы костного мозга и селезенки поддерживать гемопоэз зависит от величины дозовой нагрузки. После длительного внешнего облучения в суммарной дозе Гр восстановление структурных элементов стромы кроветворных тканей проходит аналогично с острым облучением в близких значениях поглощенных доз (А. И. Куралесова, 1975; E. Werts, 1977).

В некоторых клинических и экспериментальных работах приводятся данные о том, что с увеличением дозы однократного или фракционированного облучения (курс лучевой терапии) возрастает повреждение стромы кроветворной ткани и уменьшается вероятность ее восстановления (Г. Д. Байсоголов, В. В. Павлов, 1971). Предполагается, что пролонгированное фракционированное облучение организма сопровождается более существенным поражением кроветворных клеток и их микроокружения, в то время как после однократного лучевого воздействия нарушения процессов кроветворения обычно субкомпенсируются (T. Flidner et al., 1985, 1986).

На основании анализа пострадиационных изменений кроветворного микроокружения уже получены данные о существовании двух категорий стромальных клеток – организующих (переносящих) кроветворные территории и эффекторных клеток, вырабатывающих факторы гемопоэтического микроокружения (А. Я. Фриденштейн, Е. А. Лурия, 1980). Именно последние имеют длительный жизненный цикл и вообще не пролиферируют в условиях организма. Поэтому сохранность микроокружения в первые недели после облучения в дозах, превышающих 10,0 Гр, может быть связана с эффекторными клетками.

В настоящее время уже не отрицается возможность существования в строме костного мозга двух типов стромальных фибробластов, характеризующихся принципиально различной реакцией на облучение (N. Wolf, 1978; E. Werts et al., 1980). Предполагается, что в популяции стромальных клеток имеются даже клеточные элементы, характеризующиеся одинаковой радиочувствительностью с лимфоцитами – наиболее поражаемыми клетками живого организма.

Поэтому, несмотря на убедительные доказательства высокой радиорезистентности стромальных клеток, возникают серьезные проблемы в решении вопро-

са об их реакции на различные дозы облучения. Потенции стромальных клеток кроветворных органов, способных в экстремальных условиях «возмущенного» кроветворения выступать в роли резервного источника гемопоэза, могут оказаться значительно разнообразней, чем установлено на сегодня. Вопрос, действительно ли после облучения в пределах 10,0 Гр в строме не происходит каких-либо изменений, которые отражались бы на ее функциях, связанных с созданием полноценного микроокружения для гемопоэтических клеток, несомненно, требует более углубленного морфологического анализа (А. Я. Фриденштейн, Е. А. Лурия, 1980).

Как установлено, регуляция полипотентных СКК и более зрелых клеток-предшественников находится под контролем различных механизмов, одним из которых является управление гемопоэзом через специфические ростково-дифференцировочные факторы, выделяемые клетками, входящими в состав кроветворного микроокружения (J. Bignon, 1970, 1972; T. Terasawa et al., 1980).

Для полноценной реализации своих дифференцировочных потенций при построении адекватного микроокружения стромальные предшественники нуждаются в межклеточных взаимодействиях и кооперативных клеточных контактах (И. Л. Чертков, О. А. Гуревич, 1984; Е. Б. Владимирская, 1985). Возможно, основным механизмом, с помощью которого реализуются межклеточные взаимодействия, являются межмембранные контакты (S. Bentley, 1981, 1982). Это подтверждается тем, что в участках интенсивного кроветворения *in vitro* отмечается наличие тесного комплексования стромальных и гемопоэтических клеток. На примере взаимодействия между макрофагами и прилегающими к ним эритробластами в так называемых эритробластических островках демонстрируется один из вариантов локальной регуляции эритропоэза (Н. Г. Хрущов, 1988). На начальных стадиях репопуляции стромы после облучения между макрофагами костного мозга и предполагаемыми СКК выявлены прямые межклеточные взаимодействия в виде пальцевидных соединений. Допускается возможность передачи таким образом специфических дифференцировочных стимулов и участия макрофагов в удержании СКК (Н. Г. Хрущов, 1988).

Способность лимфоцитов контактировать с другими клетками – хорошо известный факт. Трудно отрицать предположение, что многочисленные контакты, возникающие между лимфоцитами, тяготеющими к поверхности дендритных ретикулярных клеток, покрытых различными антигенами, представляют собой «способ, обеспечивающий чрезвычайно подходящие условия для стимулирования пространственных конфигураций рецепторов, расположенных соответствующим образом на поверхности малых лимфоцитов» (Ф. Бернет, 1971).

Поэтому для правильного понимания характера и глубины изменений, которые возникают в системе крови под влиянием радиации, необходимо более подробно изучить различные варианты клеточных взаимодействий в системе кроветворного микроокружения.

Исследований, специально посвященных морфофункциональному аспекту этой проблемы, в доступной нам литературе обнаружить не удалось. Это подтверждает мнение специалистов в области изучения пострадиационных изменений микроокружения кроветворных клеток о том, что оценка состояния стромального звена в облученных кроветворных органах представляет собой еще совершенно не решенную проблему (А. Я. Фриденштейн, Е. А. Лурия, 1980).

Для расшифровки конкретных механизмов, участвующих в осуществлении влияния стромального микроокружения на кроветворение, представляет интерес изучение частного случая взаимодействия стромальных и гемопоэтических клеток по типу эмпериполезиса.

1.2. Явление эмпериполезис как биологическая модель для изучения влияния радиации на взаимодействие клеток в системе «кроветворное микроокружение – гемопоэз».

Вопрос о биологическом значении явления эмпериполезис в настоящее время остается открытым и в специальной литературе обсуждается крайне редко. Анализ доступной нам литературы показал, что исследования по изучению характера взаимодействия клеток стромы кроветворных органов с гемопоэтическими элементами по типу эмпериполезиса не ведутся. Появление наших первых публикаций по данному разделу цитологии еще в 1975 году осталось малозамеченным и не привлекло внимания ученых (Э. В. Михайловская, 1975, 1977). Однако высказанная нами гипотеза, согласно которой явление эмпериполезис отражает на морфологическом уровне механизм, обеспечивающий благоприятные условия для стимуляции лимфоцитов к проявлению их потенциальных возможностей, была поддержана ведущими специалистами в области лимфологии (М. Р. Сапин, Н. А. Юрина, 1978).

Использование эмпериполезиса в качестве модели для изучения влияния радиации на взаимодействие клеток дает основание для расширения имеющихся представлений о механизмах действия микроокружения на гемопоэз и открывает перспективу поиска путей рационального воздействия на кроветворную систему облученного организма.

Термин «эмпериполезис» ввели в цитологию в 1956 году J. Humble, W. Jayne, R. Pulvertaft, обозначив им труднопереводимый на русский язык оборот «inside round about wandering», что подразумевает «блуждание» одного вида клеток в цитоплазме клеток другого вида. Следует отметить, что эти же исследователи впервые сообщили также о возможности нахождения лимфоцитов внутри мегакариоцитов костного мозга (R. Pulvertaft, 1962).

Этот ученый опубликовал данные о том, что лимфоциты зарегистрированы внутри бластных клеток, встречающихся в зонах роста культур костного мозга больных лейкозом. У ребенка 4-х лет в период ремиссии острого лейкоза было обнаружено большое количество ретикуло-эндотелиальных макрофагов, каждый из которых содержал множество небольших активных лимфоцитов. E. Shelton (1962) зарегистрированы «внутриклеточные» лимфоциты в гистиоцитах мыши и кролика. J. Sinkovich (1962) подтвердил существование комплексов «клетка в клетке» в зонах роста культур костного мозга больных хроническим лимфолейкозом и гемолитической анемией.

Значительный интерес представляют работы ряда авторов, которые подтвердили реальность факта нахождения лимфоцитов внутри ретикулярных клеток лимфатических узлов у крыс с помощью метода электронной микроскопии (E. Shelton, A. Dalton, 1959; A. Klug, 1981). Наличие лимфоцитов в клетках лимфатических узлов зафиксировано у больных злокачественной лимфомой (A. Drayz et al., 1964). Авторы указывают, что распространенность эмпериполезиса в этом

объекте исследования настолько велика, что этот процесс представляется абсолютно естественным в тканевых культурах данного вида. Н. Ioachim (1965) изучал эмпериполезис лимфоидных клеток в смешанных культурах. Наличие лимфоцитов в макрофагах отмечают Р. Fritch и соавторы (1979), которые провели анализ активности лимфоцитов, находящихся внутри фибробластов.

S. Ropprema (1978) подробно проанализировал случай нахождения жизнеспособных клеток, обозначенных им как лимфоциты, в цитоплазме клеток Штернберга – Ридера при лимфогранулематозе. Автор зарегистрировал в цитоплазме этих клеток до восьми лимфоцитов, причем, некоторые из них находились в состоянии митотического деления. Аналогичные сведения приводятся в работе R. Sherwin и соавторов (1979).

Комплексы «клетка в клетке» как при хронической, так и при острой форме миелоидной лейкемии изучал М. Shamoto (1981). В своих исследованиях автор использовал метод электронной и фазово-контрастной микроскопии. По его данным, бластные клетки содержат в своей цитоплазме различные виды нормальных гемопоэтических клеток. Взаимодействие лимфоцитов по типу эмпериполезиса с ретикулоэпителиальными клетками при злокачественной опухоли тимуса наблюдал ряд исследователей (А. Bosch, 1975; G. Levine et al., 1975).

Ино и соавторы также регистрируют явление эмпериполезис в лейкозных клетках (1981).

Появление клеток, взаимодействующих по типу эмпериполезиса в биоптатах лимфатических узлов, рассматривается рядом исследователей как ранний показатель прогрессирующего синусового гистиоцитоза при массивной лимфоаденопатии (L. Layfield, 1990; S. Song et al., 1989).

Таким образом, анализ литературы свидетельствует, что к формированию взаимодействия клеток по типу эмпериполезиса в большинстве случаев причастны лимфоциты, что позволяет выделить так называемый лимфоцитарный эмпериполезис (М. Soderstrom, 1966).

Регистрация кроветворных клеток в цитоплазме мегакариоцитов костного мозга позволила ряду авторов обсуждать существование отдельной формы эмпериполезиса, получившего название «мегакариоцитарный».

Наличие гранулоцитов в цитоплазме мегакариоцитов костного мозга больной с анемией было зарегистрировано Т. Larsen (1970). Авторы с помощью метода микрокино съемки наблюдали, как входящие в мегакариоцит клетки передвигались в нем в течение 30 минут, а затем покидали последний. Эмпериполезис в мегакариоцитах при хронической миелоидной форме лейкоза продемонстрирован в работе G. Ottolander (1977).

Имеется также сообщение о нахождении лимфоцитов в цитоплазме мегакариобластов костного мозга у больных хронической миелоидной формой лейкоза, а также о наличии гранулоцитов в цитоплазме мегакариоцитов костного мозга у больной анемией (Н. Faring, 1982).

Следует отметить, что основная часть работ по изучению мегакариоцитарного эмпериполезиса представлена М. Tavassoli (1984, 1986), который предложил использовать костный мозг крыс, находящихся в состоянии хронической кровопотери, для изучения механизма взаимодействия мегакариоцитов с кроветворными клетками. М. Tavassoli впервые вводит понятие индекса эмпериполезиса, который определяется им как отношение количества мегакариоцитов, участву-

ющих в эмпериполезисе, умноженное на среднее число клеток, зарегистрированных в цитоплазме каждого мегакариоцита, к общему числу мегакариоцитов в каждом исследуемом мазке костного мозга.

В литературе приводятся единичные данные о возможном взаимодействии по типу эмпериполезиса между опухолевыми клетками при различных онкологических заболеваниях – так называемом опухолевом эмпериполезисе (J. Sharp et al., 1960; E. Burns, 1967; J. Chermins, 1973; V. Lavrovsky et al., 1976). Опухолевой эмпериполезис зарегистрирован в гигантских клетках карциномы легкого (N. Wang et al., 1976).

G. Haemerli и соавторы (1977) сообщают, что методом электронной микроскопии зарегистрировано явление эмпериполезис в штамме лейкозных клеток L-5222.

Взаимодействие мононуклеарных лейкоцитов с клетками злокачественной меланомы изучалось N. Fuyinami et al. (1981). Авторы инкубировали мононуклеары здоровых доноров с клетками меланомы человека от 1 до 24 часов и методом электронной микроскопии изучали мембранные взаимодействия этих клеток. В литературе имеются данные о выявлении лимфоцитов в цитоплазме клеток различного вида. Анализируется возможность эмпериполезиса при взаимодействии лимфоцитов с мышечными клетками прямой абдоминальной мышцы или диафрагмы мышей линии AKR (F. Mastaglia et al., 1975). Предполагается возможность взаимодействия по типу эмпериполезиса между лимфоцитами и клетками сердечной мышцы (H. Deguchi et al., 1989).

Следует отметить, что поиск литературных источников, связанных с изучением явления эмпериполезис, чрезвычайно затруднен, так как эти работы не систематизированы и опубликованы в самых различных биологических и медицинских периодических изданиях. В доступной литературе нам не удалось выявить источники, посвященные изучению явления эмпериполезис в свете проблем радиационной биологии. В то же время механизм эмпериполезиса может обеспечивать как процесс клеточной селекции, так и обмен между клетками генетическим материалом, приводящий к морфогенетическим трансформациям взаимодействующих клеток при воздействии радиации.

Несмотря на значительные научные достижения в области изучения процессов регуляции пролиферации и дифференцировки СКК, многие исследователи вновь возвращаются к более углубленному изучению клеток стромы кроветворных органов, понимая, что специфическое воздействие радиации как мутагенного фактора, способного вызывать стойкие повреждения генетических структур клеток, провоцировать возникновение аномалий в процессе дифференцировки клеток и их злокачественную трансформацию, может быть реализовано на уровне клеток кроветворного микроокружения (T. Flidner et al., 1985; E. А. Жербин, А. Б. Чухловин, 1989; К. Н. Муксинова, 1990).

Все чаще в литературе подтверждается предположение о том, что в основе патогенеза гипопластических состояний кроветворения может оказаться повреждение кроветворного микроокружения (W. Knospe et al., 1973; И. Л. Чертков, О. А. Гуревич, 1984; Е. Б. Владимирская, 1985). Поэтому большого внимания заслуживает работа А. Frish и соавторов, в которой предлагается новая классификация миелодиспластических состояний, отличающаяся от FAB-классификации тем, что в ней большое внимание уделено структуре и характеру взаимоотноше-

ний стромальных клеток с элементами гемопоэтической ткани (А. Frish, 1991). О функциональной неполноценности элементов стромы при миелодиспластических состояниях сообщается в отдельных работах по культивированию фибробластов в монослойных культурах, а также в системе Декстера (В. Б. Лецкий, 1990).

Таким образом, роль стромальных клеток в формировании клеточного ответа гемопоэтической системы на воздействие различных факторов, в том числе радиации, в силу его важности и малоизученности должна быть предметом специального рассмотрения, так как раскрытие механизмов инициации влияния клеток стромы на кроветворение может оказаться ключом для решения таких важных вопросов современной медицины, как профилактика и коррекция последствий воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды на систему крови.

Развитие атомной энергетики, широкое использование в различных сферах народного хозяйства и медицинской практики ионизирующих и неионизирующих излучений повышают требования к научным исследованиям по изучению биологических эффектов совместного действия на систему кроветворения указанных факторов с целью выявления закономерностей синергизма или антагонизма различных их комбинаций (В. А. Барабой, 1990).

К сожалению, работы в области анализа влияния малых доз неионизирующего излучения в раздельном или комбинированном варианте с ионизирующей радиацией на стромальные клетки системы кроветворного микроокружения практически отсутствуют.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая характеристика материала.

В основу настоящего исследования положены результаты изучения 2500 препаратов культур лимфатических узлов, тимуса и костного мозга 150 интактных и 167 экспериментальных животных, подвергшихся раздельному и комбинированному воздействию ионизирующей и неионизирующей радиации. Эксперимент проводился на половозрелых самцах крыс линии Фишер с массой 180–250 г, находящихся в условиях вивария ИЭР НЦРМ АМН Украины. Питались животные высококалорийной пищей по общепринятым нормам (П. И. Западнюк и соавт., 1962).

Рентгеновское облучение (РО) животных проводили на аппарате РУМ-17 в режиме открытого поля через фильтр AL-3,0. Облучение – тотальное, однократное. Экспозиционная доза в воздухе 7,74 мКл/кг (0,3 Гр), 12,9 мКл/кг (0,5 Гр), 25,8 мКл/кг (1,0 Гр), 51,6 мКл/кг (2,0 Гр) при мощности дозы 0,13 мА/кг с напряжением на трубке 180 кВ, силой тока 15 мА и кожно-фокусном расстоянии 50 см.

Микроволновое облучение (СВЧ-О) проводили в «безэховых» камерах с коэффициентом отражения материала не хуже 0,3% (М. И. Руднев, В. В. Варецкий, 1992). В качестве источника микроволн применялся отечественный мегатрон непрерывного излучения. Частота 2450 МГц при максимальной выходной мощности порядка 600 Вт. Плотность потока мощности 0,25 мВт/см².

Каждая серия опытов включала группы животных для раздельного и комбинированного облучения, а также группы необлученных (контрольных) животных, которые подвергались ложному облучению.

2.2. Методы исследования.

Оценка гематологических показателей каждого экспериментального животного проведена на основании следующих данных:

- количество эритроцитов в жидкой крови ($\times 10^9$ /л);
- уровень свободного гемоглобина в плазме крови (г/л);
- скорость оседания эритроцитов (СОЭ – мм/г);
- количество лейкоцитов в жидкой крови ($\times 10^9$ /л);
- количество тромбоцитов в жидкой крови ($\times 10^9$ /л);
- относительное и абсолютное число грануло- и агранулоцитов периферической крови;
- лимфоцитограмма.

Гистологические методики (обзорные и специальные). Для гистологического изучения тканей облученных животных кусочки ткани кроветворных органов фиксировались в 10%-м растворе формалина. Фиксация материала производилась не позднее чем через 3 минуты после его забора, так как известно, что при фиксации в более поздние сроки митотический индекс клеток может снижаться более чем на 40% от исходного уровня (K. Donhnijsen, 1990).

Для обзорных окрасок (гематоксилин-эозин, гематоксилин-пикрофуксин) применялись срезы, приготовленные из материала, заключенного в парафиновые блоки.

Для более глубокого представления о функциональном состоянии клеток системы крови облученных животных, а также оценки возможной связи между обменными процессами в изучаемых элементах и их функциональной активностью применялись цитохимические методы исследования.

Углеводные соединения определялись с помощью ШИК-реакции с использованием реактива Шиффа и йодной кислоты (Ф. Хейхоу, 1983).

Для изучения морфофункциональных реакций клеток стромы кроветворных органов экспериментальных животных использована классическая методика культивирования фрагментов ткани в плазменном сгустке (А. Д. Тимофеевский, 1947; Н. Г. Хлопин, 1947; Е. А. Лурия, 1972).

Выбор данной модели *in vitro* обусловлен тем, что в зонах роста таких культур возможна реализация кроветворной тканью процессов пролиферации и органоспецифической дифференцировки стромальных клеток. В основе данного метода лежит помещение эксплантата на границе между двумя фазами – питательной средой и газовой фазой (А. Я. Фриденштейн, Е. А. Лурия, 1980).

Для получения первичных культур во флаконы Карреля вносилась «твердая фаза» питательной среды, состоящая из плазмы гусиной крови, куриного эмбрионального экстракта и раствора Хенкса в соотношении 2:1:1. Затем пастеровской пипеткой 4–6 фрагментов культивируемой ткани размещались на находящиеся во флаконах покровные стекла. Кусочки костного мозга из бедренной кости экспериментальных животных или грудины человека помещались на покровные стекла без ресуспендирования.

После добавления «жидкой фазы» питательной среды (синтетическая среда для культивирования IXRPMI (фирма Serva, США), сыворотка крови человека IV группы без консерванта, эмбриональная телячья сыворотка (Scotland KA12 8 NB) в соотношении 1:3:3) флаконы помещались в CO₂-инкубатор или термостат при температуре 37°C.

Для задержки развития палочковой и кокковой флоры в культуры добавлялись антибиотики: пенициллин и стрептомицин в нетоксичных концентрациях (100–150 ед./мл среды).

Срок культивирования составлял от 24 часов до 10 суток. На третьи сутки после начала культивирования производилась первая смена «жидкой фазы» питательной среды, повторяющаяся при длительном культивировании каждые 3 дня. Все манипуляции выполнялись в стерильных условиях.

Наблюдение за ростом культур проводилось ежедневно при малом увеличении микроскопа (объектив – 10, окуляр – 7). Для морфологического изучения культур покровные стекла извлекались из флаконов через различные сроки культивирования. В зависимости от последующей обработки препараты фиксировались метанолом или формалином. Для цитоморфологического анализа препараты окрашивались по методу Дженнера-Гимза или гематоксилин-эозином (Д. Пол, 1968).

Изучение пролиферативной активности стромальных клеток проводилось путем подсчета среднего количества митозов на 1000 клеток зоны роста культур (И. А. Алов, 1972, 1973, 1975). Для оценки митотического индекса (МИ) культуры окрашивались по Фельгену с докраской ацетоорсеином. Реактив Шиффа готовили по прописи Дейг с использованием основного фуксина отечественного производства.

Помимо вышеперечисленных критериев морфологической оценки кроветворных клеток, в работе использован ряд количественных показателей, обеспечивающих объективизацию полученных результатов. С этой целью методом автордиографии определялся индекс мечения ядер (ИМЯ) клеток, находящихся в фазе синтеза ДНК (Н. Д. Грачева, 1968; О. И. Епифанова, 1969, 1977; В. И. Малюк, 1970; П. М. Мажуга, 1978; А. Ф. Киселева и соавт., 1983). В качестве радиоактивного предшественника ДНК применялся тимидин, меченый тритием (удельная активность 17 мкСi/мл, производство ВО «Изотоп»), который, как известно, избирательно включается в ДНК ядер во время S-фазы клеточного цикла. Для гистоавтордиографического исследования 5-суточные культуры ткани кроветворных органов на 1 час помещались в питательную среду, содержащую Н-тимидин в концентрации 1 мкСi/мл. Часть культур после 1-часовой инкубации с тимидином отмывалась от радиоактивного предшественника и возвращалась в новую порцию питательной среды, лишенную изотопа. С целью регистрации перехода первично меченых клеток в митоз эти культуры фиксировались через 3–4 часа на протяжении 24 часов после импульсной метки.

Затем культуры промывались теплым физиологическим раствором и фиксировались 10%-м формалином. В дальнейшем препараты тщательно промывались в проточной воде, высушивались и покрывались жидкой фотоэмульсией типа «М» (Завод технических фотопластин, г. Москва) путем погружения. Экспозиция препаратов производилась в светонепроницаемых коробках в течение 7 дней.

Далее гистоавтографы подвергались фотообработке для проявления зерен восстановленного серебра.

Аналогичным методом с помощью радиоактивных предшественников РНК (Н-уридин), белка (S-метионин), углеводов (С-глюкоза), коллагена (Н-глицин, Н-пролин) определялся метаболический потенциал стромальных клеток в культурах кроветворных органов экспериментальных животных.

Измерение площади профилей ядер стромальных клеток зон роста культур кроветворных органов производилось на компьютерном анализаторе изображений JBAS-2000 фирмы Opton (Германия) с использованием программного обеспечения фирмы, а также программ и алгоритмов, разработанных в лаборатории электронной микроскопии Киевского НИИ нейрохирургии (А. В. Булавко, 1992).

Материал для электронной микроскопии готовили по общепринятой методике (В. И. Бирюзова и соавт., 1963). Кроветворные органы фиксировали в 2,5%-м растворе глутаральдегида на 0,1 М какодилатном буфере. После отмывки материал вторично фиксировали в 1% Os O₄, проводили через батарею спиртов восходящей концентрации и ацетон, затем заключали в эпон-812.

Полутонкие срезы готовили на ультрамикротоме LKB-8800 (Швеция), контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца и просматривали в электронном микроскопе LM-440 (Philips, Нидерланды) или JEM-7 (Япония).

Наблюдения за живыми клетками проводили с помощью отечественного микроскопа МБИ-13 в фазовом контрасте. Цейтраферная микрокиносъемка осуществлялась кинокамерой «Конвас» со скоростью 1 кадр в 10 секунд (объектив х90) на 35-мм пленке КН-4 или А-2. Для удобства научного анализа и просмотра полученных данных производился перевод отснятого киноматериала с кинона видеопленку.

Все цифровые результаты проводимых экспериментов обрабатывали методом вариационной статистики для малых выборок с проверкой достоверности различий по критерию Стьюдента.

Использованные методы цитологического анализа позволили дать объективную оценку влиянию различных доз ионизирующего, неионизирующего облучения и их комбинации на клетки стромы кроветворной ткани, что дало возможность глубже и полнее изучить их морфофункциональное состояние и, в частности, одно из малоисследованных биологических явлений – эмперипозис, которое в обычных условиях (без облучения) выявляется значительно реже в силу отсутствия адекватного морфологического подхода к его идентификации.

ГЛАВА 3. ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ, ПОДВЕРГШИХСЯ РАЗДЕЛЬНОМУ И КОМБИНИРОВАННОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ И НЕИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ

В таблицах 1, 2, 3 представлены данные анализа показателей красного ростка кроветворения у экспериментальных животных, подвергшихся различным дозовым нагрузкам ионизирующего и неионизирующего облучения.

Как показал анализ результатов, при всех дозах РО в периферической крови экспериментальных животных не выявлено статистически достоверных изменений со стороны клеток эритроидного ряда.

При комбинированном воздействии СВЧ-О и РО в дозе 0,5 Гр показатели красной крови также не отличаются от показателей контрольной группы животных $p > 0,05$. Статистически достоверное снижение количества эритроцитов, содержания гемоглобина и скорости оседания эритроцитов, отмеченное через сутки в группе животных, подвергшихся СВЧ-О, подлежит специальному анализу.

В таблице 4 приведено общее количество лейкоцитов периферической крови всех групп экспериментальных животных, подвергшихся воздействию радиации.

У экспериментальных животных, облученных в дозе 0,3 Гр, среднее количество лейкоцитов в периферической крови составило 64,1% от уровня контрольной группы. Количество лейкоцитов периферической крови животных, облученных в дозе 0,5 Гр, составило 62,8% от показателя интактной группы животных. При облучении в дозах 1,0 Гр и 2,0 Гр рассматриваемый параметр составил, соответственно, 44,2% и 35,3%. Зарегистрированное уменьшение общего количества лейкоцитов в периферической крови экспериментальных животных зависело от дозы радиации и в группах с дозовой нагрузкой 0,3 Гр, 0,5 Гр, 1,0 Гр и 2,0 Гр было, соответственно, 1,56-, 1,60-, 2,26- и 2,81-кратным.

На седьмые сутки после облучения показатели общего количества лейкоцитов в периферической крови начинают увеличиваться. В крови животных, подвергшихся РО в минимальной дозе 0,3 Гр и действию СВЧ-О, общее количество лейкоцитов приближается к показателям контрольной группы. В крови животных, облученных в дозе 1,0 Гр, несмотря на некоторое увеличение числа лейкоцитов, сохраняется лейкопеническая реакция. При дозе РО 2,0 Гр на седьмые сутки лейкопения носит статистически достоверный характер $p < 0,05$. Через 30 суток после облучения данный параметр у животных всех групп возвращается к нормативным значениям $p > 0,05$.

Как следует из таблицы 4, СВЧ-облучение экспериментальных животных при плотности потока мощностью 0,25 мВт/см² не оказывает какого-либо влияния на количественный состав лейкоцитов. В то же время комбинированное воздействие СВЧ-облучение и РО приводит к статистически достоверному снижению общего числа лейкоцитов в периферической крови обследованных животных.

Анализ лейкоцитограммы крови экспериментальных животных показывает, что через сутки после облучения во всех группах зарегистрирована статистически достоверная абсолютная и относительная лимфоцитопения (таблица 5). При этом падение числа лимфоцитов в периферической крови животных,

подвергшихся облучению в дозе 2,0 Гр, по абсолютным показателям достигало критического значения $0,91 \pm 0,09$, что составляет 10,6% от аналогичного параметра животных контрольной группы.

При РО в дозе 1 Гр лимфоцитопения составляет 24,5% от исходных показателей.

При дозовой нагрузке 0,3 Гр количество лимфоцитов в периферической крови облученных животных составляет 53,7% от нормы.

Таким образом, по результатам проведенных нами экспериментов, следует отметить четкую зависимость между количеством лимфоцитов и величиной дозы облучения. При РО в дозах 0,3 Гр, 1 Гр и 2,0 Гр отмечен, соответственно, +1,86-; +4,07- и +9,40-кратный дозозависимый эффект.

Уже на седьмые сутки после РО в дозах 0,3 и 0,5 Гр было отмечено восстановление количества лимфоцитов в периферической крови животных. У животных же, подвергшихся РО в дозе 2,0 Гр, в указанные сроки сохраняется стойкая лимфоцитопения в абсолютных и относительных показателях $/p < 0,05/$.

На тридцатые сутки после РО в дозах 0,3 Гр и 0,5 Гр количество лимфоцитов у экспериментальных животных соответствует норме $/p > 0,05/$. В группах экспериментальных животных, облученных в дозах 1,0 Гр и 2,0 Гр, в эти же сроки наблюдается тенденция к увеличению числа лимфоцитов периферической крови $/p > 0,05/$.

Корреляционный анализ полученных данных показал, что между дозой РО и относительным содержанием лимфоцитов в крови экспериментальных животных через 1 и 7 суток после воздействия существует тесная корреляционная зависимость. В первые, седьмые и тридцатые сутки после облучения коэффициент парной корреляции $/r/$ составляет, соответственно, +0,914; +0,713 и +0,475.

СВЧ-облучение экспериментальных животных приводит к преходящему снижению количества лимфоцитов в 1-й день после воздействия. Однако комбинированное облучение вызывает статистически достоверное снижение лимфоцитов, сохраняющееся на 30-е сутки.

Согласно данным литературы, лимфоциты в системе крови представлены гетерогенной популяцией «дискретных единиц», состоящих из больших, средних и малых форм (М. В. Робинсон и соавт., 1986). Соотношение этих видов лимфоцитов, обозначаемое как «зрелое», складывается в ходе онтогенетического развития организма, и его изменения являются отражением функционального состояния популяции лимфоцитов в целом (Т. С. Аджимамудова, 1981).

Необходимость определения количества лимфоцитов различных размеров в общей популяции признается многими исследователями (В. В. Иванов, 1990). Однако при анализе доступной литературы по изучению влияния малых доз ионизирующей и неионизирующей радиации на клетки системы крови мы не встретили работ, авторы которых использовали бы такой информативный гематологический прием, как подсчет лимфоцитограммы.

Лимфоцитограмма, отражая качественный состав лимфоидных элементов, позволяет дать более адекватную морфофункциональную характеристику популяции лимфоцитов, чем изучение и сравнение размеров этих клеток. В состав лимфоцитограммы входят, кроме больших, средних и малых лимфоцитов, большие гранулярные лимфоциты, лимфоретикулярные клетки, 2-ядерные лимфоциты (2-я клетка), формы Ридера и плазматические клетки.

Результаты анализа количества всех перечисленных видов лимфоцитов в периферической крови экспериментальных животных, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения, представлены в таблицах 6, 7, 8, 9, 10, 11.

Анализ данных позволил выявить среднюю отрицательную корреляционную зависимость между содержанием в крови лимфорегикулярных клеток и дозой облучения. Однако данная зависимость проявляется только в первые сутки после облучения $r = -0,625$. Спустя же 7 и 30 суток после воздействия корреляция между указанными параметрами является слабой и ее коэффициент r составляет, соответственно, $+0,126$ и $+0,291$.

Нами также проанализированы индексы количества соотношений больших, средних и малых лимфоцитов, индекс соотношения которых может оказаться информативным критерием оценки неспецифической резистентности организма экспериментальных животных. Анализ изменений индексов МЛ/БЛ и МЛ/СЛ при различных дозовых нагрузках в различные сроки после воздействия не позволил выявить каких-либо закономерностей в изменении данных параметров.

Ряд определенных тенденций следует рассматривать в качестве основания для дальнейших исследований.

Количество сегментоядерных нейтрофильных лейкоцитов в периферической крови экспериментальных животных в первые сутки после РО в дозах 0,3 Гр, 0,5 Гр, 1,0 Гр, 2,0 Гр, при СВЧ-облучении и комбинированном воздействии СВЧ-О и РО статистически достоверно увеличилось по сравнению с контролем по относительным и абсолютным показателям (таблица 12).

Относительный и абсолютный нейтрофилоцитоз особенно сильно выражен у животных, облученных в дозе 2,0 Гр. После облучения животных в указанной дозе количество нейтрофильных сегментоядерных лейкоцитов в крови значительно превышает уровень нормы как на 7-е, так и на 30-е сутки.

Анализ данных показывает, что между уровнем РО и относительным содержанием нейтрофилов в крови животных через 1 и 7 суток после воздействия имеет место положительная корреляционная зависимость. Через 1, 7 и 30 суток после облучения коэффициент парной корреляции r , соответственно, составляет $+0,904$; $+0,687$; $+0,507$.

При графическом изображении изменений относительного и абсолютного числа лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофильных лейкоцитов в периферической крови экспериментальных животных, подвергшихся различным дозовым нагрузкам, отчетливо видны дозозависимые количественные изменения указанных клеток.

В таблицах 13, 14, 15, 16 представлены данные о палочкоядерных, эозинофильных, базофильных лимфоцитах и моноцитах.

В таблице 17 даются результаты подсчета количества тромбоцитов в периферической крови экспериментальных животных.

При воздействии РО в дозе 1,0 Гр отмечено статистически достоверное снижение количества тромбоцитов через одни сутки, а при дозе облучения 2,0 Гр – через 1 и 7 суток после воздействия. Отмечена выраженная тенденция к увеличению количества тромбоцитов в периферической крови экспериментальных животных, подвергшихся воздействию более низких доз РО (0,3 Гр и 0,5 Гр) и СВЧ-облучения в дозе 0,25 мВт/см². В крови животных, подвергшихся комбинированному воздействию СВЧ-облучения и РО, увеличение числа тромбоцитов статистически достоверно.

ГЛАВА 4. МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РЕАКЦИИ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КРОВЕТВОРНЫХ ОРГАНОВ НА РАДИАЦИОННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ

Настоящая глава объединяет результаты собственных исследований по изучению биологических эффектов, возникающих в стромальных клетках кроветворных органов (тимус, брыжеечные лимфатические узлы, костный мозг) в результате раздельного и комбинированного воздействия на организм экспериментальных животных малых доз ионизирующей и неионизирующей радиации.

Представлению полученных данных предшествует характеристика клеточного состава зон роста первичных культур кроветворных органов интактных животных. Такое построение материала позволяет уделить внимание ряду вопросов, которые остаются до настоящего времени практически неизученными.

4.1. Структурно-функциональная характеристика клеточного состава зон роста первичных культур кроветворных органов интактных экспериментальных животных.

Прижизненные наблюдения за данными роста культур лимфатических узлов и тимуса экспериментальных животных показали, что изменения в эксплантационных кусочках кроветворной ткани начинаются в первые часы после начала культивирования.

Уже через 3–4 часа вокруг материнских кусочков мигрирующие лимфоциты образуют узкую зону, которая к концу первых суток достигает значительных размеров. Густота клеток в зоне миграции лимфоцитов убывает по мере их удаления от эксплантата.

Лимфоциты имеют округлую, реже продолговатую форму и гомогенную цитоплазму без заметных включений. Ободок ее у большинства лимфоцитов настолько узок, что на окрашенных препаратах клетки имеют вид «голых» ядер. Значительная часть мигрировавших лимфоцитов претерпевает деструктивные изменения. Наблюдения за изменениями, происходящими в культивируемых лимфоцитах, с помощью метода цейтраферной микрокиносъемки позволили установить, что первые нарушения в дегенерирующих элементах регистрируются в цитоплазме. Цитоплазма постепенно полностью исчезает, освободившиеся ядра сморщиваются, становятся пикнотическими и вскоре распадаются на отдельные фрагменты, которые на препарате обычно видны как интенсивно окрашенные гранулы. В отличие от цитоплазмы, фрагменты ядер стойки к аутолизу и сохраняются в зоне роста длительное время в большом количестве. Большая часть мигрирующих из эксплантата лимфоцитов погибает в первые же часы после их выхода в питательную среду. Однако количество лимфоцитов настолько велико и их способность к миграции настолько различна, что на третьи сутки после начала культивирования они еще образуют зону миграции, поддающуюся морфометрическому измерению (рис. 1, 2).

Культуры костного мозга в эти же сроки наблюдения отличаются тем, что гетерогенная популяция свободных гемопоэтических клеток, покрывающая практически все поле зрения, не позволяет идентифицировать среди множества мигрировавших клеток лимфоциты.

При выраженной способности к поступательному передвижению лимфоциты мигрируют за пределы трансплантата поодиночке, независимо от других клеток. При этом каждый из мигрирующих лимфоцитов может удаляться на различное расстояние от материнского фрагмента ткани. Поэтому густота их распределения в зоне роста оказывается равномерно убывающей к периферии. Метод цейтраферной микрокино съемки позволил наблюдать судьбу лимфоцитов, мигрирующих из эксплантатов в среду. Часть лимфоцитов свободно плавает в питательной среде, другая – прикрепляется к нитям фибрина плазмы и передвигается по нему.

При передвижении лимфоцита создается впечатление, что перемещению клетки предшествует выпускание цитоплазмой небольшого отростка, направление которого определяет путь клетки. При движении лимфоцита ядро всегда находится впереди клетки, а цитоплазма неравномерно окружает его со всех сторон. Нередко цитоплазма переходит в длинный отросток, и клетка напоминает форму «ручного зеркала». Если судить по кадрам, регистрируемым кинематографом в живой культуре, то скорость активных передвижений лимфоцитов составляет 8 мкм/мин. И все же лимфоциты удаляются от материнского кусочка культивируемого органа на небольшое расстояние, поскольку им не свойственно прямолинейно-поступательное передвижение. Напротив, большую часть времени они совершают разнонаправленные перемещения, временно привязываясь к какому-либо клеточному объекту зоны роста культуры.

Массовая гибель мигрирующих из эксплантатов лимфоцитов продолжается до тех пор, пока не будет произведена смена питательной среды для удаления продуктов распада и остатков разрушенных клеток. Эта процедура происходит, как правило, через 2 дня и совпадает с началом роста из эксплантата стромальных клеток.

На третьи сутки после начала культивирования можно видеть, как на поверхности эксплантированного фрагмента кроветворной ткани появляются цитоплазматические отростки передвигающихся на свободное пространство клеток – начинается рост стромальных клеток. Через некоторое время они появляются уже на открытом поле вне эксплантата (рис. 3).

При окраске по Дженнеру-Гимзе видно, что это типичные ретикулярные клетки, снабженные массивными отростками. Цитоплазма ретикулярных клеток слабо базофильна, нередко содержит азурофильную зернистость и большое количество вакуолей, придающих ей пористый вид. После окраски стромальных клеток акридиновым оранжевым под люминесцентным микроскопом в их ярко-оранжевой цитоплазме видно зеленое свечение находящихся в вакуолях фрагментов или целых ядер лимфоцитов, что свидетельствует о нуклеиновой природе последних.

Масса цитоплазмы в ретикулярных клетках распределена неравномерно. Она толще в области ядра, занимающего в клетке почти центральное положение, и заметно истончается к краям, отчего контуры ретикулярных клеток на окрашенных препаратах нечеткие. Так как цитоплазма этих клеток образует многочисленные отростки, соединяющиеся с такими же отростками других клеток, зона роста имеет вид единой цитоплазматической массы, в которой визуально невозможно определить границы клеток. Из-за нечеткости клеточных границ в этих культурах исключается возможность проведения морфометрических измерений таких параметров, как размеры стромальных клеток и их ядерно-цитоплазматические отношения.

Ядра ретикулярных клеток отличаются по размерам, форме и структуре. На окрашенных препаратах ядра обычно имеют четкие границы и прозрачную структуру с выделяющимися на светлом фоне темными ядрышками. Количество ядрышек в ядрах ретикулярных клеток неодинаково. Встречаются клетки, содержащие в ядре одно или два крупных ядрышка, но подавляющее большинство ретикулярных клеток вмещает в ядре несколько ядрышек (рис. 4). Иногда в ядре ретикулярной клетки можно насчитать до 12-ти мелких ядрышек.

Морфометрический анализ площади профиля ядер стромальных клеток позволил определить среднее значение этого параметра в клетках зон роста культур тимуса, лимфатических узлов и костного мозга экспериментальных животных (рис. 5, 6, 7).

Представленный в зонах роста первичных культур кроветворных органов наиболее характерный тип ретикулярных клеток имеет несколько вариантов с отклонениями в форме, размерах, характере окраски, ядерно-цитоплазматическом отношении и ряде других признаков. Практически все стромальные клетки зоны роста культур кроветворных органов содержат в цитоплазме небольшое количество диффузно расположенного ШИК-положительного материала. Но только в некоторых из них ШИК-положительное вещество регистрируется в виде мелких гранул (рис. 8).

Электронная микроскопия позволила подробно изучить ультрамикроскопическую структуру ретикулярных клеток (рис. 9). В цитоплазме ретикулярных клеток обычно выявляются слабо развитый гранулярный эндоплазматический ретикулум, мультивезикулярная структура комплекса Гольджи, беспорядочно расположенные рибосомы и полисомы. Митохондрии имеют овальную или палочковидную форму и небольшие размеры. В цитоплазме некоторых ретикулярных клеток нередко содержатся многочисленные включения (фрагменты ядер погибших клеток или даже целые дегенерирующие клетки), что указывает на их фагоцитарную активность.

Плотно прилегая к твердому основанию, на котором происходит рост клеток, стромальные элементы оказываются предельно распластанными на поверхности субстрата и поэтому становятся легкодоступными для цитологического анализа. При внимательном рассмотрении живых стромальных клеток в фазовом контрасте обращает на себя внимание прогрессирующее к краям истощение цитоплазмы, где она выглядит как тонкий парус, как бы растянутый между далеко распространившимися цитоплазматическими отростками. В таком состоянии хорошо видны внутренние структуры этих клеток. Поверхность изолированных живых клеток пребывает в постоянном движении. Однако для клеток, находящихся в цитоплазматическом контакте друг с другом, характерен «спокойный» вид клеточной поверхности.

Ядерная мембрана живой клетки выглядит в фазовом контрасте темной и достаточно плотной. Как правило, поверхность ее гладкая, без каких-либо выпячиваний или углублений. При этом становится возможным наблюдать в цитоплазме фазоположительные гранулы, сосредоточенные преимущественно в перинуклеарной зоне, частицы фагоцитоза, длинные нитевидные митохондрии. Митохондрии в живых клетках пребывают в постоянном движении, образуя во многих местах ответвления, изгибы, спиралевидные закручивания.

В цитоплазме ретикулярных клеток отчетливо видны 5–10 митохондрий, имеющих вид червеобразных образований, каждое из которых равно по своей длине примерно третьей части длины самой клетки. Митохондрии ориентированы вдоль продольной оси клетки и, как правило, находятся по обеим сторонам ядра. Вытянутые митохондрии, извиваясь, передвигаются вперед, затем возвращаются на исходное положение, как бы задним ходом. При этом форма митохондрий практически не изменяется в течение всей киносъемки.

Миграция стромальных клеток из эксплантатов совершается путем передвижения их по желеобразной поверхности твердой фазы питательной среды. Чтобы точнее представить темпы движения ретикулярных клеток в зоне роста, приведем расчеты, сделанные нами при наблюдениях в тех же культурах, в которых регистрировалась скорость движения лимфоцитов. За 48 часов, двигаясь по прямой, ретикулярные клетки преодолели расстояние около 0,3 мм. Значит, скорость их перемещения находится в пределах 7 мкм/час.

Распространение потока ретикулярных клеток от эксплантата происходит не только путем перемещения отдельных элементов, но и за счет интенсивного размножения всего клеточного комплекса. Судя по часто встречающимся среди ретикулярных клеток фигурам митотического деления, эти клетки интенсивно размножаются уже в начальный период роста. Однако период наибольшей пролиферативной активности стромальных клеток *in vitro*, как правило, соответствует 5-му дню после эксплантации фрагментов кроветворной ткани (рис. 10). Пролиферация ретикулярных клеток происходит довольно быстро, о чем свидетельствует их значительный количественный прирост (рис. 11). В поле зрения 5-дневных культур можно насчитать до 7-ми делящихся клеток. МИ в таких культурах составляет 4,8–5,5% в лимфатических узлах, 4,6–5,2% – в тимусе и 2,8–3,4% – в костном мозге. Находясь в состоянии прочного сцепления друг с другом, стромальные фибробласты медленно перемещаются по субстрату, образованному равным количеством плазмы крови и эмбрионального экстракта. Только во время митотического деления клетки стромы разрывают цитоплазматические контакты с соседними клетками, округляются и приобретают индивидуальность. Среди делящихся ретикулярных клеток можно наблюдать все стадии митотического цикла: выделение интерфазных ретикулярных клеток из общего клеточного массива, движение хромосом в ядре округлившейся клетки (профаза), образование метафазной пластинки, сокращение нитей веретена в ранней анафазе, сокращение экватора клетки во время телофазы (цитокинез). Создается впечатление, что делящиеся клетки останавливаются на том месте, где их застала профаза митоза, и до завершения телофазы утрачивают способность к перемещению.

Прижизненная хронометрия митозов стромальных клеток в фазовом контрасте позволила определить среднюю продолжительность митоза, начиная с того момента, когда на спокойной поверхности стромального массива регистрируется движение цитоплазматической поверхности начинающей митоз стромальной клетки.

Продолжительность различных фаз митоза в анализируемых клетках представлена в таблице 18.

В период поздней телофазы, когда совершается разделение цитоплазмы материнской клетки, постоянно наблюдается так называемое вскипание (*bubbling*)

различных участков клеточной поверхности делящейся материнской и вновь образованных дочерних клеток. «Кипение» выражается в образовании цитоплазмой мелких находящихся в постоянном движении и не теряющих связь с клеткой пузырьков. Через некоторое время пузырьки «вскипевшей» цитоплазмы втягиваются обратно, и поверхность клеток приобретает визуально спокойный вид.

В результате митотического деления образуются две дочерние ретикулярные клетки, которые вновь выпускают цитоплазматические отростки и начинают передвижение в зоне роста.

По данным авторадииографии, пролиферация стромальных клеток происходит на фоне активной ассимиляции ими радиоактивного предшественника ДНК – 3Н-тимидина (рис. 12). Индекс меченых ядер (ИМЯ) стромальных клеток через один час после импульсного введения в культуру изотопа составляет 33,2%.

Динамика распределения радиоактивной метки в ядрах этих клеток через 2, 3, 6, 12, 24 часа стала критерием для регистрации времени появления первых меченых митозов как показателя продолжительности в изучаемых клетках постсинтетического периода G2. Первые меченые митозы зарегистрированы нами через 6 часов (рис. 13). Индекс меченых митозов (ИММ) в таких культурах равнялся в среднем 2,6%.

О высоком метаболическом потенциале стромальных клеток в зонах роста культур всех кроветворных органов свидетельствует также активная ассимиляция ими радиоактивных предшественников нуклеинового и белкового метаболизма (рис. 14, 15).

Помимо стромальных клеток, в зонах роста культур 5-дневного срока культивирования встречаются все клеточные формы, составляющие генетический ряд различных ростков гемопоэза. Анализировать морфофункциональное состояние гемопоэтических клеток в зонах роста культур костного мозга чрезвычайно трудно из-за большого разнообразия присутствующих в нем кроветворных клеток. Поэтому при анализе зон роста культур костного мозга мы ограничились только изучением характера взаимодействия мегакариоцитов с лейкоцитами. Этому вопросу посвящена глава 6.

После произведенной на третьи сутки смены питательной среды в зонах роста культур лимфатических узлов и тимуса сохраняются лимфоциты различного типа. При этом следует отметить их характерное распределение в зонах роста культур. Лимфоциты обычно располагаются группами, в которых можно видеть все последовательные стадии дифференцировки – большие, средние и малые лимфоциты (рис. 16). В составе лимфоцитарных комплексов нередко можно видеть большие и средние лимфоциты, находящиеся в состоянии митотического деления (рис. 17). Многие из пребывающих в зонах роста культур лимфоцитов остаются жизнеспособными на протяжении 6–8 дней культивирования. Они активно передвигаются среди стромальных клеток зоны роста, постоянно находясь в состоянии «поиска». При передвижении лимфоцитов ядра меняют свою форму, приобретая самые причудливые очертания.

Представляют интерес наблюдения за состоянием одного из лимфоцитов. Постоянно меняя свою форму, он почти разделился на две части, и прямое (амитотическое) деление казалось неизбежным. Однако после многократного изменения формы две части ядра слились воедино – и образовалось овальное ядро, характерное для большинства лимфоцитов.

Огромное количество лимфоцитов за это время погибает. Встречаются участки, усеянные пикнотическими ядрами и фрагментами погибших лимфоцитов. Эти остатки обычно фагоцитируются макрофагами (рис. 18).

Макрофаги представляют собой свободные моноклеарные клетки неправильной формы и различной величины (рис. 19). Эти клетки, как правило, имеют слабо базофильную цитоплазму, нередко содержащую азурофильную зернистость. Ядра в цитоплазме этих клеток располагаются чаще всего эксцентрично. Высокая способность макрофагов к фагоцитозу на окрашенных цитологических препаратах видна по наличию в их цитоплазме большого количества клеточного детрита.

Следует отметить, что форма макрофагов более или менее однообразна лишь на фиксированных препаратах. При микрокино съемке живых фагоцитирующих макрофагов можно констатировать, что в реализации процесса фагоцитоза макрофаги приобретают характерологические признаки, позволяющие выделить среди них различные типы клеток как по морфологии, так и по функциональному состоянию. В живом состоянии макрофаги постоянно меняют свои контуры и могут приобретать самые причудливые формы.

Среди всех находящихся в зонах роста клеток макрофаги выделяются наиболее высокой двигательной активностью. Быстрое перемещение макрофагов совершается путем переливания содержимого цитоплазмы в сторону направления движения клетки. Выпуская при этом цитоплазматические отростки различной длины, фагоцитирующий макрофаг обволакивает попадающие ему продукты клеточного распада парусовидной вакуолью, которую затягивает вглубь своего клеточного тела. При наблюдении на экране за такой движущейся клеткой создается впечатление, что макрофаги, выполняя функцию очищения окружающей среды от чужеродного материала, достигают определенной степени насыщения и постепенно теряют свою двигательную активность. Такие клетки как бы замирают, и только интенсивное движение внутриклеточных компонентов свидетельствует о происходящем в клетках процессе переваривания захваченного материала.

Морфологический анализ клеток зон роста тотальных культур кроветворных органов, многочисленные кадры, снятые с помощью метода цейтраферной микрокино съемки, и данные автордиографического исследования не оставляют сомнений в том, что между стромальными клетками и лимфоцитами возникают тесные структурно-метаболические взаимоотношения, которые выражаются не только в пространственной близости, но и в формировании различного вида взаимодействий, которые потребовали специального изучения. Эти данные будут рассмотрены в главе 5.

Регулярная смена питательной среды в растущих культурах способствует интенсивному размножению ретикулярных клеток и заметному уменьшению в таких культурах количества макрофагов и лимфоцитов. По мере удаления продуктов клеточного распада путем тщательной промывки и регулярной смены питательной среды форма ретикулярных клеток становится удлинненной и уже к 8–10 суткам культивирования большинство ретикулярных клеток превращается в фибробластоподобные (рис. 20). В таких культурах клетки приобретают однообразную структуру и создают впечатление монотонности зоны роста. Фагоцитарная активность стромальных фибробластов в этих культурах прак-

тически отсутствует. Однако при анализе некоторых культур отрицать возможность восстановления способности стромальных фибробластов к фагоцитозу невозможно.

В зонах роста некоторых культур кроветворных органов спонтанно возникают «лакуны», ограниченные по периметру клетками ретикулоэндотелиального типа, которые имеют вытянутую форму и удлинённые ядра. Соединённые между собой цитоплазматическими отростками, они образуют как бы цепочку фиксированных относительно друг друга клеток (рис. 21). Создается впечатление, что эти «лакуны» моделируют *in vitro* ситуацию системы синусов и синусоидов в кроветворных органах *in vivo* (рис. 22). В литературе такие образования получили название «полости разжижения». Вопрос в отношении причин, вызывающих их появление в зонах роста стромальных клеток, в настоящее время остается открытым. Однако за счет разрыва цитоплазматических связей между клетками в плазменном сгустке твердой питательной среды, несомненно, возникает «рана», которая оказывается естественной моделью для изучения функциональных потенций растущих в культурах стромальных клеток. На фиксированных и окрашенных препаратах (особенно методом прижизненного наблюдения) хорошо видно, что в образовавшуюся «рану» освобождаются в большом количестве клетки, до этого структурно связанные между собой. Именно здесь можно наблюдать появление клеток, которые, отрываясь от общего пласта стромальных фибробластов, устремляются в образовавшуюся полость и активно уничтожают клеточный детрит. Стромальные фибробласты, которые теряют контакты между собой, попадая в «рану», приобретают сферическую форму и небольшие размеры. На морфологических препаратах это типичные гистиоциты, находящиеся на различных стадиях дифференцировки. Они характеризуются интенсивно базофильной цитоплазмой и богатым хроматином круглым ядром, расположенным, как правило, эксцентрично (рис. 23).

При постановке ШИК-реакции эти клетки приобретают ярко-малиновый окрас, что позволяет предположить образование в них полисахаридно-белковых комплексов.

При наблюдении за процессом фагоцитоза в фазовом контрасте совершенно очевиден факт, что макрофаги-гистиоциты обладают способностью приклеивать к себе продукты клеточного распада и дегенерирующие клетки. На экране видно, как на приклеившийся к гистиоциту лимфоцит наползает легкая, как шелковый парус, ундулирующая мембрана. Накрыв объект фагоцитоза, клетка продолжает медленно передвигаться в «полости разжижения». Постепенно все пространство «раны» заполняется гистиоцитами, густо «обклеенными» клеточным детритом. На окрашенных препаратах гистиоцит имеет вид «грозди винограда» (рис. 24).

4.2. Морфофункциональные параметры стромальных клеток кроветворных органов экспериментальных животных, подвергшихся разделному воздействию рентгеновского (0,3 и 0,5 Гр) и СВЧ-облучения.

При всех указанных видах и дозах облучения ни в одной из серий опытов нами не получены данные, позволяющие выявить цитодеструктивные изменения в клетках зон роста культур эксплантированных кроветворных органов.

Рост стромальных клеток в культурах лимфатических узлов и тимуса начинался, как правило, на 3-е сутки после выхода из культивируемых фрагментов лимфоцитов. При этом размеры зоны миграции последних соответствовали показателям контрольных культур.

В культурах костного мозга рост первых стромальных клеток регистрировать значительно труднее, так как кроветворные клетки различной степени зрелости, располагаясь многослойными очагами, покрывают практически все поле зрения. Однако после первой же смены питательной среды можно видеть, как из закрепившихся в твердой фазе фрагментов костного мозга начинают выползать отростки стромальных клеток. В связи с чем эксплантированный кусочек костного мозга нередко имеет вид «ежика».

На 5-е сутки после начала культивирования стромальные клетки всех органов кроветворения образуют обширные зоны роста, морфологическая характеристика которых идентична интактным культурам. Широко распластанная по твердой фазе питательной среды цитоплазма стромальных клеток не позволяет определить границы между клетками, форма и величина которых достаточно разнообразна. Все клетки имеют овальные ядра с нежной структурой хроматина. В ядре можно видеть от одного до нескольких мелких ядрышек.

Результаты морфометрического анализа площади профиля ядер стромальных клеток не отличаются от контрольных значений.

МИ стромальных клеток в зонах роста культур лимфатических узлов, тимуса и костного мозга экспериментальных животных, подвергшихся РО, составляет, соответственно, 4,6–5,2%, 4,4–5,2%, 3,0–3,2% при дозе 0,5 Гр и 4,4–5,0%, 4,8–5,4%, 2,8–3,2% при дозе 0,3 Гр. В зонах роста культур кроветворных органов экспериментальных животных, подвергшихся СВЧ-О, МИ также соответствует показателям интенсивно растущих *in vitro* стромальных клеток и составляет 4,6–4,8% для лимфатических узлов; 5,2–5,4% для тимуса; 2,2–2,8% для костного мозга.

Общая продолжительность митоза и отдельных его фаз в стромальных клетках зон роста анализируемых культур представлена в таблицах 19, 20, 21.

Как видно из соответствующих таблиц, общая продолжительность митоза в стромальных клетках всех кроветворных органов при РО не имеет статистически достоверных отличий от показателей контрольной группы животных.

При СВЧ-воздействии общая продолжительность митоза в стромальных клетках лимфатических узлов и тимуса снижена статистически достоверно, а в клетках костного мозга отмечена явная тенденция к снижению этого показателя.

Характерной особенностью культур в этих сериях опытов является появление среди ретикулярных клеток зоны роста большого числа лимфоцитов, занимающих промежуточное положение между большими, средними и малыми формами (рис. 25, 26). Эти клетки характеризуются следующими морфологическими признаками: большими, чем у обычных лимфоцитов, размерами, базофилией цитоплазмы и четкой перинуклеарной зоной. Ядра округлые, нежно-зернистые, содержат одно большое и несколько мелких хорошо окрашенных ядрышек. Такие морфологические признаки бласттрансформированных лимфоцитов зарегистрированы многими исследователями.

Значительное количество лимфоцитов зон роста культур кроветворных органов экспериментальных животных, подвергшихся разделному РО и СВЧ-воздействию в диапазоне указанных доз, отличается повышенной двигательной

активностью. Об этом свидетельствует наличие на препаратах большого числа лимфоцитов, имеющих самую разнообразную форму (рис. 27, 28).

Взаимодействие лимфоцитов с клетками стромы по типу периполезиса, то есть наружного блуждания и контакта друг с другом, выражено в этой серии опытов достаточно интенсивно (рис. 29, 30).

В зонах роста культур лимфатических узлов и тимуса животных в данной серии опытов зарегистрировано также взаимодействие стромальных клеток и лимфоцитов по типу эмпериполезиса. Полученные результаты представлены в главе 5.

4.3. Морфологические и функциональные особенности стромальных клеток кроветворных органов экспериментальных животных, подвергшихся рентгеновскому облучению в дозах 1,0 Гр и 2,0 Гр.

При культивировании фрагментов ткани лимфатических узлов и тимуса экспериментальных животных, подвергшихся РО в дозах 1,0 Гр и 2,0 Гр, нами получены результаты, свидетельствующие о стандартном росте стромальных клеток в таких культурах.

При просмотре статических картин фиксированных и окрашенных тотальных культур кроветворных органов можно утверждать, что морфофункциональный статус большинства ретикулярных клеток в зонах роста культур интактных животных и подвергшихся радиационному воздействию в указанных дозах идентичен. Как правило, это крупные клетки звездчатой формы с массивными цитоплазматическими отростками. Цитоплазма ретикулярных клеток слабо базофильна, нередко содержит азурофильную зернистость и большое количество вакуолей, придающих ей пенистый вид. Ядра ретикулярных клеток отличаются по размерам, форме и структуре. На окрашенных препаратах ядра обычно имеют четкую прозрачную структуру и выделяются темными ядрышками на светлом фоне. Количество ядрышек неодинаково. Встречаются клетки, содержащие в ядре 1–2 крупных ядрышка, но подавляющее большинство ретикулярных клеток имеет в ядре несколько ядрышек (размером 1–2 мк).

При анализе препаратов культур этих серий опытов видно, что увеличение зон роста происходит за счет активного митотического деления стромальных клеток. Митотический индекс в зонах роста культур кроветворных органов в этой серии опытов при облучении животных в дозе 1,0 Гр составляет в среднем 4,0–4,4% в лимфатических узлах; 4,2–4,6% в тимусе; 2,4–2,6% в костном мозге, а при дозе 2,0 Гр – соответственно 3,9–4,0%, 4,0–4,2% и 2,0–2,2%.

Показатели продолжительности митоза и его фаз в стромальных клетках этих культур представлены в таблицах 22, 23.

Следует отметить, что после тотального облучения экспериментальных животных в дозах 1,0 и 2,0 Гр наблюдалось ухудшение роста стромальных клеток костного мозга, взятого для культивирования через 1 сутки после облучения животных. Поэтому провести хронометрию продолжительности митоза и его фаз в этих культурах не представилось возможным.

На морфологических препаратах в этих сериях опытов видно, что в зонах роста появляются стромальные клетки, несущие в себе признаки «раздражения» стромального компонента кроветворного микроокружения, что находит свое выражение в следующих показателях.

Значительное количество стромальных клеток освобождено от цитоплазматических связей и находится на различном расстоянии от общего клеточного массива (рис. 31). В этих клетках возрастает базофилия цитоплазмы, в которой появляются достаточно крупные вакуоли, имеющие вид «пустот». В ядрах некоторых стромальных клеток активизируются ядрышки, приобретая при окраске по Брассе ярко-малиновый цвет (рис. 32). На электронограммах в цитоплазме стромальных клеток видны широкие цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума, пластичный комплекс Гольджи и свободно лежащие рибосомы. В различных участках цитоплазмы отмечаются отдельные или расположенные группами митохондрии (рис. 33). В цитоплазме некоторых стромальных клеток наблюдалось большое количество вакуолей и пиноцитозных пузырьков.

В ряде клеток отмечено очаговое расширение околядерного пространства и утолщение некоторых участков плазмолеммы. В цитоплазме некоторых клеток наблюдались деструктивно-дистрофические изменения части митохондрий. Хроматин ядер многих стромальных клеток имел тенденцию к конденсации. Ядрышки приобретали четкую гранулярно-фибрилярную структуру (рис. 34).

Многочисленные кадры, полученные с помощью метода цейтраферной микрокинотомии, не оставляют сомнений в том, что стромальные клетки способны разрывать цитоплазматические связи с другими клетками, выходить из состава общего клеточного комплекса и приобретать самостоятельность. Процесс перехода стромальных клеток в свободное состояние выглядит следующим образом. Сначала регистрируется разъединение цитоплазматических перемычек между отдельными клетками. При наблюдении за этим процессом на экране отчетливо видно, что разъединение цитоплазматических связей между клетками происходит при заметном натяжении клеточной поверхности. После разрыва цитоплазматических отростков каждая стромальная клетка стягивает их в свое клеточное тело и приобретает округлую форму. При этом при постановке ШИК-реакции в этих клетках отчетливо видно усиление интенсивности окраски ШИК-положительного вещества. В освободившихся из-под влияния соседних клеток стромальных элементах можно наблюдать все известные формы изменения клеточной поверхности, а именно – ундуляции (волнообразные движения), сферуляции (шаровидные выбросы цитоплазмы), выросты в виде вуалей, парусов и шлейфов. Количество митохондрий в цитоплазме таких клеток значительно возросло. Оно исчисляется не единицами, а десятками. По сравнению с нормой заметно ускорена их двигательная активность.

В зонах роста культур всех кроветворных органов в этой серии опытов встречаются скопления атипичных крупных клеток мономорфного вида. Ядра этих клеток большие, с хорошо очерченной мембраной и четко контурируемыми ядрышками (рис. 35).

Картометрический анализ также показал, что при сравнительном анализе гистограмм частотного распределения стромальных клеток этих культур по площади профилей их ядер наблюдается появление фракции клеток с крупными ядрами (рис. 36).

В зонах роста культур кроветворных органов экспериментальных животных, облученных в дозе 2,0 Гр, встречаются клетки с чудовищными, уродливыми ядрами грубой структуры. В зонах роста таких культур в значительном количестве отмечаются также атипичные гигантские клетки с большим числом ядер,

сосредоточенных в одном из участков цитоплазмы или располагающихся по периферии цитоплазмы в виде цепочек. Ядра этих клеток частично имеют неправильную форму, контуры их неровные, структура выявляется нечетко.

В некоторых из таких клеток можно насчитать от 25 до 75 ядер. Цитоплазма многоядерных образований представлена единой массой без каких-либо границ отдельных клеток (рис. 37). При окраске по Паппенгейму цитоплазма многоядерного комплекса характеризуется четкой базофилией в центральной части, которая при обработке Шифф-периодной кислотой отличается резко PAS-положительной реакцией (рис. 38).

При этом следует отметить, что появление в зонах роста культур кроветворных органов животных, облученных в дозе 2,0 Гр, стромальных клеток, несущих на себе признаки атипизма, имеет чаще всего очаговый характер.

Наблюдения за живыми клетками с регистрацией их поведения на киноплёнке позволяют констатировать, что образование многоядерных комплексов происходит главным образом за счет слияния одноядерных стромальных клеток в общую многоядерную территорию. Однако на фиксированных препаратах в то же время встречаются иногда многоядерные клетки с фигурами митотического деления ядер (рис. 39).

При анализе морфологических препаратов культур в этих сериях опытов зарегистрировано появление клеток с признаками патологии митозов. К таким показателям относятся пульверизация хромосом, отставание хромосом в метафазе, моноцентрические митозы и трехгрупповые метафазы (рис. 40). На морфологических препаратах зарегистрированы «шаровые метафазы», имеющие вид сплошного скопления хромосом в экваториальной области клетки.

При прижизненной хронометрии продолжительности митоза и его фаз методом фазово-контрастной микроскопии отмечено появление в делящихся стромальных клетках зон роста культур в этих сериях опытов состояния, которое характеризуется блокадой деления клеток. Это так называемые замороженные митозы. На 10 делящихся стромальных клеток число «замороженных» составило 1–2 клетки в зонах роста культур лимфатических узлов, 3–4 клетки в зонах роста культур тимуса – при дозе облучения 1,0 Гр. Количество «замороженных» митозов имеет тенденцию к увеличению при облучении в дозе 2,0 Гр.

Проведенный анализ позволяет предположить, что «замороженные» митозы возникают за счет задержки деления клетки в метафазе. Продолжительность последней в некоторых случаях составляла до 40 минут без последующего перехода клетки в очередную фазу митотического деления. Одну из таких «замороженных» метафаз мы наблюдали более 24 часов. В течение этого времени в клетке не выявлены какие-либо признаки ее деградации. К ней не проявлялся интерес ни со стороны постоянно «ищущих» информацию лимфоцитов, ни со стороны находящихся в зоне роста активно фагоцитирующих макрофагов.

Хроматидные мосты – наиболее часто встречающаяся форма патологического митоза. Между сформировавшимися после телофазы ядрами часто видны тонкие нити ядерного материала, связывающие две части ядра (рис. 41).

В зонах роста культур кроветворных органов в этой серии опытов появились клетки с токсическим поражением ядер в виде центрального разрежения и краевой конденсации хроматина, гипохромии, вакуолизации, различных стадий каприорексиса.

Погибающие клетки отличаются, вероятно, особенно активным метаболизмом. Это определяется появлением в цитоплазме клеток более мелких и подвижных митохондрий, наличием на поверхности многочисленных пузырьков. Ядра этих клеток обычно содержат 1 или 2 объемных ядрышка. Смерти клетки нередко предшествуют весьма характерные процессы поверхностного почкования. На поверхности погибающих клеток возникают быстрые ундулирующие движения цитоплазмы с образованием цитоплазматических выростов различного вида (рис. 42). При этом клеточная мембрана образует на своей поверхности множество вакуолей, представляющих собой пузырьки различных размеров (blebs). Пузырьки характеризуются светлым содержимым и имеют четкую фазово-контрастную поверхность. Внутри пузырьков отчетливо видно активное броуновское движение заполняющих их частиц.

Повреждение ядер гибнущих клеток проявляется в увеличении их размеров и приобретении четко очерченных границ. Очертания хроматина в дегенирирующих ядрах стираются, содержимое ядра приобретает гомогенный вид, на фоне которого отчетливо выделяются темные ядрышки. В литературе описаны процессы фрагментации ядер погибающих клеток, которые проявляются как результат «вскипания» ядра. Нам не удалось зафиксировать такой вариант разрушения ядер погибших клеток в зонах роста культур в этой серии опытов.

В полостях «разжижения плазмы» отмечается большое количество полиморфных крупных гистиоцитов с угловатыми, неправильной формы ядрами, базофильной цитоплазмой, обнаруживающей отчетливую пиронинофилию. Среди гистиоцитов часто регистрируется клазматоз, в результате которого в окружающей среде появляется большое количество неидентифицируемых клеточных фрагментов.

Ядра многих стромальных клеток несут на себе признаки, которые рассматриваются как проявления амитотического деления. Это бухтообразные углубления, разделяющие ядра с двух противоположных сторон на симметричные или асимметричные части (рис. 43). Довольно часто можно видеть стромальные клетки, которые связаны между собой истонченным цитоплазматическим мостиком (рис. 44).

В некоторых стромальных клетках наблюдается перемещение части содержимого ядра с ядрышками в цитоплазму. Начальный этап этого процесса заметен по изменению ядерной оболочки, которое всегда сопровождается появлением в соответствующем локусе цитоплазмы мелкого пузырька (рис. 45). Ядерная оболочка, граница которой в светлом микроскопе определяется по хроматину, прилегающему к ее внутренней поверхности, оказывается в одном участке ядра разделенной свободным промежутком. В этих местах в цитоплазме клетки формируется вакуоль, в которую устремляется часть карิโอплазмы с ядрышком. В дальнейшем размеры возникшей приядерной вакуоли увеличиваются, в ней возрастает количество перемещающегося содержимого ядра. Последовательные стадии этого процесса можно наблюдать на стромальных клетках, рассредоточенных в пределах одного поля зрения микроскопа (рис. 46).

Такие же картины перемещения содержимого ядер в цитоплазму зарегистрированы в стромальных клетках зоны роста, характеризующихся гигантскими размерами ядер (рис. 47, 48).

Для некоторых стромальных клеток зоны роста культур кроветворных органов экспериментальных животных, подвергшихся радиационному воздействию в дозе 2,0 Гр, характерно состояние, которое получило в литературе название «метаболический взрыв» (И. С. Фрейдлин, 1984). Последовательные стадии этого процесса можно наблюдать при прижизненной микрокино съемке клеток зоны роста различных культур. Единичные стромальные клетки начинают выпускать длинные булавовидные цитоплазматические отростки. Вначале количество этих образований исчисляется несколькими единицами, а затем клетка округляется и выбрасывает множество цитоплазматических фрагментов, как бы «взрываясь» и освобождая свое содержимое в окружающую среду. На фиксированных и окрашенных препаратах чаще всего можно зарегистрировать конечную фазу этого процесса (рис. 49, 50).

В зонах роста культур лимфатических узлов и тимуса в данной серии опытов зарегистрировано взаимодействие стромальных клеток и лимфоцитов по типу эмпериполезиса. Эти данные представлены в главе 5.

4.4. Структурно-функциональная характеристика стромальных клеток кроветворных органов экспериментальных животных, подвергшихся комбинированному воздействию СВЧ- и рентгеновского облучения (0,5 Гр).

Стромальные клетки зон роста первичных культур кроветворных органов экспериментальных животных, подвергшихся комбинированному воздействию СВЧ-О и РО, характеризуются показателями, свидетельствующими об их интенсивной пролиферации и активном взаимодействии с гемопоэтическими элементами. По морфологической характеристике эти клетки имеют однотипные размеры (от 18 до 20 мк), слабоокрашенную цитоплазму, не формирующую видимых границ между отдельными элементами. Крупные (10–12 мк) ядра эллипсоидной формы с четко очерченными границами хорошо видны на фоне полупрозрачной цитоплазмы. Количество ядрышек в ядрах стромальных клеток различное, однако большинство ядер содержит более 5 мелких ядрышек размером 1–2 мк.

МИ стромальных клеток в зонах роста культур кроветворных органов экспериментальных животных, подвергшихся комбинированному воздействию СВЧ-О и РО, в среднем соответствует показателям хорошо растущих культур и составляет 5,0–5,2% в лимфатических узлах, 5,2–5,4% – в тимусе и 2,8–3,2% – в костном мозге. В то же время в некоторых культурах данной серии опытов МИ стромальных клеток достигает 6,0%.

Хронометрический анализ продолжительности различных фаз митотического деления стромальных клеток в зонах роста культур в данной серии опытов представлен в таблице 24.

В цитоплазме некоторых ретикулярных клеток можно видеть фагоцитированные фрагменты разрушенных клеток. Однако при регулярной смене питательной среды, в результате чего удаляется основная масса дегенерировавших кроветворных клеток и продукты их распада, фагоцитарная активность стромальных клеток резко снижается. Через 8–12 дней зона роста в таких культурах традиционно состоит из стромальных фибробластов и сохранивших жизнеспособность свободных гемопоэтических элементов.

В зонах роста культур кроветворных органов экспериментальных животных в данной серии опытов обращает на себя внимание морфофункциональная сохранность и активность гемопоэтических элементов. На окрашенных препаратах отчетливо видна морфологическая структура лимфоидных клеток в зонах роста первичных культур тимуса и лимфатических узлов, а в культурах костного мозга – гемопоэтических элементов различных ростков кроветворения.

В зоне роста культур в этой серии опытов довольно часто встречаются скопления свободных кроветворных клеток. Располагаясь довольно большими по количеству клеток группами, они формируют своеобразные кластеры, среди которых можно видеть клетки, дифференцированные в различной степени.

На окрашенных препаратах культур лимфатических узлов и тимуса отчетливо видно, что между основными формами лимфоцитов (большие, средние и малые) имеются все промежуточные стадии, которые трудно разделить визуально по размерам. Характерной особенностью всех лимфоцитов является высокое ядерно-цитоплазматическое отношение. Ядро занимает большую часть клетки, окруженную светлой перинуклеарной зоной, цитоплазма при окраске по Джениеру–Гимзе имеет нежно-голубой цвет и мелкую азурофильную зернистость. Появление в зонах роста лимфоцитов, имеющих вид «ядрышкосодержащих» лимфоидных клеток, подтверждает благоприятные физиологические условия для сохранения жизнеспособности клеток в культурах этой серии опытов. Величина лимфоцитов постепенно возрастает, увеличивается размер ядер. Окраска ядра становится менее интенсивной, в то время как цитоплазма приобретает базофилию. Среди равномерно распределенного по ядру хроматина отчетливо выделяются 1 или 2 крупных ядрышка.

Наряду с активно пролиферирующими в зонах роста культур кроветворных органов стромальными клетками довольно часто встречаются гемопоэтические клетки, находящиеся в состоянии митотического деления.

На фиксированных и окрашенных препаратах в зонах роста культур в этой серии опытов постоянно регистрируются клетки, имеющие самую разнообразную форму (рис. 51, 52). Многие клетки имеют ядра с перетяжками и перешнуровками, которые как бы делят их на равные или неравные части.

Формы «ручного зеркала» и «движущейся кометы» – характерные признаки лимфоцитов в зонах роста культур кроветворных органов животных, подвергшихся комбинированному воздействию СВЧ-О и РО в дозе 0,5 Гр (рис. 53).

Взаимодействие лимфоцитов со стромальными клетками по типу периполезиса выражено в культурах в этой серии опытов достаточно интенсивно. В зонах роста постоянно можно наблюдать стромальные клетки, окруженные лимфоцитарным кольцом различной плотности (рис. 54). При наблюдении за живыми клетками отчетливо видно, что стромальные клетки являются пассивной мишенью для чрезвычайно активных и подвижных лимфоцитов. Однако каких-либо признаков деструкции или гибели взаимодействующих клеток при этом не отмечается.

Взаимодействие лимфоцитов и стромальных клеток по типу эмпериполезиса встречается в культурах в этой серии опытов достаточно часто, о чем можно судить по увеличению представительства комплексов «клетка в клетке» на окрашенных препаратах (рис. 55, 56).

ГЛАВА 5. МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК И ЛИМФОЦИТОВ ПО ТИПУ ЭМПЕРИПОЛЕЗИСА В НОРМЕ И ПРИ РАДИАЦИОННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

В зонах роста первичных культур лимфатических узлов и тимуса интактных животных и животных, подвергшихся разделному РО (0,3 и 0,5 Гр) и СВЧ-О, а также комбинированному воздействию СВЧ-О и РО в дозе (0,5 Гр), зарегистрированы лимфоциты, взаимодействующие с ретикулярными клетками по типу эмпериполезиса.

На фиксированных и окрашенных препаратах культур явление эмпериполезиса, морфологическим выражением которого являются комплексы «клетка в клетке», выглядит следующим образом.

Вокруг лимфоцита, находящегося в цитоплазматической вакуоли стромальной клетки, регистрируется неокрашивающаяся красителем зона (рис. 57).

Иногда в ней находятся несколько лимфоцитов, часть которых делится митозом (рис. 58). В цитоплазме одной стромальной клетки можно видеть несколько вакуолеобразных пространств с различным числом лимфоцитов (рис. 59).

Некоторые лимфоциты, находясь в цитоплазме стромальных клеток, претерпевают изменения, аналогичные бласттрансформации, возникающей под воздействием различных митогенов. Эти клетки характеризуются диаметром, превышающим размеры малых лимфоцитов в 2 и более раза, высоким ядерно-цитоплазматическим отношением, интенсивной базофилией цитоплазмы. Ядра трансформированных клеток, как правило, содержат несколько крупных ядрышек (рис. 60).

На фиксированных и окрашенных препаратах невозможно представить динамику процесса взаимодействия между лимфоцитами и стромальными клетками. Поэтому не исключено, что картины, где ретикулярные клетки своими цитоплазматическими отростками обволакивают лимфоциты, соответствуют периоду, когда последние покидают стромальные клетки уже после трансформации в бластные формы. При этом некоторые лимфоциты зафиксированы в момент движения, о чем свидетельствует характерный «шлейф» цитоплазмы, придающий клетке форму «ручного зеркала».

Поскольку направление движения живой клетки, как правило, определяется расположением ядра, можно предположить, что на препарате зафиксирован момент, когда лимфоцит покидает цитоплазматическую вакуоль стромальной клетки.

Наличие в зонах роста культур ретикулярных клеток, цитоплазма которых содержит продукты клеточного детрита (чаще всего это обломки ядер погибающих *in vitro* лимфоцитов), свидетельствует об их фагоцитарной активности (рис. 61). Однако число фагоцитирующих стромальных клеток в зонах роста невелико и после смены питательной среды и отмывки культуры от дегенерировавших клеток фагоцитоз в них практически не регистрируется.

Высокая пролиферативная активность и интенсивность метаболизма радиоактивных предшественников ДНК, РНК и белков (данные о чем представлены в разделе 4.1) характерна для стромальных клеток, среди которых возникают взаимодействия с лимфоцитами по типу эмпериполезиса (рис. 62). Нередко можно

видеть лимфоциты, находящиеся в цитоплазматических вакуолях стромальных клеток, синтезирующих ДНК, или делящихся митозов (рис. 63, 64).

При изучении характера взаимодействия стромальных клеток и лимфоцитов по типу эмпериполезиса методом электронной микроскопии основной трудностью является то, что количественное представительство комплексов «клетка в клетке» в зонах роста культур кроветворных органов очень незначительно. Регистрация 5–6 взаимодействующих клеток по типу эмпериполезиса на 1000 растущих в культурах стромальных элементов не позволяет получить полноценный материал для анализа ультраструктурных особенностей этого взаимодействия.

Полученный нами материал подтверждает имеющиеся в литературе данные о наличии хорошо идентифицируемых на электронограммах границ цитоплазматических вакуолей стромальных клеток и ультраструктурной целостности находящихся в них лимфоцитов (рис. 65, 66).

Использование метода цейтраферной микрокино съемки и регистрация этого феномена на киноплёнке позволили сделать вывод о способности лимфоцитов находиться в цитоплазме живых ретикулярных клеток, активно передвигаться внутри последних и вновь выходить за их пределы (рис. 67а, б, в).

При наблюдении за живыми клетками видно, что лимфоцит обволакивается цитоплазмой ретикулярной клетки и оказывается в вакуоли, вместе с которой он перемещается в околядерной области стромальной клетки. Ядро лимфоцита при этом постоянно меняет свою форму. Лимфоцит, совершивший эмпериполезис, затем выходит из ретикулярной клетки и теряется среди множества клеток зоны роста культуры.

В зонах роста культур лимфатических узлов и тимуса экспериментальных животных, подвергшихся Р-облучению в дозах 1,0 Гр и 2,0 Гр, не удалось выявить взаимодействия клеток по типу эмпериполезиса в том варианте, который представлен в культурах интактных животных и животных, облученных в дозах 0,3; 0,5 Гр СВЧ-О и подвергшихся комбинированному воздействию СВЧ-О и РО в дозе 0,5 Гр.

При воздействии на организм экспериментальных животных рентгеновским облучением в дозах 1,0 и 2,0 Гр зарегистрировано высвобождение стромальных элементов из общего массива растущих *in vitro* клеток. При этом высвобождение стромальных клеток, взаимодействующих с лимфоцитами по типу эмпериполезиса, приводит к появлению клеток, имеющих «перстневидный» облик за счет круглой вакуоли, которая, занимая значительную площадь цитоплазмы, оттесняет ядро на периферию клетки (рис. 68, 69). В цитоплазматических вакуолях может находиться от одного до нескольких лимфоцитов. Однако выхода последних из таких стромальных клеток зарегистрировать не удалось, что позволило оценить этот процесс как незавершенный эмпериполезис. Именно ингибция выхода лимфоцитов из стромальных клеток приводит к накоплению в зонах роста комплексов эмпериполезиса.

При рентгеновском облучении организма в дозах 0,3 и 0,5 Гр в зонах роста кроветворных органов облученных животных комплексов незавершенного эмпериполезиса не выявлено, в то время как их количество в зонах роста культур кроветворных органов животных, подвергшихся ионизирующему облучению в дозе 1,0 Гр, составляет 5–6 комплексов на 1000 клеток, а при облучении в дозе 2,0 Гр увеличено в 2, а иногда 3 раза. При этом следует отметить, что при дозах

рентгеновского облучения в 1,0 и 2,0 Гр «перстневидные» комплексы регистрируются также среди клеточных элементов костного мозга.

ГЛАВА 6. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА РАЗДЕЛЬНОГО И КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ И НЕИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ НА СИСТЕМУ МЕГАКАРИОЦИТОВ И ТРОМБОЦИТОВ

На отпечатках и полутонких срезах костного мозга, полученных из метаэпифизарного участка большой берцовой кости экспериментальных животных, среди многочисленной гаммы костномозговых клеток отчетливо выделяются мегакарициты различной степени зрелости.

На препаратах можно видеть все последовательные стадии образования тромбоцитов из мегакариоцитов, начиная от момента накопления азурофильной зернистости в виде скопления отдельных новообразованных пластинок и заканчивая процессом их отшнуровывания и отделения от общей цитоплазматической массы мегакариоцита. Наличие по периферии цитоплазмы цепочек из кровяных пластинок отличает тромбоцитогенный мегакариоцит от его предшественников (рис. 70).

При оценке содержания гликогеновых гранул и глыбок в цитоплазме мегакариоцитов выявлено различное количество гликогена в зависимости от степени созревания клеток. Наибольшее содержание PAS-положительного вещества обнаружено в цитоплазме зрелых мегакариоцитов (рис. 71). При этом количество гликогеновых зерен в цитоплазме мегакариоцитов различной степени зрелости варьирует достаточно сильно.

Результаты подсчета числа мегакариоцитов в костном мозге интактных экспериментальных животных и животных, подвергшихся раздельному и комбинированному воздействию ионизирующей и неионизирующей радиации, представлены в таблице 25.

Количество тромбоцитов в периферической крови экспериментальных животных во всех сериях опытов показано в таблице 17.

Проведенная прижизненная микрокиносъемка мегакариоцитов костного мозга, продуцирующих тромбоциты, не оставляет сомнений в мегакариоцитарном происхождении последних. Однако наблюдаемые при этом взаимодействия мегакариоцитов с нейтрофильными гранулоцитами потребовали специального изучения.

На фиксированных и окрашенных препаратах видно, что мегакариоциты, к которым, несомненно, «тяготеют» лейкоциты, окружены различным количеством этих клеток, многие из которых находятся как бы внутри мегакариоцитов.

Это впечатление подкрепляется визуально при движении микровинта микроскопа, определяющего глубину резкости изучаемого объекта. Каждый из таких лейкоцитов (чаще всего это сегментоядерные нейтрофильные лейкоциты) окружен светлой не окрашенной красителем зоной (рис. 72). Нередко эти светлые пространства тесно прилегают к многолопастному или многодольчатому ядерному комплексу мегакариоцита и имеют вид вдавленных в него полостей (рис. 73). Границы цитоплазматических вакуолей, окружающих лейкоциты, которые взаимодействуют с мегакариоцитами, хорошо видны на электронных микрофотографиях (рис. 74).

На препаратах костного мозга интактных животных и животных, подвергшихся раздельному и комбинированному воздействию ионизирующей и неионизирующей радиации, нами проведен подсчет лейкоцитов, которые находятся

в пределах цитоплазмы мегакариоцитов и рассматриваются М. Tavassoli (1986) как клетки, взаимодействующие по типу эмпериполезиса. Полученные данные представлены в таблице 26.

Однако проведенная нами микрокино съемка взаимодействий живых клеток и анализ отснятого киноматериала показали, что лейкоциты, окружающие мегакариоциты, обладают способностью оказывать на последние лизирующее воздействие, соответствующее по своим признакам эффекту цитолитического феномена. На экране отчетливо видно, как по мере внедрения одного или нескольких лейкоцитов в мегакариоциты происходят фрагментация цитоплазмы последнего, распад ее до зернистости и лизиса. Агрессивность лейкоцитов приводит в ряде случаев к появлению вокруг ядерного комплекса большего или меньшего числа нераздробившихся кусочков цитоплазматического материала, содержащего тромбоциты.

Спустя некоторое время на месте мегакариоцитов остаются «голые» ядра и обрывки цитоплазмы, а лейкоциты перемещаются в другие участки зоны роста.

Процесс разрушения мегакариоцитов лейкоцитами протекает сравнительно быстро (в среднем 15–60 минут). Поэтому мы имели возможность с помощью метода прижизненного наблюдения этих клеток провести хронометрический анализ скорости процесса разрушения мегакариоцитов лейкоцитами в костном мозге интактных и экспериментальных животных, подвергшихся радиационному воздействию. В таблице 27 представлены данные о скорости разрушения цитоплазматическими лейкоцитами тромбоцитогенных мегакариоцитов костного мозга экспериментальных животных.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В связи с развитием атомной энергетики, все более расширяющимся использованием радиоизотопов в биологии и медицине, биопромышленности и сельском хозяйстве число лиц, которые по роду своей деятельности подвергаются одноразовому или хроническому воздействию малых доз ионизирующих излучений, неуклонно возрастает.

Опубликованные в последние годы монографии и статьи отечественных и зарубежных специалистов не оставляют сомнений в реальности возникновения неблагоприятных биоэффектов воздействия ионизирующей радиации на организм человека и его кроветворную систему в дозах, не вызывающих острых реакций (М. Ингрэм, 1974; Н. Rossi, 1977; А. Я. Моничев, 1984; А. Г. Савинов, 1986; А. А. Козлов, 1988; J. Gould et al., 1988, 1989, 1990; J. Stather et al., 1988; Л. Б. Пинчук и соавт., 1989; Я. И. Серкиз, 1989).

На II Радиобиологическом съезде, прошедшем в сентябре 1993 г. в Киеве, многие теоретические предпосылки были подкреплены клиническими, экспериментальными и эпидемиологическими данными (К. П. Зак и соавт., 1993; Д. Ф. Глузман и соавт., 1993; В. Г. Тимченко и соавт., 1993; С. К. Солдатов и соавт., 1993; Е. Б. Бурлакова, А. А. Конрадов, 1993; З. А. Бутенко и соавт., 1993).

Одновременно с ионизирующей радиацией на организм человека оказывают влияние постоянно действующие факторы неионизирующего происхождения.

Совместными усилиями специалистов различных направлений радиационной медицины и биологии ежегодно пополняется арсенал сведений о вкладе радиационных компонентов в общий экологический массив оказываемых на живой организм воздействий (Р. А. Арутюнян, И. Г. Бабилян, 1989; С. А. Папоян, 1989; А. З. Запесочный и соавт., 1992). При комбинированном воздействии ионизирующей и неионизирующей радиации в результате возникающего взаимодействия этих факторов могут формироваться выраженные функциональные нарушения в гомеопэтической системе организма.

В специальной литературе представлен обширный материал по анализу количественных и качественных реакций клеток периферической крови человека и экспериментальных животных при облучении их ионизирующей и неионизирующей радиацией в различных дозах, а также воздействию на них других вредных факторов окружающей среды.

Однако, если анализировать приводимую в литературе информацию, в том числе и по наименее изученному феномену влияния малых доз, следует, вероятно, признать, что наиболее корректными для прогноза отдаленных последствий влияния на систему крови малых доз радиации являются экспериментальные разработки, выполняемые на животных, постоянно находящихся в условиях внешнего и внутреннего радиационного воздействия в зоне аварии на Чернобыльской АЭС, то есть в условиях, наиболее приближенных к реальным (Л. Б. Пинчук и соавт., 1989; К. П. Зак и соавт., 1990; Я. И. Серкиз и соавт., 1992 и др.). В то же время, учитывая обстоятельство, что возможности таких уникальных исследований не только ограничены, но для многих ученых недоступны по объективным причинам, большинство исследователей на базе различных экспериментальных моделей формирует собственную феноменологию возникающих в клетках системы

крови изменений для сопоставления с имеющимися в литературе данными по выявлению основных закономерностей действия на кроветворение изучаемых факторов.

Нами проведен анализ клеточного состава периферической крови экспериментальных животных, подвергшихся раздельному РО (в диапазоне доз 0,3–2,0 Гр) и СВЧ-О при плотности потока мощности 0,25 МВт/см² и комбинированному воздействию СВЧ-О с РО в дозе 0,5 Гр в указанной последовательности.

Во всех сериях опытов количественные показатели состояния эритроидного ростка кроветворения статистически достоверно не отличались от аналогичных параметров контрольных групп животных.

Полученные результаты согласуются с литературными данными, подтверждающими, что при радиационном воздействии количество эритроцитов в периферической крови экспериментальных животных уменьшается в значительно меньшей степени, чем других видов клеток (О. И. Белоусова, М. И. Тришина, 1974). Даже при таких высоких дозах облучения, как 4,0 и 7,0 Гр, количество эритроцитов в периферической крови сохраняется на уровне 20–30%.

Оценка количественных и качественных изменений клеток периферической крови и костного мозга экспериментальных животных, находящихся в условиях постоянного воздействия малых доз излучений различного качества низкой интенсивности в зоне Чернобыльской АЭС, позволила сделать вывод о том, что из всех гемопоэтических элементов при оказываемых на организм воздействиях менее всего страдает красный росток кроветворения (Я. И. Серкиз, В. Г. Пинчук и соавт., 1992).

Вероятно, как филогенетически наиболее древняя ветвь гемопоэза, эритроидные клетки оказываются резистентными к воздействию различных экологических факторов. Однако вопрос этот достаточно спорен, и в литературе высказывается много противоречивых мнений (Ф. А. Мкоян, 1989).

Глубокое изучение реологических свойств и функций мембранных систем эритроцитов после радиационного воздействия на организм (облучения в дозах 0,5 и 1,0 Гр) показывает наличие структурной реорганизации плазматических мембран эритроцитов, которая сопровождается функциональными нарушениями (К. Я. Буланова и соавт., 1993).

С помощью электронно-микроскопического исследования клеток периферической крови установлено, что у большинства лиц, участвовавших в ликвидации последствий аварии на ЧАЭС и имеющих клинический диагноз анемии, эритроциты имеют характерные нарушения ультраструктуры, которые, возможно, связаны с повреждением мембран эритроцитов (В. И. Марков и соавт., 1993).

В проведенных нами экспериментах в группе животных, подвергшихся СВЧ-О при плотности потока мощности 0,25 МВт/см², отмечено статистически достоверное снижение количества эритроцитов через 1 и 7 суток после радиационного воздействия. Указанные изменения сопровождаются достоверным снижением количества гемоглобина и повышением скорости оседания эритроцитов (СОЭ) через 1 сутки после облучения.

Результаты проведенного нами дополнительного эксперимента по воздействию на экспериментальных животных СВЧ-О при плотности потока мощности 1 МВт/см² также показывают снижение количества эритроцитов в периферической крови животных этой группы через 1 день после облучения.

Учитывая недостаточность имеющихся в литературе сведений о влиянии СВЧ-О на клетки эритроидного ростка кроветворения, приведенные нами данные могут стать предметом дополнительного анализа.

Во всех группах экспериментальных животных, перенесших рентгеновское облучение в диапазоне доз 0,3–2,0 Гр, через 1 сутки после воздействия зарегистрировано достоверное снижение общего количества лейкоцитов крови. Так как через 30 суток после облучения состав лейкоцитов периферической крови экспериментальных животных нормализуется, зарегистрированную лейкопению можно рассматривать как преходящую.

Однако, на наш взгляд, не следует оставлять без внимания отмеченную во всех группах экспериментальных животных лейкопеническую реакцию первого дня облучения. Использование нами аналога тимидина-бромдезоксипуридина (BrDu), меченного флюоресцеинизотионатом (FiTS), для изучения пострадиационной динамики изменений ДНК-синтезирующей активности клеточной популяции костного мозга у животных этих же серий опытов, подтверждает статистически достоверное снижение числа ядросодержащих клеток, находящихся в S-фазе клеточного цикла, в первый день после радиационного воздействия (А. Г. Никоненко и соавт., 1993). Поэтому нельзя исключить, что эффект ранней реакции лейкоцитов на облучение связан с задержкой их выхода из костного мозга по еще недостаточно изученным причинам, а результат такого «блока» может оказаться небезразличным для полноценного функционирования системы крови в отдаленные сроки.

Следует отметить также увеличение в периферической крови абсолютного количества сегментоядерных нейтрофильных лейкоцитов на 30-е сутки после облучения в дозе 2,0 Гр. Согласно данным литературы, такой подъем числа гранулоцитарных клеток соответствует периоду пострадиационного восстановления этого ростка кроветворения. Экспериментально доказано, что повышение показателя гранулоцитов является результатом активной пролиферации и дифференцировки в костном мозге восстановившихся после радиационного повреждения стволовых клеток (В. И. Корогодин, 1966). Этим объясняется тот факт, что уровень нейтрофильных лейкоцитов в периферической крови экспериментальных животных после облучения в дозах 1,5–4,0 Гр длительное время превышает уровень нормы (О. И. Белоусова, П. Д. Горизонтов, 1979).

Облучение экспериментальных животных неионизирующей радиацией показало индифферентность этого вида облучения для лейкоцитов.

В то же время анализ содержания лейкоцитов в периферической крови экспериментальных животных, подвергшихся комбинированному воздействию электромагнитного поля сверхвысокой частоты и рентгеновского облучения в дозе 0,5 Гр, заслуживает дальнейшего изучения. Стойкая лейкопеническая реакция, сохраняющаяся в периферической крови через 30 дней после комбинированного воздействия радиации на экспериментальных животных, служит основанием для обсуждения вероятности эффекта «усиления» действия на миелоидный росток кроветворения ионизирующей радиации в случае, когда ей предшествует СВЧ-О.

Рентгеновское облучение экспериментальных животных в дозах 1,0 и 2,0 Гр провоцирует снижение количества эозинофильных лейкоцитов, сохраняющееся на протяжении 30 суток после радиационного воздействия.

В то же время, по данным исследователей, изучающих изменения в периферической крови экспериментальных животных, находящихся в зоне Чернобыльской АЭС в условиях постоянного воздействия радиации низкой интенсивности, количество эозинофильных лейкоцитов в ранние сроки после начала радиационного воздействия в 2–3 раза превосходит нормативные значения (Я. И. Серкиз, В. Г. Пинчук и соавт., 1992). В течение 4-летнего наблюдения за экспериментальными животными в этой серии опытов отмечена эозинофилия, не менее чем в 4–10 раз превышающая значения нормы. Этому показателю придается особое значение, так как, по мнению авторов, наблюдаемая эозинофилия может быть проявлением синдрома эндогенной интоксикации. Более того, увеличение числа эозинофильных лейкоцитов в периферической крови было отмечено в первые месяцы и годы после аварии на Чернобыльской АЭС у лиц, подвергшихся облучению (В. Г. Вебешко и соавт., 1992). Таким образом, не вызывает сомнений, что патогенез пострадиационной эозинофилии представляет собой специальный предмет для исследования.

Лимфоцитопения – наиболее характерный показатель 1-го дня облучения во всех проведенных сериях опытов. Учитывая высокую радиочувствительность лимфоцитов, можно полагать, что зарегистрированная через 1 сутки после облучения у экспериментальных животных лейкопения является результатом массовой интерфазной гибели лимфоцитов.

К 30-м суткам после радиационного воздействия только в группах экспериментальных животных, подвергшихся РО в дозе 2,0 Гр и комбинированному СВЧ-О и РО, сохранялась лимфоцитопения в периферической крови.

Необходимость определения количества лимфоцитов различных размеров в общей популяции признается многими исследователями (А. А. Лаптева, 1972; В. В. Иванов, 1988). Однако при анализе доступной литературы по изучению влияния малых доз ионизирующей и неионизирующей радиации на клетки системы крови мы встретили лишь единичные работы, авторы которых использовали этот критерий. В то же время сообщения о значении фактора размерности лимфоцитов при действии малых доз радиации несут в себе большой информативный материал. Так, при хроническом воздействии на организм факторов радиационной и химической природы отмечено изменение индекса соотношения малых и больших лимфоцитов до 0,2 при значении этого показателя в норме 0,8–1,2 (В. В. Иванов, 1990).

В последние годы цитологи начали придавать приоритетное значение изучению филогенетически наиболее древней субпопуляции лимфоцитов, получившей название «естественные клетки-киллеры» (ЕКК). Доказано, что эти клетки при светооптическом изучении мазков крови, окрашенных по Романовскому-Гимзе, представляют собой широкоплазменные лимфоциты размером 10–16 мкм, содержащие в цитоплазме характерные азурофильные гранулы, в связи с чем они получили название «большие гранулярные лимфоциты» (БГЛ).

Подробные сведения об этих клетках представлены в монографии «Большие гранулосодержащие лимфоциты в патологии» (К. П. Зак, Л. П. Киндзельский, А. К. Бутенко, 1992). Авторами работы показана значимость изучения этого вида лимфоцитов, определение количества которых является важным параметром оценки гематоиммунологического статуса организма.

БГЛ периферической крови экспериментальных животных всех проведенных нами серий опытов реагируют на радиационное воздействие. Последствия зарегистрированной реакции клеток, формирующих портрет естественного иммунитета организма, остаются неизвестными и, несомненно, требуют дальнейшего изучения.

Что же касается определения в периферической крови человека или экспериментальных животных, подвергшихся воздействию различных экологических факторов в малых дозах, таких форм лимфоидных клеток, как лимфоретикулярные, 2-ядерные и формы Ридера, то эти данные в литературе отсутствуют.

Проведенный нами анализ содержания указанных субпопуляций лимфоцитов в периферической крови экспериментальных животных, подвергшихся заданным радиационным воздействиям, сопоставление полученных данных с морфофункциональной реакцией на облучение лимфоцитов, культивируемых *in vitro*, позволяют высказать предположение о возможной взаимосвязи ряда наблюдаемых изменений.

Так, в зонах роста культур кроветворных органов животных, подвергшихся РО в дозе 0,5 Гр, нами отмечено появление значительного количества клеток, ядра которых имеют поперечные углубления и перешнуровки, ранее рассматриваемые нами как признаки amitotического деления клеток (П. М. Мажуга, Э. В. Бондаренко, 1970; Э. В. Михайловская). Действительно, на окрашенных препаратах видно множество клеток с намечающимися бороздками перешнуровки ядер. В других клетках подобные перетяжки почти разъединяют ядра на две части.

Однако, используя метод прижизненного наблюдения и регистрируя на киноплёнке для последующего анализа поведение изучаемых клеток, мы пришли к заключению, что на окрашенных препаратах отражены разнообразные варианты зафиксированных в момент движения клеток. Мы неоднократно наблюдали картины, когда изгибы и перетяжки ядра живой клетки практически не оставляли сомнений в том, что в ближайшее время ядро разделится на 2 части. Однако более чем 24-часовое наблюдение позволило нам окончательно убедиться, что ядро живой клетки принимает активное участие в движении последней, реализуя передвижение посредством самых причудливых изменений его формы.

Состояние это легко обратимо, и ядро часто вновь возвращается к первоначальной сферической форме.

На наш взгляд, наличие на статических препаратах клеток, характеризующихся полиморфизмом ядер, следует рассматривать как показатель их повышенной двигательной активности. Можно утверждать, что при комбинированном воздействии на организм экспериментальных животных СВЧ-О при плотности потока мощности 0,25 мВт/см² и РО в дозе 0,5 Гр культивируемые *in vitro* клетки кроветворных органов обладают более выраженным двигательным потенциалом, чем клетки животных, подвергшихся радиационному воздействию в дозах 1,0 и 2,0 Гр.

В наших исследованиях появление статистически достоверного увеличения количества лимфоретикулярных клеток в периферической крови экспериментальных животных, подвергшихся комбинированному воздействию СВЧ-О и РО в дозах, которые могут рассматриваться как не вызывающие острых лучевых реакций в системе крови, совпадает с регистрацией в популяции лимфоцитов клеток с повышенной двигательной активностью и выживаемостью *in vitro*. Этот

признак можно рассматривать с позиции стимулирующего эффекта указанного вида радиационного воздействия на функциональную активность лимфоидных клеток. В то же время еще из классической гематологии известно, что выражение «клетки, имеющие форму ручного зеркала» означает появление в периферической крови лимфоретикулярных клеток, происхождение которых остается неясным. До сих пор дискутируется вопрос их возможного происхождения не из лимфоцитов, а из ретикулярных клеток. Появление в периферической крови животных или человека лимфоретикулярных элементов считается неблагоприятным прогностическим признаком, свидетельствующем о физиологическом дискомфорте в системе кроветворения. Известно, что лимфоретикулярные клетки, которые регистрируются в минимальном количестве в периферической крови здорового человека или интактного экспериментального животного, могут появляться при различных реактивных или патологических состояниях системы крови в достаточно большом числе.

Оценка двигательного потенциала культивируемых *in vitro* клеток при изучении влияния на кроветворение малых доз радиации может оказаться важным показателем, который должен рассматриваться как биологический эффект радиации.

Нами была проведена работа по изучению двигательной активности бластных клеток периферической крови при остром лейкозе (Э. В. Михайловская и соавт., 1989). Это позволило сделать вывод, что способность бластных клеток к движению и выживаемости *in vitro* определяет степень злокачественности патологического процесса и резистентности больного к проводимой цитостатической терапии. Можно предположить, что разработка этого критерия открывает перспективу оценки функционального состояния популяции лимфоидных клеток в отдаленные сроки после облучения, что в настоящее время остается практически неизученным.

На фиксированных и окрашенных препаратах культур кроветворных органов экспериментальных животных, подвергшихся облучению в дозах 1,0 и 2,0 Гр, также отмечено наличие клеток с признаками, типичными для amitotического деления. Однако, в отличие от чрезвычайно изменчивой и разнообразной конфигурации ядер свободно передвигающихся гемопоэтических клеток в зонах роста культур экспериментальных животных, подвергшихся РО (0,3 и 0,5 Гр), СВЧ-О и комбинированному воздействию указанных факторов, эти признаки имеют более стандартное и однотипное выражение. Чаще всего перетяжки и перешнуровки ядер, позволяющие предположить возможность их прямого деления, характерны для фиксированных стромальных, а не свободных кроветворных клеток. По нашим наблюдениям, наличие двух крупных ядрышек, расположенных на противоположных полюсах ядра, – характерный признак, который может оказаться предвестником последующего amitоза.

Учитывая то обстоятельство, что вопрос в отношении правомочности прямого (немитотического) деления клеток до настоящего времени остается дискуссионным, необходимо дополнительно проанализировать некоторые факты. Используя в своих исследованиях метод цейтраферной микрокино съемки живых клеток в фазовом контрасте, мы пришли к заключению, что в результате митотического деления клетки репродуцируют только себе подобные формы. Поэтому такое состояние клеток можно рассматривать как их пребывание в фазе ауторепродукции.

Наличие в зонах роста культур лимфатических узлов и тимуса экспериментальных животных, подвергшихся радиационному воздействию в дозах 1,0 и 2,0 Гр, различных морфологически промежуточных форм между стромальными и лимфоидными элементами, не позволяет обходить вопрос о возможном гистогенетическом родстве этих клеток. Нами высказывалось предположение о возможной дифференцировке стромальных клеток в лимфоциты в условиях адаптации к среде с осложненным метаболизмом. При этом amitotическое деление клеток в цепи «ретикулярная клетка – лимфоциты» рассматривалось как фаза гетерорепродукции, проходящая цикл реутилизации стромальными клетками продуктов клеточного распада из окружающей среды. К сожалению, наша гипотеза, высказанная на базе изучения статистических картин фиксированных и окрашенных препаратов культур кроветворных органов, до сих пор не нашла окончательного подтверждения при микрокино съемке живых клеток. Несмотря на наше многолетнее пристальное внимание к amitotическому способу деления клеток, нам не удалось достаточно четко зафиксировать этот процесс на киноленту.

Итак, анализируя данные собственных исследований гематологических показателей экспериментальных животных, подвергшихся различным радиационным нагрузкам – в малых (0,3–0,5 Гр) и нелетальных (1,0–2,0 Гр) дозах, мы пришли к заключению, что возникающие в ранние сроки после воздействия (1 сутки) изменения в клеточном составе периферической крови носят преходящий характер и к 30-м суткам показатели крови опытных и контрольных животных фактически становятся равнозначными. Эта закономерность, во всяком случае, соблюдается в пределах доз 0,3–2,0 Гр.

Как известно, одной из отличительных особенностей системы крови является уникальный запас прочности, позволяющий, несмотря на гибель значительной части кроветворных клеток, запускать компенсаторные механизмы, обеспечивающие восстановление гемопоэза. Поэтому нормализация клеточного состава пролиферирующего, созревающего и функционирующего пулов кроветворных клеток в поздние сроки после облучения отмечается большинством исследователей.

Зарегистрированные нами изменения незначительно отличаются от тех, которые, согласно данным литературы, развиваются как на фоне антигенного раздражения, так и в других ситуациях.

Например, реакция лимфоцитов на действие кортизона, иприта, колхицина, введение раствора формалина, применение холода, гипертензионный стресс и многие другие факторы неантигенной природы оказываются весьма сходной с реакцией на облучение. Единственным фактором, на основании которого возникают сомнения в отношении неспецифичности реакции клеток периферической крови на радиационное воздействие, является отсутствие выраженной плазматической реакции, которая характерна для формирования клона антигенообразующих клеток. В то же время в литературе приводятся данные о том, что незначительную реакцию плазматических клеток удается наблюдать, применяя даже такой далекий от иммунологических раздражителей фактор, как переменное электромагнитное поле (Н. В. Васильев, 1975).

Таким образом, реакция клеток системы крови на антигенные и неантигенные раздражители, к которым относятся и различные виды радиации, по мно-

гим параметрам весьма сходна, что, по мнению ряда авторов, не только отражает специфическое воздействие радиации, но и свидетельствует о наличии общего стереотипного ответа системы клеток крови на воздействие как таковое (Н. В. Васильев, 1975; В. А. Барабой, 1993).

Поэтому можно согласиться, что часть зарегистрированных нами сдвигов в количественном составе клеток периферической крови носит неспецифический ирритативный характер, вписывающийся в картину радиационного стресса.

Вывод, который делает Н. В. Васильев о том, что «ирритативный комплекс клеточных реакций – это фундамент для формирования специфических реакций, то есть увертюра к патологии специфической», на наш взгляд, является приемлемой основой для формирования научного представления о патогенетических механизмах воздействия малых доз ионизирующей и неионизирующей радиации на кроветворение. Расшифровать эти механизмы возможно только при изучении морфофункциональных особенностей клеток тех звеньев гемопоэза, в которых «зарождается» очаг гематологической патологии любой этиологии. В настоящее время можно считать доказанным, что в первую очередь такой мишенью является система кроветворного микроокружения, регулирующая состояние кроветворения. К сожалению, многие стороны функционирования этой системы остаются неизученными.

В последние десятилетия благодаря успехам экспериментальной радиобиологии и гематологии серьезно изменились представления о системе костномозгового кроветворения. В то же время анализ обширной литературы не позволяет полностью согласиться с рядом современных данных, которые, несмотря на свою гипотетичность, приобрели статус теорий.

Согласно гипотезе R. Schofield (1978), СКК размещаются в специальных коллагенобеспеченных клеточных структурах, названных «нишами», куда может поступить только один кодовый сигнал, стимулирующий СКК к пролиферации новых стволовых клеток. Гипотеза эта оказалась чрезвычайно жизнеспособной и нашла свое развитие в работах ведущих зарубежных и отечественных специалистов, изучающих СКК и ее микроокружение (S. Bentley, 1982; T. Dexter, 1982; И. Л. Чертков, О. А. Гуревич, 1984; А. Я. Фриденштейн, Е. А. Лурия, 1980; А. Г. Конопляников, 1984 и др.) Однако совершенно справедливо замечено, что «бессмертие» или «квазибессмертие» СКК обосновано недостаточно корректно и не подкреплено адекватными результатами при изучении патогенетических механизмов поражения системы костномозгового кроветворения облученных животных или человека (Я. И. Серкиз, В. Г. Пинчук и соавт., 1992).

Особенности строения и распределения по организму кроветворных органов, в частности костного мозга, не позволяют согласиться с гипотетическим предположением о равномерности облучения СКК, находящихся в «нишах» кроветворного микроокружения.

«Всегда, – пишут авторы, – какая-то неопределенно большая часть СКК будет находиться в более выгодных условиях по отношению к источнику облучения даже при облучении редкоионизирующим излучением, не говоря уже об излучении со значительными колебаниями ЛПЭ».

Более того, в работах многих авторов показано, что пострadiационная застойная гиперемия, нарушающая физиологические процессы трансапиллярного обмена и прохождения кроветворных клеток через сосудистую стенку, формирует

синдром эндогенной интоксикации. Механизм этого процесса детально рассмотрен в трудах ведущих специалистов данного направления (М. А. Уманский и соавт., 1979; Л. Б. Пинчук и соавт., 1985; Я. И. Серкиз, В. Г. Пинчук и соавт., 1992).

Обосновывая решающее значение в патогенезе острой лучевой болезни синдрома эндогенной интоксикации, который развивается непосредственно за формированием первичных радиобиологических эффектов, авторы предполагают, что, даже если стромальные «ниши», формирующие микроокружение СКК, идеально обеспечивают последним «условия практического анабиоза», в кроветворных тканях, имеющих фактически открытый синусоидальный тип микроциркуляции, исключить действие на СКК эндогенных токсинов невозможно.

По мнению ряда ученых, «синдром эндогенной интоксикации, особенно лучевой или цитостатической природы, когда токсинообразование совершается быстро, количество токсинов самой разнообразной природы нарастает лавинообразно, и они беспрепятственно заполняют все клеточные и внеклеточные водные секторы организма, нарушая целостность и метаболизм любой структуры, не может не повлиять на так называемое бессмертие СКК» (Я. И. Серкиз, В. Г. Пинчук и соавт., 1992). Предполагается, что непосредственно поглощенная доза ионизирующего облучения вносит меньший вклад в повреждение стволового пула кроветворной ткани, чем последствия синдрома эндогенной интоксикации.

Авторы концепции первичной роли синдрома эндогенной интоксикации в формировании основных симптомокомплексов ОЛБ, разработав методы терапии, которые резко ограничивают токсинообразование, подтвердили реальность выздоровления при ОЛБ в случае преодоления организмом критической стадии интоксикации (Я. И. Серкиз, В. Г. Пинчук и соавт., 1992).

Не вызывает сомнений, что повреждающее действие любого радиационного фактора различной силы в раздельном или комбинированном варианте, в большей или меньшей степени провоцирующее формирование синдрома эндогенной интоксикации в клеточной системе гемопоэза, распространяется на все клетки кроветворения, включая достаточно радиорезистентные стромальные клетки гемопоэтического микроокружения.

Действительно, несмотря на убедительные доказательства высокой радиорезистентности клеток кроветворного микроокружения (ретикулярная строма) как популяции медленно пролиферирующих инертных клеток, находящихся *in vivo* в состоянии пролиферативной спячки, многие стороны этого вопроса на современном уровне знаний требуют определенной корректировки.

Понятие «радиорезистентность» не ограничивается критерием выживаемости популяции. Известно, что в радиорезистентных клетках возникают множественные повреждения на молекулярно-генетическом и структурно-функциональном уровнях. В настоящее время уже получены доказательства того, что выживаемость радиорезистентных популяций определяется более активной репарацией возникающих в них повреждений (А. Г. Конопляников, 1992). Эти повреждения репарируются на молекулярном уровне, клеточная популяция продолжает функционировать в заданном режиме, и при этом остаются как бы незамеченными структурно-функциональные преобразования, индуцируемые радиацией. При влиянии на организм различных факторов радиационной природы, а также комбинированных вариантов воздействия в дозах, не вызывающих острых лучевых реакций, заметить возникающие изменения еще труднее. В то же время

именно в клетках, названных «источником эволюционного резерва», могут возникать структурные аномалии хромосом, которые не означают влияния мутагенного фактора непосредственно на первичную структуру ДНК. И эти, казалось бы, незаметные нарушения кариотипа могут передаваться в поколениях пролиферирующих клеток (Д. М. Спитковский, 1979, 1992).

Таким образом, можно предположить, что под влиянием малых доз отдельного или комбинированного воздействия радиации в геноме высокорезистентных клеток возникают изменения, способные индуцировать наследуемые адаптивные реакции, на фоне которых возможно даже повышение жизнеспособности данной популяции. Д. М. Спитковский считает, что для клеточной популяции возникающие изменения закрепляются эволюционно и их следует рассматривать как состояние генетической адаптации. Для организма такие изменения могут оказаться далеко не безразличными, так как наличие генетически измененных клеток не исключает опасности возникновения злокачественно трансформированных клонов.

В своих исследованиях мы исходили из предположения, что система кроветворного микроокружения более всего подходит на роль «источника эволюционного резерва» в системе крови. Изучение клеточных реакций этого звена гемопоэза на влияние различных доз отдельного или комбинированного радиационного воздействия открывает перспективы познания механизмов управления и коррекции в клеточных популяциях, обеспечивающих адаптацию кроветворной системы к постоянно изменяющимся условиям внешней и внутренней среды обитания.

Морфологические и функциональные изменения, которые возникают в кроветворных органах экспериментальных животных, подвергшихся РО *in situ*, изучены достаточно подробно. Известно, что при этом воздействие ионизирующей радиации реализуется в определенной последовательности, структурно-функциональные изменения в органах гемопоэза выражены тем значительнее, чем выше доза облучения (Б. Н. Могилицкий, 1956). Одними из первых проявлений этих нарушений являются дисциркуляторные изменения, которые регистрируются в виде расширения сосудистой сети в целом. При облучении экспериментальных животных в дозах 1,0 и 2,0 Гр, по нашим данным, эти изменения выражены достаточно интенсивно. Параллельно наблюдается и снижение числа лимфоцитов, но не стромальных элементов. По мнению ряда авторов, даже при значительно больших дозовых нагрузках, чем 1,0 и 2,0 Гр, последние клетки активно пролиферируют, что действительно подтверждается встречающимися на гистологических препаратах фигурами митотического деления этих клеток.

Можно предположить, что на гистологических срезах кроветворных органов животных в этих сериях опытов видны различные стадии высвобождения стромальных элементов из общего массива клеток кроветворного микроокружения и появление клеточных форм, которые можно рассматривать как промежуточные морфологические стадии гемопоэтической трансформации стромальных клеток.

Представляет интерес механизм появления в кроветворных органах экспериментальных животных, облученных в дозах 1,0 и 2,0 Гр, многоядерных образований и комплексов с ШИК-положительной окраской центральной части цитоплазмы. Известно, что многоядерные формы присутствуют в некоторых тканях организма как обязательный функциональный компонент (С. И. Щелкунов, 1971).

Однако появление их в лимфатических узлах в виде своеобразных гистологических структур, представленных многоядерными крупными клеточными образованиями (клетки Березовского-Штернберга), свидетельствует об изменениях, характерных для такого тяжелого заболевания, как лимфогранулематоз. Регистрация многоядерных клеток в лимфатических узлах экспериментальных животных, облученных в дозах 1,0 и 2,0 Гр, подтверждает состояние «раздражения» кроветворной ткани, что, возможно, будет определять формирование отдаленных последствий.

Исследование *in vivo* патоморфологических изменений в кроветворных органах экспериментальных животных, подвергшихся РО в дозах 0,3 и 0,5 Гр, СВЧ-воздействию и комбинированному воздействию СВЧ-О и РО 0,5 Гр, не позволило нам выявить каких-либо изменений в стромальных клетках. Иная ситуация имела место при использовании метода тканевых культур.

При всех использованных нами вариантах радиационного воздействия стромальные клетки продолжали пролиферировать и формировать обширную зону роста.

По большинству характеристик митотического режима все группы стромальных клеток нормальных животных, независимо от того, из какого органа кроветворения они выделены, имеют приблизительно одинаковые значения продолжительности отдельных фаз митоза. По нашим данным, средняя продолжительность митотического деления составляет примерно 50–60 минут. В культурах облученных животных, независимо от вида и дозы воздействия, наблюдается сокращение времени профазы.

Отметим противоречивость имеющихся в литературе данных о влиянии радиации на митотический цикл облученных клеток.

Эти исследования заслуживают особого внимания (Е. И. Гентер, 1973; D. Dewey, 1989, и др.).

Авторы ряда работ рассматривают эффект сокращения времени продолжительности митозов в различных клетках под влиянием малых доз радиации как фактор, вызывающий ускорение темпа жизни облученных клеток и, как следствие этого, их преждевременное старение.

Для стандартизации условий хронометрии продолжительности митоза и его отдельных фаз мы использовали клетки, которые на наших глазах приобретали округлую форму, обозначив это состояние как позднюю профазу. Все представленные в работе хронометрические измерения выполнены в данном режиме. Действительно, как видно из представленных в приводимых нами таблицах данных, для клеток этих культур характерно статистически достоверное сокращение продолжительности профазы. Данный феномен сопровождается высвобождением пролиферирующих стромальных клеток из общего клеточного массива культуры.

Как отмечалось ранее, в условиях нормального физиологического функционирования *in vivo* стромальные клетки ведут редуцированную до минимума жизнь, находясь в состоянии покоя.

Несмотря на существующие между клетками границы, создается впечатление, что они фиксированы в отношении друг друга. Даже при непосредственном наблюдении этих клеток в фазовом контрасте обнаружить их передвижение достаточно трудно. Однако при проекции отснятого киноматериала на экран мож-

но убедиться в их способности к передвижению. Возможно, именно такая тесная морфофункциональная взаимосвязь клеток стромы определяет их радиорезистентность, так как известно, что клетки, находящиеся в контакте друг с другом, менее чувствительны к радиационному воздействию, чем одиночные элементы.

Мы полагаем, что феномен ускорения высвобождения стромальных клеток из общего массива однотипных клеток может оказаться весьма информативным биологическим эффектом для оценки силы радиационного воздействия на систему кроветворного микроокружения. Если при воздействии на организм различных видов радиации в дозах, которые рассматриваются как малые, в кроветворных органах происходят зарегистрированные нами процессы, то необходимость изучения отдаленных последствий этих изменений становится очевидной.

При воздействии на организм экспериментальных животных РО в дозах 1,0 и 2,0 Гр создается впечатление об удлинении времени общей продолжительности митотического деления стромальных клеток. В данном случае не вызывает сомнений факт, что этот эффект возникает за счет появления среди делящихся стромальных клеток так называемых замороженных метафаз, продолжительность которых непредсказуема при прижизненном наблюдении. Вопрос этот остается практически неизученным, хотя не вызывает сомнений его научная и практическая значимость.

Особый интерес представляют данные о появлении в культурах клеток животных, облученных в дозах 1,0 и 2,0 Гр, многоядерных клеток.

Несмотря на то обстоятельство, что многоядерные образования встречаются при некоторых гистогенетических процессах и рассматриваются как функциональный компонент физиологически полноценной клеточной системы (мегакарио-остеогенез и др.), механизмы их возникновения до сих пор остаются практически неизученными. Предполагаются два способа образования многоядерных клеток: чередование митотического и амитотического деления ядер полиплоидных клеток без последующей цитотомии или слияние одноядерных форм.

В своих предыдущих работах мы отмечали возможность образования многоядерных клеток в культурах лимфатических узлов интактных животных (П. М. Мажуга, Э. В. Михайловская, 1976). Их появление связано с формированием в зонах роста культур очагов «разжижения» твердой фазы питательной среды. Следует отметить, что полости «разжижения» в зонах роста культур интактных животных появляются крайне редко (1 полость на 10–15 культур). В то же время некоторые зоны роста культур кроветворных органов животных, облученных в дозе 2,0 Гр, сплошь покрыты полостями «разжижения» плазмы. Поэтому появление многоядерных комплексов в этих культурах становится практически стандартным. Механизм формирования полостей «разжижения» плазмы остается неизвестным. Однако не вызывает сомнений, что постоянно наблюдаемые в зонах роста культур кроветворных органов животных, облученных в дозе 2,0 Гр, разрывы цитоплазматических связей между стромальными клетками могут провоцировать их появление.

Прижизненное наблюдение и регистрация поведения клеток на киноплёнке подтверждают, что образование многоядерных клеток происходит несколькими путями. При этом часто используются слияние одноядерных стромальных клеток в общую многоядерную территорию, а также количественное увели-

чение ядер за счет их митотического деления без последующего разделения цитоплазмы. Несмотря на то обстоятельство, что в своих ранних работах мы не отрицали возможности амитотического деления ядер стромальных клеток и лимфоцитов, дальнейшие многолетние исследования вынуждают нас более корректно подходить к анализу состояния живых клеток, которые мы регистрируем при прижизненном наблюдении. Как уже отмечалось ранее, нам не удалось зарегистрировать на киноплёнку процесс прямого деления ядер в таком виде, чтобы быть уверенными в его реальности. Очень часто мы наблюдали ядра клеток, связанные между собой тонкими ядерными перемычками, которые не всегда были заметны даже в фазовом контрасте. На фиксированных препаратах в таких случаях практически не возникало сомнений в том, что клетка содержит 3–4 или более ядер различного размера. Однако при длительном прижизненном наблюдении стало очевидным, что изменение формы ядер не завершается амитозом. Мы полагаем, что, до тех пор пока этот процесс не будет зарегистрирован на киноплёнку, необходимо соблюдать осторожность с его трактовкой.

При анализе многоядерных клеток на статических препаратах и методом микрокиносъёмки нас интересовал вопрос их происхождения и сравнительной оценки с клетками Березовского-Штернберга, которые являются основным патоморфологическим субстратом для диагностики лимфогранулематоза. Вопрос морфофункционального сходства многоядерных клеток, образующихся в зонах роста культур лимфатических узлов и тимуса экспериментальных животных, облученных в дозе 2,0 Гр, и клеток Березовского-Штернберга остается дискуссионным. «По данным литературы, последние имеют однообразный вид и распознаются, как правило, по крупной величине и сильно окрашивающемуся лапчатому ядру или группе ядер, иногда соединенных хроматиновыми перемычками» (А. И. Абрикосов, 1928). Цитоплазма лимфогранулематозных элементов часто не имеет четко очерченных границ, в большей или меньшей степени содержит вакуоли. Среди различного количества ядер клеток Березовского-Штернберга нередко можно видеть фигуры митотического деления. Все перечисленные признаки, характерные для многоядерных клеток при лимфогранулематозе, можно наблюдать на препаратах культур лимфатических узлов и тимуса животных, облученных в дозе 2,0 Гр.

По данным ряда авторов, не вызывает сомнений, что образование клеток Березовского-Штернберга происходит из недифференцированных ретикулярных клеток (М. А. Чепелева, 1962). В качестве доказательства ретикулярного происхождения многоядерных клеток при лимфогранулематозе рассматривается сохраняющаяся в них способность к фагоцитозу и накоплению различных веществ, особенно липидного характера. Наши наблюдения однозначно свидетельствуют об образовании многоядерных комплексов из макрофагов, трансформированных *in vitro* из стромальных клеток. Поэтому наличие в многоядерных комплексах остатков разрушенных клеток и продуктов их распада является вполне естественным и закономерным.

Специального обсуждения требует вопрос о регистрации в зонах роста культур кроветворных органов животных, подвергшихся РО в дозах 1,0 и 2,0 Гр, стромальных клеток, находящихся в состоянии экстрезии ядерного материала в цитоплазму.

Среди многочисленных проблем, которые возникают перед исследователями при изучении пролиферации и дифференцировки клеток любого генеза, проблема интимных взаимоотношений между ядром и цитоплазмой в живой клетке, несомненно, остается одной из наиболее актуальных. К последним относится изучение структуры и функции клеточных мембран, их участия в разнообразных физиологических и патологических процессах. Тем более что существование взаимосвязи между процессами, вызывающими нарушения клеточных мембран, и последствиями радиационного воздействия в малых дозах не вызывает сомнений.

Предполагается, что в механизме биологического воздействия ионизирующей радиации поражение мембран клеток играет главную роль. Некоторые исследователи рассматривают биологические мембраны как вторую по значимости (после генома) мишень лучевого поражения (П. И. Поливода, В. В. Конев, 1990, А. И. Дворецкий и соавт., 1990). Считается, что большое значение в реализации последствий радиационного воздействия имеют биологические вещества, возникающие в клетках как результат необходимости увеличения конечных продуктов метаболизма, принимающих участие в «тушении» свободнорадикальных процессов (Е. П. Гуськов, 1989).

Поэтому изучение секретируемых клетками веществ и механизмов, обеспечивающих их транспортировку в межклеточную среду, является очень важным этапом изучения биологических эффектов воздействия радиации на клетки организма.

В литературе имеется ряд сообщений о проницаемости ядерной оболочки и явлении выхода ядрышек в цитоплазму клеток. Однако в стромальных клетках кровеносных органов этот феномен впервые описан нами (Э. В. Михайловская, 1978).

Многочисленные эксперименты, проведенные *in vivo* и *in vitro* с использованием меченых аминокислот, свидетельствуют о легком прохождении через поры ядерной оболочки мелких белковых молекул. Так, рибонуклеаза (молекулярный вес 13 000) способна проникать в ядра многих клеток. При этом допускается, что проникновение ее связано с расщеплением определенного компонента ядерной оболочки, содержащего РНК, с последующим восстановлением целостности мембраны. Отмечена также возможность переноса макромолекул из ядра в цитоплазму. На основании имеющихся сведений высказано предположение о том, что вблизи ядерной мембраны в клетках создается область, в которой происходит концентрация ядерных и цитоплазматических материалов и их дальнейшая организация в специфические структуры. При этом допускается возможность миграции этих структур из ядра в цитоплазму.

Возможность выхода ядрышек и ядерного содержимого в цитоплазму впервые была зарегистрирована А. Ogata под световым микроскопом в клетках поджелудочной железы. В 1960 году эти данные были подтверждены с помощью метода электронной микроскопии (W. Clark, 1960). Механизм данного процесса неизвестен, хотя имеются сведения о том, что при выходе ядрышка из ядра в цитоплазму в ядерной мембране регистрируется разрыв, через который осуществляется экструзия (П. С. Ревуцкая, 1962; Е. А. Шубникова, 1967). Высказывается также мнение, что процесс этот обратим и что перемещение ядерных веществ в цитоплазму происходит по принципу «шлюзового механизма».

По мнению А. А. Клишова (1968), выход ядрышек и ядерного материала из ядер в цитоплазму представляет собой один из способов регуляции ядрышко-ядерных и ядерно-цитоплазматических отношений.

Наблюдение этого явления в клетках различных тканей и органов позволяет сделать вывод о его распространенности. Особого внимания заслуживают работы, выполненные с помощью метода электронной авторадииграфии (Д. С. Саркисов, А. А. Пальцин, 1975). Авторы обосновывают положение о том, что ядрышки печеночных клеток мышей, синтезируя и перенося РНК к ядерной оболочке, принимают участие в выделении порций РНК в цитоплазму.

Известно, что ядрышко относится к числу клеточных компонентов, которые наиболее активно реагируют на изменения функционального состояния клетки. Особенно сильно выражена реакция нуклеолярного аппарата клеток при патологических процессах и развитии лейкоза, морфологическим субстратом которого являются стромальные клетки органов кроветворения. Если учесть, что обнаруженное в отношении ретикулярных клеток явление аналогично изменениям в ядрах секретирующих клеток самых различных тканей организма, можно предположить, что указанное состояние отражает на морфологическом уровне секреторную функцию ретикулярных клеток. Эту гипотезу можно положить в основу расшифровки механизмов клеточных взаимодействий между клетками лимфоидного комплекса. Активно синтезируя нуклеиновые кислоты, белки и углеводы, ретикулярные клетки выделяют продукты метаболизма в окружающую среду. Не исключено, что таким образом стромальными клетками кроветворных органов создается микроокружение, которое индуцирует процессы пролиферации и дифференцировки гемопоэтических клеток.

В своих предыдущих работах мы изучили изменения структуры интерфазных ядер стромальных клеток лимфатических узлов интактных животных, в которых под воздействием ц-АМФ зарегистрировано значительное количество клеток, несущих на себе признаки выталкивания ядрышек с частью содержимого ядра в цитоплазму (Н. А. Федоров, Э. В. Михайловская, 1987). Аналогичное состояние стромальных клеток было зарегистрировано нами в зонах роста культур лимфатических узлов мышей с перевивным штаммом лимфомы NK/Ly. Нами было высказано предположение о том, что, возможно, при развитии лейкозного процесса в стромальных клетках кроветворных органов резко возрастает концентрация ц-АМФ, что находит свое морфологическое выражение в явлении «экструзии» ядерного материала. Активизация этого состояния стромальных клеток в культурах кроветворных органов животных, подвергшихся радиационному воздействию, предполагает возможную роль ц-АМФ в изменениях, вызываемых в клетках ионизирующей радиацией. По данным литературы, считается доказанным, что после облучения активизируется мембраносвязанная липидозависимая аденилатциклаза, которая через образование ц-АМФ и ц-АМФ зависимые ферменты активизирует геном и синтез информационной РНК. Допускается, что изменение активности мембраносвязанной тимидинкиназы происходит при облучениях порядка 10 мГр и ниже (L. Feinendegen et al., 1988).

Возможно, высвобождение части ядерного содержимого в цитоплазму стромальных клеток является морфологическим эквивалентом процесса, зарегистрированного авторами, установившими, что воздействие ионизирующей радиации способствует выделению клеточными элементами кроветворной стромы биологических факторов, стимулирующих рост стволовых клеток в длительных культурах костного мозга (А. А. Поверенный, 1990). Располагая результатами экспериментов как *in vivo*, так и на длительных культурах костного мозга, иссле-

дователи отмечают способность стромальных клеток к выработке ростково-дифференцировочных факторов.

Учитывая все вышеизложенное, особый интерес представляет изучение морфофункциональных свойств стромальных клеток с гигантскими ядрами, которые зарегистрированы нами в зонах роста культур кроветворных органов экспериментальных животных, облученных в дозе 2,0 Гр. Массивный выброс ядерного содержимого из таких гигантских высокополиплоидных ядер в цитоплазму стромальных клеток может оказывать существенное влияние на их метаболические возможности.

Поэтому зарегистрированное нами в культурах кроветворных органов экспериментальных животных, подвергшихся РО в дозах 1,0 и 2,0 Гр, морфологическое состояние стромальных клеток, находящихся в различных стадиях экстрезии ядерного материала, следует рассматривать как один из критериев оценки функционального состояния стромального микроокружения при радиационном воздействии.

Регистрация кроветворных клеток в цитоплазме мегакариоцитов костного мозга дала ряду авторов основание утверждать, что существует мегакариоцитарная форма эмпериполезиса (Т. Larsen, 1970; М. Djaldetti et al., 1982; R. Parmley et al., 1982; S. Berkessy, 1983; J. Thiele et al., 1984).

Мы также допускали, что мегакариоцитарный вариант окажется той адекватной моделью, которая необходима исследователям для всестороннего изучения эмпериполезиса. Убедившись, что наиболее корректным цитологическим приемом для доказательства биологической правомочности феномена *inside round about wandering*, т. е. «блуждания» одного вида клеток в цитоплазме клеток другого вида, является цейтраферная микрокиносьемка живых клеток, позволяющая документировать процессы взаимодействия клеток на киноплёнку, мы использовали этот метод в своих исследованиях.

Необходимость использования метода прижизненного наблюдения обусловлена тем, что, регистрируя статические картины эмпериполезиса на фиксированных и окрашенных отпечатках и тем более гистологических срезах костного мозга или других кроветворных органов (тимус, лимфатические узлы), мы убедились в невозможности получения достоверных доказательств того, что наблюдаемые морфологические комплексы «клетка в клетке» не являются результатом случайного наложения клеток или не отражают одну из стадий фагоцитоза. Вероятно, поэтому большинство работ зарубежных исследователей посвящено поиску критериев отличия взаимодействия клеток по типу эмпериполезиса от фагоцитоза.

Действительно, на окрашенных препаратах костного мозга видно, что многие мегакариоциты окружены различным количеством гемопоэтических клеток, часть из которых находится как бы внутри цитоплазмы мегакариоцитов. Чаще всего это сегментоядерные нейтрофильные лейкоциты, окруженные светлой зоной, не окрашенной красителем.

Такие морфологические картины наблюдали многие исследователи. Однако эти случаи, как правило, вызывали сомнение и оценивались как проявление возможной фагоцитарной потенции мегакариоцитов. И. А. Кассирский и Г. А. Алексеев (1948) в руководстве «Болезни крови и кроветворной системы» пишут: «Нам также приходилось видеть фагоцитоз кровяных клеток мегакариоцитами, но, по нашему мнению, способность мегакариоцитов к фагоцитозу является

побочной, редко встречающейся функцией, относящейся, скорее, к патологии, чем к физиологии мегакариоцитов». С целью проверки фагоцитарной способности мегакариоцитов рядом авторов проводились специальные исследования (К. Г. Титов, 1956). Ими регистрировались картины присутствия эритроцитов, миелоцитов, эозинофильных и нейтрофильных лейкоцитов в цитоплазме мегакариоцитов. Однако, не выявив в последних каких-либо признаков фагоцитарной активности, исследователи оценивали наблюдаемое состояние как «простое наложение клеток друг на друга».

В своих работах мы неоднократно поднимали вопрос о серьезных трудностях, возникающих у исследователей, трактующих те или иные потенциальные возможности клеток на основании анализа фиксированных и окрашенных цитологических, гистологических или даже электронно-микроскопических препаратов (Э. В. Михайловская, 1986, 1989, 1991, 1993). Мы полагаем, что основной причиной, мешающей прояснению многих вопросов, касающихся гистогенетического родства и функциональных потенций различных клеточных систем организма, является недостаточное использование метода фазово-контрастной микроскопии живых клеток, позволяющего проследить многие не изученные еще стороны клеточной физиологии. Любые выводы и заключения будут нести в себе элемент сомнения до тех пор, пока они не будут подкреплены доказательствами прижизненного наблюдения. Вышесказанное становится особо очевидным на примере утверждения в цитологии биологического явления эмпериполезис.

Еще в 1956 году американские исследователи J. Humble, W. Jayne, R. Pulvertaft ввели в цитологическую терминологию понятие «эмпериполезис», что в переводе с греческого языка означает «блуждание внутри круга». В нашу же литературу этот термин вошел в трактовке, которая представляет собой перевод с немецкого языка работы R. Jungman (1981), где допускается способность лимфоцитов окружать различные клетки независимо от их вида и «проходить через цитоплазму и ядро последних, деформируя в некоторых случаях ядрышки». Естественно, что такое беспрецедентное сообщение о подобной возможности поведения клеток вызвало скепсис у большинства цитологов по отношению к самому факту существования явления эмпериполезис.

На протяжении многих лет в своих работах мы пытались привлечь внимание цитологов к обсуждению данной проблемы. Однако до сих пор обстоятельных работ по изучению эмпериполезиса мы не обнаружили. Только один автор сделал попытку рассмотреть взаимодействие между мегакариоцитами и нейтрофильными гранулоцитами в костном мозге здоровых и облученных собак с позиции явления эмпериполезис (П. А. Власов, 1989). Результаты, представленные в этой работе, будут проанализированы нами ниже. В то же время некоторые специалисты, начиная использовать в своих работах термин «эмпериполезис», отождествляют его с возможностью прохождения кроветворных элементов через так называемые миграционные поры, возникающие в цитоплазме эндотелиальных клеток посткапиллярных венул с высоким эндотелием (Н. Г. Хрущов, В. И. Старостин и др., 1988). Предполагается, что таким же способом реализуется мегакариотитарный эмпериполезис (Е. Б. Владимирская, 1990).

Однако в результате проведенных исследований нами получен киноматериал, который однозначно свидетельствует, что наблюдаемый процесс взаимодействия мегакариотитов и лейкоцитов по своему характеру не соответствует представ-

лению об эмпериполезисе. На основании анализа полученных киноматериалов становится совершенно очевидной способность лейкоцитов оказывать на мегакариocyты лизирующее воздействие.

Наши наблюдения подтверждают вывод, сделанный П. А. Власовым при изучении взаимоотношений между мегакариocyтами и нейтрофильными гранулоцитами на гистологических препаратах костного мозга различной локализации у собак. Анализируя собственные и литературные данные, П. А. Власов совершенно справедливо отмечает, что «морфологическая картина исследуемого явления не укладывается в рамки понятия об эмпериполезисе». Однако, несмотря на хорошо обоснованные доказательства цитотоксической способности лейкоцитов костного мозга, автор склонен рассматривать зарегистрированный феномен как агрессивный (цитолитический) вариант эмпериполезиса.

На наш взгляд, такая позиция очень слабо аргументирована. Сегодня мы можем утверждать, что эмпериполезис не несет в себе признаков агрессивности. Что же касается характера взаимодействия мегакариocyтов и лейкоцитов в костном мозге, то нами зарегистрирован на киноплёнке рутинный процесс цитолитической активности лейкоцитов, который имеет прямое отношение к тромбоцитопозу.

Проведенный нами хронометрический анализ скорости разрушения цитоплазмы мегакариocyтов, подсчет количества лейкоцитов, принимающих участие в цитолитической агрессии, и сопоставление этих показателей с числом тромбоцитов в периферической крови экспериментальных животных, подвергшихся различным воздействиям, позволяют сделать вывод, что деструктивная деятельность сегментоядерных лейкоцитов по отношению к мегакариocyтам костного мозга регулирует тромбоцитарный баланс системы крови (Э. В. Михайловская, 1994).

Так, количество лейкоцитов, сконцентрированных вокруг мегакариocyтов в костном мозге животных, находящихся в состоянии хронической кровопотери, превышает этот показатель у интактных животных. При кровопотере отмечается тенденция к ускорению процесса разрушения лейкоцитами цитоплазмы тромбоцитогенных мегакариocyтов в костном мозге и росту количества тромбоцитов в периферической крови.

Достаточно убедительны результаты анализа аналогичных показателей у животных, подвергшихся раздельному и комбинированному воздействию ионизирующей и неионизирующей радиации. Не вызывает сомнений тенденция к увеличению количества лейкоцитов, окружающих мегакариocyты, и усилению их агрессивности в костном мозге экспериментальных животных, которые подвергались рентгеновскому облучению в дозах 0,3 и 0,5 Гр, СВЧ-облучению при плотности потока мощностью 0,25 мВт/см² и комбинированному воздействию последнего с рентгеновским облучением в дозе 0,5 Гр в указанной последовательности. Количество тромбоцитов в периферической крови животных в этих группах увеличено. У животных, подвергшихся комбинированному облучению, статистически достоверное увеличение количества тромбоцитов можно рассматривать как эффект суммации воздействия на организм различных видов радиации.

При облучении животных в дозах 1,0 и 2,0 Гр выявлены статистически достоверное снижение количества лейкоцитов, находящихся в пространственной близости с мегакариocyтами, угнетение их агрессивной потенции по отношению

к мегакариоцитам и уменьшение количества тромбоцитов в периферической крови. Однако в литературе имеются сведения об усилении количественных показателей цитотоксических свойств сегментоядерных нейтрофильных лейкоцитов в костном мозге собак с острой лучевой болезнью (П. А. Власов, 1989). Такое расхождение полученных результатов, вероятно, свидетельствует о широком диапазоне реакций клеток костного мозга в ответ на радиационные воздействия различной дозы и мощности и требует дальнейшего изучения.

Мы полагаем, что полученные нами данные внесут определенные коррективы в современное представление о механизмах регуляции тромбоцитопоэза. С тех пор как впервые в 1906 году J. Wright на клетках костного мозга котят показал, что тромбоциты образуются из мегакариоцитов, этот механизм практически не вызывает сомнений и представляется различными авторами достаточно однотипно. Считается, что каждый мегакариоцит формирует в своей цитоплазме большее или меньшее количество тромбоцитов и погибает при отшнуровке последних в синусы костного мозга.

Предполагается, что основным регулирующим механизмом, обеспечивающим необходимый для жизнедеятельности организма уровень тромбоцитов в крови, является отрицательная обратная связь между общим количеством тромбоцитов и процессом их образования в костном мозге (Е. Н. Мосягина, М. Г. Кахетелидзе, 1976). Приводятся доказательства, что пролиферация, созревание и выход в кровь тромбоцитов контролируются различными гуморальными факторами. Однако вопрос этот остается еще неясным и во многом дискуссионным.

До настоящего времени исследователи не могут обосновать механизм тромбоцитоза, который вызывается фактором, выявленным в экстрактах различных тканей и органов. В частности, большое внимание уделяется обсуждению данных о влиянии на тромбоцитопоэз экстрактов, приготовленных из ткани селезенки или лимфатических узлов, введение которых животным и людям с тромбоцитопенией вызывает увеличение количества тромбоцитов в периферической крови (S. Moolten, 1945).

Мы полагаем, что механизм действия гуморальных стимуляторов или ингибиторов тромбоцитопоэза может быть расшифрован на базе познания характера клеточных взаимодействий, регулирующих кроветворение в целом.

Анализ имеющегося в нашем распоряжении киноматериала и прижизненное наблюдение за поведением клеток в фазовом контрасте не вызывают сомнений в том, что внедрение лейкоцитов в мегакариоциты происходит постепенно, путем предварительного выбрасывания (по принципу действия пульверизатора) «киллерной» клеткой в цитоплазму мегакариоцитов какого-то вещества. По данным ряда исследователей, в селезенке выявлен фактор, стимулирующий миелопоэз. Таким образом, продукты распада ткани селезенки могут активизировать функциональную, в том числе цитолитическую активность лейкоцитов. Выделяя в их цитоплазму тромбоцитогенных мегакариоцитов фактор цитолиза, лейкоциты также принимают непосредственное участие в процессе высвобождения тромбоцитов из разрушающихся гигантских клеток. Более того, обладая высоким двигательным потенциалом, лейкоциты, вероятно, ускоряют процесс проникновения тромбоцитов в кровоток, перенося прикрепляющиеся к ним тромбоциты к костномозговым синусам.

При наблюдении за живыми клетками отчетливо видно, что, разрушая мегакариocyты, сегментоядерные лейкоциты обволакиваются слоем прилипающих к ним тромбоцитов и перемещаются в различные участки костного мозга. Возможно, именно это состояние регистрируется некоторыми исследователями как показатель повышенной фагоцитарной активности лейкоцитов (L. Tsun Chem et al., 1972; G. Ottolander, 1977).

Полученные нами данные дают основание обсудить не только фундаментальную, но и практическую значимость этих результатов. Во-первых, хорошо известен факт, что после кровопотери наблюдается резкое увеличение количества тромбоцитов в периферической крови. Считается, что это связано с более быстрой, чем в норме, отшнуровкой тромбоцитов от мегакариocyтов (Е. Н. Мосягина, М. Г. Кахетелидзе, 1976). Однако роль сегментоядерных нейтрофильных лейкоцитов при этом остается незамеченной. Во-вторых, значительное повышение количества тромбоцитов в периферической крови нередко наблюдается у больных хроническим миелолейкозом в начальном периоде заболевания. Известно, что тромбоцитоз сопутствует такому заболеванию, как остеомиелосклероз, и считается ранним диагностическим признаком, которым в 30% случаев дебютирует миелоидная метаплазия с миелосклерозом (Ш. Берчану, 1985). Изучение характера и степени выраженности цитолитической агрессивности сегментоядерных лейкоцитов по отношению к мегакариocyтам в костном мозге открывает перспективу расшифровки патогенетического механизма тромбоцитозов при указанных заболеваниях системы крови. Это может иметь также отношение к трактовке изменений, которые возникали в системе тромбоцитопоэза у детей, подвергшихся воздействию различных доз ионизирующего излучения в ранний «йодный» и «цезиевый» периоды после аварии на Чернобыльской АЭС (В. Г. Бебешко, Е. М. Бруслова и др., 1992). Зарегистрировано, что у детей с так называемой лучевой травмой в ранние сроки после облучения содержание тромбоцитов возрастало до 600–700 х 10/л. В мазках периферической крови некоторых детей выявлялись скопления (до 500–1000) пластинок.

Поэтому полученные нами в эксперименте данные могут быть в значительной мере экстраполированы на организм человека и открывают перспективу поиска и разработки новых патогномоничных методов лечения и профилактики тромбоцитозов, возникающих при различных заболеваниях.

При изучении морфофункциональных изменений в центральном и периферическом звеньях тромбоцитарного дифферона установлено, что в ранние сроки (1 и 7 суток) воздействие Р-облучения на экспериментальных животных в дозах 1,0 и 2,0 Гр приводит к статистически достоверному снижению количества мегакариocyтов в костном мозге и тромбоцитов в периферической крови.

Раздельное СВЧ-О при плотности потока мощности 0,25 мВт/см² и РО в дозе 0,5 Гр вызывает увеличение количества мегакариocyтов и тромбоцитов, которое имеет характер тенденции.

Комбинированное облучение животных СВЧ-О и РО в дозе 0,5 Гр в указанной последовательности не оказывает влияния на количество мегакариocyтов в костном мозге, однако отличается статистически достоверным увеличением числа тромбоцитов в периферической крови экспериментальных животных.

Таким образом, выявленная зависимость между цитолитической агрессивностью лейкоцитов костного мозга по отношению к мегакариоцитам и количеством тромбоцитов в периферической крови позволяет считать, что лейкоциты секретируют в зону тесного контакта с мегакариоцитами вещество, нарушающее мембранную проницаемость последних, что приводит к высвобождению из цитоплазмы мегакариоцитов тромбоцитов. Механизм этой регуляции подлежит дальнейшему изучению. Поиск критериев, отражающих зависимость между показателями периферической крови и структурно-функциональным состоянием клеток кроветворных органов в эксперименте, следует признать методологически наиболее корректным путем для экстраполяции полученных данных на организм человека.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Многочисленные данные, полученные в результате анализа последствий загрязнения внешней среды радионуклидами, в том числе и после аварии на ЧАЭС, не оставляют сомнений в реальности возникновения неблагоприятных биологических эффектов воздействия на организм человека и его кроветворную систему ионизирующей радиации в любых дозах, любой интенсивности, даже если они не вызывают острых лучевых реакций (С. П. Ярмоненко, 1972; М. М. Виленич, 1985, 1987; В. Н. Стрельцова, Ю. И. Москалев, 1985, 1987).

Сочетанное воздействие ионизирующей радиации с многочисленными факторами внешней среды, в том числе неионизирующей радиацией, практически не позволяет выделить «чистую» радиационную компоненту (Я. И. Серкиз, В. Г. Пинчук, 1992). Поэтому до настоящего времени многие морфофункциональные параметры реакции клеток системы крови человека на воздействие указанных агентов остаются невыясненными. При этом наименее изученным является вопрос об изменениях, возникающих в клетках кроветворного микроокружения, играющего индуцирующую роль в регуляции гемопоэза.

Микроокружение – это тот плацдарм, на котором мигрирующие кроветворные предшественники пролиферируют и созревают, подвергаясь последовательному воздействию различных дифференцировочных факторов. Именно здесь определяются судьба стволовых кроветворных клеток (СКК) и полноценность их дальнейшего развития. В многочисленных исследованиях показано, что стромальные элементы этой регулирующей гемопоэза системы, несомненно, являются радиорезистентной популяцией клеток, сохраняющих свои специфические функции при воздействии достаточно высоких дозах ионизирующей радиации. Вместе с тем в литературе появились единичные сообщения о том, что даже при воздействии небольших уровней радиации в стромальных клетках регистрируются такие изменения, как снижение клоногенных потенций, пригодность для колонизации кроветворными клетками и нарушение гемопоэтической регуляции при гетеротропной трансплантации (Т. FitzGerald, P. Anklesaria et al., 1988; О. И. Кузьменок, И. М. Беляков, А. А. Ярилин, 1993; И. М. Беляков, О. И. Кузьменок, А. А. Ярилин, 1993).

Это обстоятельство ставит под сомнение вопрос об исключительной радиорезистентности этих элементов и требует, естественно, более глубокого их изучения, особенно в прижизненном состоянии.

Проведенные исследования позволили получить, на наш взгляд, новые результаты, которые подтверждаются следующими данными.

При анализе гемоцитограмм экспериментальных животных установлено, что при дозах облучения, которые были использованы в опытах, наименее чувствительными элементами крови оказались эритроциты, что совпадает с данными литературы (О. И. Белоусова, 1979; Я. И. Серкиз, В. Г. Пинчук, Л. Б. Пинчук и соавт., 1992). В то же время зрелые клетки эритроидного ряда чувствительны к СВЧ-облучению, особенно на протяжении первых 7-ми суток после радиационного воздействия. Установлено, что при этом происходит достоверное снижение количества эритроцитов, содержания гемоглобина и уменьшение ускорения скорости оседания эритроцитов. Аналогичная картина выявлена и при комбинированном воздействии рентгеновского и СВЧ-облучения.

Через одни сутки после однократного облучения экспериментальных животных ионизирующей и неионизирующей радиацией в используемых нами дозах в реакции клеток крови отчетливо просматриваются общие закономерности, которые проявляются в однотипных гематологических эффектах (лейкопения, лимфоцитопения и нейтрофилоцитоз), отражающие пострadiaционную гибель лимфоцитов с последующим, начиная с 7-х суток, восстановлением, вплоть до нормативных значений, показателей крови к 30-м суткам после рентгеновского облучения в дозах 0,3–1,0 Гр и СВЧ-воздействия. В то же время при рентгеновском облучении в дозе 2,0 Гр и комбинированном воздействии ионизирующей и неионизирующей радиации лимфоцитопения сохраняется дольше и количество лимфоцитов через один месяц после воздействия не достигает нормативных значений.

Анализ лимфоцитограмм позволил выявить определенные изменения в соотношении различных по размерам лимфоцитов, что может иметь существенное значение для ответа на вопрос о радиочувствительности различных форм этих клеток. Обращают на себя внимание данные об увеличении в периферической крови количества лимфоретикулярных клеток при комбинированном воздействии СВЧ- и рентгеновского облучения. В случае влияния на организм только ионизирующего фактора отмечается увеличение числа этих клеток и при дозах 0,3 и 0,5 Гр.

Представляют интерес результаты, полученные при подсчете количества тромбоцитов в периферической крови. Влияние на организм ионизирующей радиации в дозе 0,5 Гр или только СВЧ-облучения приводит к увеличению количества тромбоцитов, в то время как при воздействии рентгеновского облучения в дозе 1,0 и особенно 2,0 Гр отчетливо выражена тромбоцитопения. Комбинированное воздействие ионизирующей и неионизирующей радиации в рамках проведенного эксперимента вызывает наиболее значительное увеличение количества тромбоцитов в периферической крови экспериментальных животных.

Стромальные клетки кроветворных органов животных, облученных в дозах 0,3 и 0,5 Гр, под влиянием СВЧ-О и при комбинированном воздействии *in vitro* морфологически не отличаются от клеток интактных животных.

Зоны роста этих культур характеризуются общей архитектуроникой клеточного строения, морфологическим сходством стромальных клеток, их высоким пролиферативным и метаболическим потенциалом. Стромальные клетки взаимодействуют с элементами гемопоэтической системы по типу периполезиса (наружные контакты клеток крови с поверхностью стромальных элементов) и эмпериполезиса («блуждание» одного вида клеток в цитоплазме клеток другого вида). Высвобождаясь из общей массы однотипных клеток, стромальные клетки трансформируются в макрофаги, активно фагоцитирующие клеточный детрит.

При облучении в дозах 1,0 и 2,0 Гр выявлены морфологические признаки перестройки структурной композиции зоны роста.

Значительное количество стромальных клеток в таких культурах освобождено от цитоплазматических связей с соседними клетками. Появление клеток с признаками патологии митоза, многоядерность, гигантизм, экструзия ядерного материала, клазматозные «взрывы» являются показателями риска аномальной дифференцировки клеток и отражают степень их радиационного повреждения. Наличие в зонах роста различных клеточных форм, которые можно рассматри-

вать как морфологически промежуточные между гемопоэтическими и стромальными клетками, косвенно доказывает возможную трансформацию последних в кроветворные элементы.

Методом прижизненной хронометрии установлено, что общая продолжительность митоза в стромальных клетках всех кроветворных органов экспериментальных животных, независимо от вида и дозы облучения, сокращена за счет уменьшения продолжительности профазы.

При РО животных в дозах 0,3 и 0,5 Гр, СВЧ-О и комбинированном воздействии эффект стимуляции митотического деления распространяется на метафазу, в то время как РО в дозах 1,0 и 2,0 Гр вызывает тенденцию или статистически достоверное удлинение ее продолжительности, нередко приводя к «блоку» митотического деления на стадии метафазы («замороженные» митозы).

Показатели продолжительности ана- и телофаз в митотически делящихся стромальных клетках остаются стабильными при всех использованных в эксперименте условиях облучения и не отличаются от показателей стромальных клеток кроветворных органов интактных животных.

Таким образом, радиационный фактор способен индуцировать процессы деления стромальных клеток кроветворных органов, что является доказательством чувствительности последних к воздействию радиации. Однако такие дозы РО, как 1,0 и 2,0 Гр, одновременно со стимуляцией митотического деления в профазе ингибируют их деление в метафазе. В конечном результате это может приводить к полному блокированию процесса размножения стромальных клеток.

Влияние радиации на деление стромальных клеток тесно взаимосвязано с процессами межклеточного взаимодействия. Установлено, что радиация приводит к нарушению контактов между клетками, что, несомненно, создает благоприятные условия для реализации программы деления клеток. При этом в случае облучения животных в дозах 1,0 и 2,0 Гр потеря межклеточных контактов характеризуется двумя моментами. С одной стороны, имеет место ускорение процесса вхождения клеток в митоз (сокращение времени профазы), а с другой – деление некоторых клеток «блокируется» на стадии метафазы. Полученные данные расширяют имеющиеся знания о воздействии радиации на процессы клеточного деления и связанные с ними механизмы радиационной гибели клеток.

При проведении исследований на культурах кроветворных органов экспериментальных животных выявлены различные типы взаимодействия между клеточными элементами. Особого внимания заслуживают такие формы взаимодействия, как эмпериполезис между стромальными клетками и лимфоцитами и периполезис между мегакариоцитами и нейтрофильными лейкоцитами.

При морфологическом изучении и анализе в динамике взаимодействия стромальных клеток и лимфоцитов по типу эмпериполезиса нами выделено несколько стадий этого явления:

- приближение лимфоцита и прикрепление его к наружной поверхности стромальной клетки;
- «обтекание» лимфоцита цитоплазматическими псевдоподиями стромальной клетки и образование вакуолеобразного пространства, в котором оказывается кроветворная клетка;
- бласттрансформация или митотическое деление лимфоцитов, находящихся в цитоплазме стромальных клеток;

– выход лимфоцитов в окружающую среду через цитоплазматический рукав, образующийся в стромальной клетке.

В процессе этих взаимодействий, которые продолжаются в течение нескольких часов, как стромальные клетки, так и лимфоциты сохраняют свою жизнеспособность, не проявляя никаких признаков деструкции.

Высвобождение стромальных клеток, находящихся в состоянии эмпериполезисного взаимодействия с лимфоцитами, из стромального массива в зонах роста культур кроветворных органов экспериментальных животных, облученных в дозах 1,0 и 2,0 Гр, приводит к появлению клеток, имеющих «перстневидную» форму за счет круглой вакуоли, которая, занимая значительную площадь цитоплазмы, оттесняет ядро на периферию клетки. В вакуолях расположены от одного до нескольких лимфоцитов. Однако выхода последних из таких стромальных клеток зарегистрировать не удалось, что позволило оценить этот процесс как незавершенный эмпериполезис. Именно ингибция выхода лимфоцитов из стромальных клеток приводит к накоплению в зонах роста комплексов эмпериполезиса.

При РО в дозах 0,3 и 0,5 Гр, СВЧ-О и комбинированном воздействии в зонах роста кроветворных органов облученных животных комплексов незавершенно-го эмпериполезиса не выявлено, в то время как их наличие в зонах роста культур кроветворных органов животных, подвергшихся радиационному облучению в дозе 1,0 Гр, составляет 5–6 комплексов на 1000 клеток, а при РО в дозе 2,0 Гр увеличено в 2, а иногда 3 раза.

Учитывая важное значение эмпериполезиса в формировании Т-клеточного компартмента лимфоцитов, блокирование его ионизирующей радиацией в дозах свыше 1,0 Гр может представлять один из вариантов развития пострадиационного иммунодефицитного состояния организма. Что же касается экспериментов, в которых животные облучались СВЧ-радиацией и ее комбинацией с рентгеновским воздействием в дозе 0,5 Гр, то полученные данные однозначно свидетельствуют о том, что при этом процесс эмпериполезиса не нарушается и практически не отличается от нормы.

Из научной литературы известно, что в костном мозге также имеет место эмпериполезисное взаимодействие между мегакариоцитами и лейкоцитами (А. Pasquale, Р. Paterlini et al., 1985; М. Tavassoli, 1986; К. Lee, 1989). Исходя из этого, одной из задач исследования было изучение этого процесса при воздействии радиационных факторов.

Однако тщательное изучение с помощью метода цейтраферной микрокиносъемки показало ошибочность представления о так называемом мегакариоцитарном эмпериполезисе. Ни в одном из случаев не было зарегистрировано вхождение клеток белой крови в мегакариоциты по типу эмпериполезиса.

В то же время нами был зафиксирован процесс, который следует рассматривать как своеобразный периполезис между мегакариоцитами и нейтрофильными лейкоцитами костного мозга. При этом наблюдаются приближение лейкоцитов к мегакариоцитам и дальнейшее их проникновение в цитоплазму последних. Этот процесс сопровождается фрагментацией цитоплазмы мегакариоцитов и высвобождением из нее тромбоцитов. Можно допустить, что такое разрушение мегакариоцитов обусловлено действием протеолитических ферментов, которые присутствуют в нейтрофильных лейкоцитах. Характерно, что при таком виде взаимодействия клеток киллерная функция лейкоцитов

не сопровождается их гибелью. Наоборот, покрытые слоем прикрепившихся к ним тромбоцитов, лейкоциты тянут за собой «шлейф» последних, покидая разрушенный мегакариоцит.

Способность костномозговых лейкоцитов разрушать мегакариоциты была выявлена и другими исследователями (G. Ottolander, 1977; C. Rozman, J. Vives-Corrons, 1981, M. Shamoto, 1981). Однако интерпретация этого явления в значительной мере была направлена на определенные его места в патологии.

Поскольку мы регистрировали этот процесс в норме, допускаем, что такой тип взаимодействия между клетками имеет отношение к процессам физиологической регуляции механизмов обеспечения периферии тромбоцитами. В какой-то мере это подтверждается опытами, проведенными на облученных животных.

Показано, что рентгеновское облучение в дозе 0,5 Гр несколько активизирует процессы разрушения мегакариоцитов нейтрофильными лейкоцитами, а СВЧ-облучение статистически достоверно значительно повышает количество лейкоцитов, разрушающих мегакариоциты костного мозга.

При комбинированном воздействии этих факторов процессы разрушения мегакариоцитов лейкоцитами стимулируются в еще большей мере. Характерно, что у животных, которые получили комбинированное облучение, регистрировалось увеличение тромбоцитов в периферической крови. При сопоставлении этих данных становится понятной природа тромбоцитоза у лиц, подвергшихся воздействию радиации в результате аварии на Чернобыльской АЭС (В. Г. Бебешко и соавт., 1992).

При изучении воздействия более высоких доз радиации (1,0 и 1,5 Гр) получены принципиально иные результаты. Установлено, что эти дозы существенно подавляют цитотоксические потенции нейтрофильных лейкоцитов костного мозга. Можно предположить, что это является одной из причин возникновения ранней тромбоцитопении при облучении животных и людей в соответствующих дозах.

Таким образом, упомянутое явление должно учитываться при оценке механизмов модулирующего эффекта различных доз радиации на количественный состав тромбоцитов в периферической крови. С другой стороны, нельзя исключить, что увеличение количества тромбоцитов в крови при небольших дозах облучения может происходить благодаря факторам, стимулирующим активность нейтрофильных лейкоцитов костного мозга.

Проведенная работа в целом обуславливает необходимость обсуждения некоторых принципиально важных вопросов радиобиологии клетки. Традиционно считается, что стромальные элементы кроветворных органов принадлежат к относительно радиорезистентной популяции клеток. Этот вывод преимущественно делался на базе изучения радиационной гибели этих клеток. Установлено, что ДО для них составляет 12,0 Гр (С. Sato, M. Sakka, 1969; А. А. Ярилин, 1993).

Однако использование только критерия радиационной гибели клеток не может соответствовать физиологическому понятию радиочувствительности. Нами доказано, что даже незначительные дозы радиации могут вызывать различные реакции клеток – от стимуляции их функций до угнетения и гибели (с увеличением дозы облучения). Как показано в наших исследованиях, дозы рентгеновского облучения 0,3 и 0,5 Гр приводят к стимуляции функциональных потенций стромальных элементов кроветворных органов, что проявляется прежде всего в активации процессов пролиферации этих клеток и межклеточных взаимодей-

ствий по типу эмпериполезиса и периполезиса, что в целом не может не сказываться на интенсивности кроветворения в органах гемопоэза. Косвенно это находит свое подтверждение в стимуляции ионизирующим облучением в малых дозах пролиферации стволовых кроветворных клеток костного мозга млекопитающих (И. И. Пелевина и соавт., 1991, 1992, 1993).

Следует отметить, что рентгеновское облучение в дозах 1,0 и 2,0 Гр также вызывает определенные изменения в стромальных элементах как в морфологическом, так и в функциональном аспектах. Подтверждением этому являются снижение силы межклеточных контактов, усиление экстррузии ядерного материала, формирование многоядерных и гигантских форм и блокирование митоза на стадии метафазы. Эти признаки могут рассматриваться как реакция клеток стромы на радиационное воздействие. Очевидно, что такие изменения в клетках гемопоэтического микроокружения являются неблагоприятными для процесса кроветворения.

Таким образом, можно сделать вывод о достаточно выраженной радиочувствительности стромальных элементов кроветворных органов, что следует учитывать при изучении различных аспектов гемопоэза в целом.

Определенное значение имеют и исследования по изучению явления эмпериполезиса. На наш взгляд, особого внимания заслуживает тот факт, что при таких дозах рентгеновского облучения, как 1,0 и 2,0 Гр, возникает состояние незавершенности эмпериполезиса. Это может сказываться на изменениях в иммунной системе организма, которые манифестируют возникновение иммунодефицита. Можно допустить, что при более высоких дозах радиации это может иметь крайне негативные последствия. С другой стороны, такая радиационная блокада эмпериполезиса также подтверждает высокую чувствительность стромальных элементов к воздействию радиационного фактора.

Ярким примером этого являются данные о влиянии радиации на взаимодействие мегакариоцитов и нейтрофильных лейкоцитов в костном мозге. Достоверно установлено, что цитолитическая агрессивность нейтрофильных лейкоцитов по отношению к мегакариоцитам регулирует пул периферических тромбоцитов. При этом малые дозы радиации стимулируют эту киллерную функцию лейкоцитов, в то время как дозы 1,0 и 2,0 Гр подавляют процесс высвобождения тромбоцитов из мегакариоцитов.

Полученные в эксперименте результаты в определенной степени могут служить основой для интерпретации изменений тромбоцитограмм в клинической практике радиационного поражения людей.

Привлекает к себе внимание вопрос о специфичности воздействия ионизирующей радиации на стромальные элементы кроветворных органов. В этом отношении эксперименты с неионизирующей радиацией (СВЧ-О), ответ стромы на облучение носят неспецифический характер и отражают генетическую программу реакции клеток на воздействие любых вредных факторов. Однако окончательный вывод в этом отношении может быть сделан только при проведении дальнейших специальных экспериментов.

ВЫВОДЫ

1. При однократном воздействии на экспериментальных животных (крысы линии «Фишер») ионизирующей радиацией в диапазоне доз 0,3–2,0 Гр в гемоцитограмме наблюдаются характерные эффекты, которые отражают пострадиационную гибель лимфоцитов с последующим, начиная с седьмых суток, процессом восстановления показателей крови до нормативных значений. СВЧ-облучение мощностью 0,25 мВт/см² вызывает в лимфоцитах изменения, аналогичные воздействию рентгеновского облучения в дозах 0,3–0,5 Гр.
2. Стромальные клетки кроветворных органов экспериментальных животных, подвергшихся рентгеновскому облучению в дозах до 0,5 Гр, по морфологическим критериям и потенциям роста в культуре *in vitro* не отличаются от клеток интактных животных. При более высоких дозах радиации (1,0–2,0 Гр) в культуре появляются клетки с признаками патологического митоза, многоядерности, гигантизма, экстружии ядерного материала, клазматозных «взрывов» и явными нарушениями межклеточных контактов, что может иметь большое значение в патогенезе пострадиационных нарушений в системе гемопоза.
3. Неионизирующее облучение (СВЧ – 0,25 мВт/см²) отдельно или в комбинации с рентгеновским воздействием в дозе 0,5 Гр не влияет на характер роста стромальных элементов кроветворных органов в условиях их культивирования *in vitro*.
4. Ионизирующее и неионизирующее облучение стимулирует снижение силы межклеточных контактов и пролиферацию стромальных клеток. Сокращение продолжительности профазы митоза происходит при любых дозах облучения. В то же время для рентгеновского облучения в дозе 2,0 Гр характерным является «блок» митоза в некоторых стромальных клетках на стадии метафазы. Количество таких стромальных клеток возрастает с увеличением дозы облучения.
5. Стромальные клетки кроветворных органов интактных животных в культурах *in vitro* взаимодействуют с лимфоцитами по типу эмпериполезиса. В норме это явление регистрируется как единичные события. Ионизирующая радиация в дозах до 0,5 Гр и неионизирующая радиация (отдельно или в комбинации с рентгеновским облучением в указанной дозе) не влияют на интенсивность эмпериполезиса. При рентгеновском облучении животных в дозах 1,0–2,0 Гр экспрессия данного феномена усиливается, но сопровождается появлением клеток, имеющих признаки незавершенности эмпериполезиса, т. е. утратой лимфоцитами способности покидать стромальную клетку.
6. Воздействие рентгеновского облучения в дозах до 0,5 Гр или неионизирующей радиации (мощность 0,25 мВт/см²) не вызывает изменений количества мегакариоцитов в костном мозге и содержания тромбоцитов в периферической крови экспериментальных животных. При более высоких дозах ионизирующего облучения (1,0 и 2,0 Гр) наблюдается снижение как числа мегакариоцитов в костном мозге, так и количества тромбоцитов в периферической крови животных.

7. Для культур гемопоэтических органов экспериментальных животных, облученных в небольших дозах (рентгеновское облучение 0,5 Гр, СВЧ-облучение 0,25 мВт/см²), характерна активация подвижности и жизнеспособности клеток лейкоцитарного ряда.
Наблюдается активация взаимодействия костномозговых сегментоядерных нейтрофильных лейкоцитов с мегакариоцитами, что выражается в стимуляции цитолитической агрессивности лейкоцитов по отношению к мегакариоцитам и, как следствие этого, ускорении процесса высвобождения тромбоцитов из последних. Этот процесс наиболее характерен для комбинированного варианта облучения животных и угнетается при рентгеновском облучении в дозах 1,0 и 2,0 Гр.
8. Стромальные элементы кроветворных органов не могут рассматриваться как высокорезистентная популяция. Об этом свидетельствуют стимулирующее воздействие радиации на их пролиферацию, снижение силы межклеточных контактов и определенные изменения в характере взаимодействия стромальных элементов с клетками гемопоэтического ряда. Эти изменения наиболее выражены при рентгеновском облучении животных в дозах 1,0 и 2,0 Гр.
9. Пострадиационные изменения морфофункциональных свойств клеток стромы гемопоэтических тканей в органной культуре (возрастание пролиферативной активности и утрата стромальными клетками межклеточных связей, «незавершенность» эмбриопозизиса, цитолитическая агрессивность лейкоцитов костного мозга по отношению к мегакариоцитам) могут рассматриваться как дополнительные критерии в биоиндикации радиационного воздействия на организм.

УКАЗАТЕЛЬ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрикосов А. И. Ретикулезы // БМЭ. – 1928. – Т. 14. – С. 18.
2. Аджимамудова Т. С. Возрастные и эмбриональные аспекты кроветворения в норме и патологии. – М., 1981. – С. 58–85.
3. Алов И. А. Цитофизиология и патология митоза. – М.: Наука, 1972. – 264 с.
4. Алов И. А. Определение митотического режима ткани при гистологической диагностике предраковых процессов и рака: Методические рекомендации. – М., 1973. – 22 с.
5. Алов И. А. Морфологические и прикладные аспекты патологии митоза // Архив патологии. – 1975. – № 12. – С. 3–14.
6. Арутюнян Р. А., Бабилян И. Г. Сравнительная характеристика пострадиационных нарушений процессов кроветворения // Журн. эксперим. и клинич. мед. – 1989. – Вып. 29, № 1. – С. 35–40.
7. Афанасьев Б. В., Алмазов В. А. Родоначальные кроветворные клетки человека. – Л.: Наука, 1985. – 204 с.
8. Байсоголов Г. Д., Павлов В. В. Состояние кроветворения при локальном фракционированном облучении организма // Мед. радиология. – 1971. – № 11. – С. 40–44.
9. Барабой В. А. Лучевое поражение как стресс, биохимические механизмы радиационного стресса // Радиобиол. съезд: тез. докл. – Пушкино, 1993. – Т. 1. – С. 72–73.
10. Барабой В. А. Радиобиология и уроки Чернобыля // Радиобиология. – 1990. – Т. 30, вып. 4. – С. 435–440.
11. Бебешко В. Г., Брусова Е. М., Клименко В. И. Морфофункциональные изменения элементов гемопоэза у лиц, подвергшихся воздействию различных доз ионизирующего излучения в ранний «йодный» и «цезиевый» периоды после аварии на Чернобыльской АЭС // Проблемы радиац. медицины: респ. межвед. сб. – Киев, 1992. – С. 50–54.
12. Белоусова О. И., Горизонтова П. Д. Радиация и система крови. – М.: Атомиздат, 1979. – 126 с.
13. Белоусова О. И., Тришина М. И. Количественные изменения костного мозга собак после однократного общего облучения // Радиобиология. – 1974. – Т. 14, № 64. – С. 531–535.
14. Беляков И. М., Кузьменок О. И., Ярилин А. А. Влияние гамма-облучения на пролиферативную активность камбиального эпителия в культуре стромальных клеток тимуса // Радиобиология. – 1993. – Т. 33, вып. 2. – С. 214–219.
15. Берчану Ш. Клиническая гематология. – Бухарест: Медиздат, 1985. – 1222 с.
16. Бернет Ф. Клеточная иммунология. – М.: Мир, 1971. – 542 с.
17. Бирюзова В. И., Боровягин В. Л., Гилев В. П. Электронно-микроскопические методы исследования биологических объектов. – М.: Изд-во АН СССР, 1963. – 167 с.
18. Булавко А. В., Тушевский В. Ф. Количественная оценка электронно-гистохимических реакций системой анализа изображения IBAS-2000 // Новые приложения морфометрии и математического моделирования в медико-биологических исследованиях: тез. докл. – Харьков, 1990. – С. 165.
19. Буланова К. Я., Кирпичева Т. М., Татаринчик М. А. Реологические свойства крови и функция мембранных систем эритроцитов и лимфоидных клеток в пострадиационный период // Радиобиол. съезд: тез. докл. – Пушкино, 1993. – Т. 1. – С. 152.

20. Бурлакова Е. Б., Конрадов А. А. Влияние радиационного загрязнения территорий на медико-биологические показатели проживающего на них населения // Радиобиол. съезд: тез. докл. – Пушино, 1989. – Т. 1. – С. 156.
21. Бутенко З. А., Барановский М. А., Науменко О. И. Лейкозные клетки. – К.: Наукова думка, 1984. – 216 с.
22. Бутенко З. А., Смирнова И. Л., Кишинская Е. Г. Структурный полиморфизм генов рибосомной РНК и bcr в клетках крови ликвидаторов аварии на ЧАЭС // Радиобиол. съезд: тез. докл. – Пушино, 1989. – Т. 1. – С. 157–158.
23. Васильев Н. В. Очерки о роли кроветворной ткани в антителообразовании. – Томск: Изд-во Томского ун-та, 1975. – 302 с.
24. Виленчик М. М. Модификация канцерогенных и противоопухолевых эффектов излучений. – М.: Медицина, 1985. – 288 с.
25. Виленчик М. М. Нестабильность ДНК и отдаленные последствия воздействия излучений. – М.: Энергоатомиздат, 1987. – 192 с.
26. Владимирская Е. Б. Костномозговое кроветворение. Оценка миелограммы // Гематология и переливание крови. – 1990. – № 8. – С. 29–31.
27. Владимирская Е. Б., Торубарова Н. А. Острые лейкозы и гипоплазия кроветворения у детей. – М.: Медицина, 1985. – 202 с.
28. Власов П. А. Эмпериоплезис и взаимоотношения между мегакариоцитами и нейтрофильными гранулоцитами в костном мозге здоровых собак // Архив АГЭ. – 1989. – Т. ХСVI, № 2. – С. 60–63.
29. Власов П. А. О механизме опустошения мегакариоцитарного ростка в костном мозге собак с острой лучевой болезнью // I Всесоюз. радиобиол. съезд: тез. докл. – Пушино, 1989. – Т. 2. – С. 68.
30. Гаврилов О. К., Козинец Г. И., Черняк Н. Б. Клетки костного мозга и периферической крови. – М.: Медицина, 1985. – 167 с.
31. Гентер Е. И. Задержка УФ-облучением продвижения клеток по циклу в синхронной культуре лимфоцитов человека // Структура, функция и реактивность клеток. – Л.: Наука, 1973. – Вып. 15. – С. 93–95.
32. Грачева Н. Д. Авторадиография синтеза нуклеиновых кислот и белка в нервной системе. – Л.: Наука, 1968. – 244 с.
33. Глузман Д. Ф., Муте А., Нагорная В. А. Иммуноцитохимия абберантных лимфоцитов, обнаруживающихся в крови у детей спустя 5–6 лет после аварии на Чернобыльской АЭС // Радиобиол. съезд: тез. докл. – Пушино, 1989. – Т. 1. – С. 253.
34. Гуськов Е. П., Шкурят П. П. // Успехи соврем. биол. – 1989. – Т. 108. – С. 163–172.
35. Дворецкий А. И., Айрапетян С. Н., Шайнская А. М., Чеботарев Е. Е. Трансмембранный перенос ионов при действии ионизирующей радиации на организм. – Киев: Наукова думка, 1990. – 136 с.
36. Дризе Н. И., Гуревич О. А., Чертков И. Л. // Радиобиология, 1986. – Т. 26, № 3. – С. 345–350.
37. Епифанова О. И., Терских В. В. Метод радиоавтографии в изучении клеточных циклов. – М.: Наука, 1969. – 100 с.
38. Епифанова О. И., Терских В. В., Захаров А. Ф. Радиоавтография. – М.: Высшая школа, 1977. – 246 с.
39. Жербин Е. А., Чухловин А. Б. Радиационная гематология. – М.: Медицина, 1989. – 176 с.

40. Зак К. П., Афанасьева В. В., Хоменко Б. М. Морфофункциональная характеристика клеток костного мозга крыс, находящихся в зоне влияния ЧАЭС // Биологические и радиоэкологические аспекты последствий аварии на ЧАЭС: тез. докл. I Междунар. конф., Зеленый Мыс, 10–18 сент. 1990 г. – М., 1990. – С. 196.
41. Зак К. П., Киндзельский Л. П., Бутенко А. К. Большие гранулосодержащие лимфоциты в патологии. – Киев: Наукова думка, 1992. – 163 с.
42. Зак К. П., Михайловская Э. В., Шляховенко В. С. Содержание лимфоцитов различного иммунологического фенотипа и естественных клеток-киллеров в крови ликвидаторов спустя пять лет после аварии на ЧАЭС // Радиобиол. съезд: тез. докл. – Пущино, 1989. – Т. 1. – С. 368–369.
43. Заликян Г. А. К вопросу экстраполяции на человека полученных в эксперименте данных // Биологическая характеристика лабораторных животных и экстраполяция на человека экспериментальных данных: Матер. Всесоюз. конф. – Москва, 1980. – С. 253–254.
44. Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария Е. А. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. – Киев: Высшая школа, 1983. – 383 с.
45. Иванов В. В. Изменение размеров лимфоцитов при хроническом воздействии на организм факторов радиационной и химической природы // Гигиена и санитария. – 1990. – № 6. – С. 42–45.
46. Иванов В. В. Изменение численности и качественного состояния лимфоцитов при совместном хроническом поражении крыс стронцием-90 и линданом // Гигиена и санитария. – 1988. – № 2. – С. 37–40.
47. Инграм М. Гематологические основы для оценки степени лучевого поражения. Малые дозы. Хроническое облучение и отдаленные эффекты // Руководство по радиационной гематологии. – М.: Медицина, 1974. – С. 211–229.
48. Кассирский И. А., Алексеев Г. А. Руководство «Болезни крови и кроветворной системы». – М.: Медгиз, 1948. – 561 с.
49. Киселева А. Ф., Житников Л. Я., Кейсевич Л. В. Морфофункциональные методы исследования в норме и при патологии. – К.: Здоровье, 1983. – 168 с.
50. Клишов А. А. Морфологические аспекты ядрышка // Архив АГЭ. – 1968. – Т. 54, № 5. – С. 117–123.
51. Козинец Г. И. Клеточные основы кроветворения // Сов. медицина. – 1975. – № 9. – С. 59–64.
52. Козлов А. А. К проблеме «малых доз» в радиобиологии // Радиобиология. – 1988. – Т. 28, вып. 3. – С. 424–426.
53. Коноплянников А. Г. Радиобиология стволовых клеток. – М.: Энергоатомиздат, 1984. – 220 с.
54. Корогодин В. И. Проблемы пострадиационного восстановления. – М.: Атомиздат, 1966. – 390 с.
55. Кузьменко И. М., Панасюк А. Ф., Фриденштейн А. Я. и соавт. // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1972. – № 10. – С. 94–97.
56. Кузьменок О. И., Беляков И. М., Ярилин А. А. Динамика изменений уровня а-тимозина при облучении тимуса мышей *in vivo* и *in vitro*: связь с продукцией аутоантител к антигенам эпителиального ретикулума тимуса // Радиобиология. – 1993. – Т. 33, вып. 1 (4). – С. 549–556.

57. Куролесова А. И. О восстановлении остеогенных свойств костного мозга после облучения по данным гетеротропной трансплантации // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1975. – № 5. – С. 111–113.
58. Лебедев В. Г., Ромашко О. О., Мороз Б. Б. Стимулирующее влияние предварительного облучения кроветворной стромы в малой дозе на содержание стволовых кроветворных клеток в костном мозге *in vivo* и в системе длительного культивирования // Радиобиология, – 1989. – Т. 29, №6. – С. 782–786.
59. Лурия Е. А. Кроветворная и лимфоидная ткань в культурах. – М.: Медицина, 1972. – 212 с.
60. Малюк В. И. Физиологическая регенерация сосудистой системы. – К.: Наукова думка, 1970. – 244 с.
61. Мажуга П. М. Кровеносные капилляры и ретикулоэндотелиальная система костного мозга. – К.: Наукова думка, – 192 с.
62. Мажуга П. М., Бондаренко Э. В. Влияние условий культивирования на потенции клеток лимфатического узла // Известия АН СССР. – 1970. – № 5. – С. 686–697.
63. Мажуга П. М., Михайловская Э. В. Образование многоядерных клеток в культурах лимфатических узлов // Цитология и генетика. – 1976. – № 5. – С. 394–396.
64. Марков В. И., Лукашова О. П., Абрамова Л. П. Ультраструктурные и биохимические особенности анемии у лиц, участвовавших в ликвидации последствий аварии на ЧАЭС // Радиобиол. съезд: тез. докл. – Пущино, 1993. – Т. 3. – С. 645.
65. Михайловская Э. В. Клеточные взаимодействия в культуре лимфатического узла // Цитология и генетика. – 1975. – № 3. – С. 201–204.
66. Михайловская Э. В. Трансформация внутриклеточных лимфоцитов в культурах лимфатических узлов // Врач, дело. – 1977. – № 4. – С. 84–88.
67. Михайловская Э. В. О выходе ядрышек и кариоплазмы в цитоплазму ретикулярных клеток в культурах лимфатических узлов // Бюл. эксперим. биол. и медицины. – 1978. – № 5. – С. 585–587.
68. Михайловская Э. В. Критерии оценки явления эмпериполезис в цитологических исследованиях // Докл. АН Украинской ССР. – 1986. – № 10. – С. 79–81.
69. Михайловская Э. В. К вопросу о целесообразности изучения нового биологического явления эмпериполезис // Гематология и трансфузиология. – 1989. – № 3. – С. 60–63.
70. Михайловская Э. В., Евтух В. Н. Оценка двигательной активности бластных клеток периферической крови // Гематология и переливание крови: Респ. межвед. сб. – Киев, 1989. – Вып. 23. – С. 12–16.
71. Михайловская Э. В. Теоретическое и практическое значение изучения явления эмпериполезис в гематологии // Гематология и переливание крови. Респ. межвед. сб. – К., 1991. – Вып. 26. – С. 13–15.
72. Михайловская Э. В. Влияние раздельного и комбинированного действия ионизирующей и неионизирующей радиации на тромбоцитопоез // Укр. радіолог. журнал. – 1994. – № 3. – С. 192–194.
73. Мкоян Ф. А. О радиочувствительности эритроцитов периферической крови // Журн. эксперим. и клинич. мед. – 1989. – Вып. № 1. – С. 24–29.
74. Могильницкий Б. Н. Влияние рентгеновских лучей на повышенную проницаемость сосудов, полученную экспериментально на животных. Очерки по сосудистой проницаемости. – М.: Медгиз, 1956. – С. 40–44.

75. *Моничев А. Я.* Динамика кроветворения. – М.: Медицина, 1984. – 176 с.
76. *Мосягина Е. Н., Кахетелидзе М. Г.* Нормальное кроветворение и его регуляция. – М.: 1976. – С. 489–510.
77. *Муксинова К. Н., Мушкачева Г. С.* Клеточные и молекулярные основы перестройки кроветворения при длительном радиационном воздействии. – М.: Энергоатомиздат, 1990. – 158 с.
78. *Никоненко А. Г. и др.* Исследование действия малых доз ионизирующей и неионизирующей радиации на ДНК-синтезирующую активность клеток костного мозга крыс // Радиобиол. съезд: тез. докл., Пущино, 1993. – С. 720.
79. *Панасюк А. Ф., Лурия Е. А., Фриденштейн А. Я.* Культуры фибробластоподобных клеток костного мозга человека // Probl. гематол. и перелив. крови. – 1972. – № 8. – С. 34–37.
80. *Папоян С. А.* Сочетанное действие малых доз радиации и сельскохозяйственных ядохимикатов на кровь и кроветворение // Журн. эксперим. и клинич. мед. – 1989. – Вып. 29, № 1. – С. 14–18.
81. *Пелевина И. И., Рябов И. Н., Рябцев И. А.* Итоги экспериментальных радиобиологических исследований в 10-километровой зоне аварии на ЧАЭС // Радиобиология. – 1991. – Т. 33, вып. 4. – С. 467–469.
82. *Пелевина И. И., Афанасьев Г. Г., Готлиб В. Я.* Экспозиция клеток в культуре ткани и животных (мышей) в 10-км зоне аварии на ЧАЭС. Влияние на чувствительность к последующему облучению адаптивный ответ // Радиобиология. – 1993. – Т. 33, вып. 1 (4). – С. 508–520.
83. *Пинчук Л. Б., Серкиз Я. И., Коваль Т. Н.* Патогенетическое обоснование развития костномозгового синдрома в условиях постоянного воздействия на животных малых доз ионизирующих излучений низких интенсивностей // II Всесоюз. радиобиол. съезд: тез. докл., Пущино, 21–27 авг. 1989. – М., 1989. – Т. 4. – С. 845.
84. *Поверенный А. М.* Чем определяется высокая радиочувствительность системы кроветворения // Активация кроветворения и радиорезистентности организма: тез. докл. Всесоюз. конф. – Обнинск, 1990. – С. 61–62.
85. *Пол Д.* Культура тканей и клеток. – М.: Наука, 1968. – 258 с.
86. *Поливода Б. И., Конев В. В.* Биофизические аспекты радиационного поражения мембран. – М.: Энергоатомиздат, 1990. – 256 с.
87. *Поликар А.* Физиология и патология лимфоидной системы. – М.: Медицина, 1965. – 340 с.
88. *Ревуцкая П. С.* Некоторые закономерности процессов формообразования в онтогенезе // 6 Всесоюз. съезд АГЭ. – Киев, 1958. – Т. – С. 348–349.
89. *Робинсон М. В., Топорков Л. Б., Труфакин В. А.* Морфология и метаболизм лимфоцитов. – Новосибирск: Наука, 1986. – 106 с.
90. *Руднев М. И., Варецкий В. В.* Комбинированное действие радиации и других факторов на организм. – Киев, 1992. – 95 с.
91. *Савинов А. Г.* К вопросу о механизме действия малых доз радиации // Радиобиология. – 1986. – Т. 26, вып. 4. – С. 482–487.
92. *Сапин М. Р., Юрина Н. А., Этинген Л. Е.* Лимфатический узел. – М.: Медицина, 1978. – 272 с.
93. *Саркисов Д. С., Пальцин А. А.* Электронно-автордиографическое изучение перехода РНК из ядра в цитоплазму // Бюл. эксперим. биол. и медицины. – 1975. – № 1. – С. 74–78.

94. *Семина О. В., Семенец Г. Н., Поверенный А. М.* Интерлейкин-2 стимулирует колониеобразующую активность облученного *in vitro* костного мозга // Радиобиология. – 1987. – Т. 27, № 3. – С. 381–384.
95. *Серкиз Я. И.* Особенности биологических эффектов радиации низких интенсивностей // II Всесоюз. радиобиол. съезд: тез. докл. – М., 1989. – Т. 4. – С. 853–854.
96. *Серкиз Я. И., Пинчук В. Г., Пинчук Л. Б.* Радиобиологические аспекты аварии на Чернобыльской АЭС. – Киев: Наукова думка, 1992. – 172 с.
97. *Солдатов С. К., Семенова Л. А., Королева Л. В.* Малые дозы радиации и гематологические сдвиги // Радиобиол. съезд: тез. докл. – Пущино, 1989. – Т. 3. – С. 940.
98. *Спитковский Д. М.* Концепция действия малых доз ионизирующих излучений на клетки и ее возможные приложения к трактовке медико-биологических последствий // Радиобиология. – 1992. – Т. 2, вып. 3. – С. 382–400.
99. *Спитковский Д. М.* Теоретические проблемы медицинской генетики. – М.: Медицина, 1979. – 169 с.
100. *Стрельцова В. Н., Москалев Ю. И.* Отдаленные последствия радиационного поражения. Бластомогенное действие. – М.: Итоги науки и техники ВНИИТИ, 1985. – Т. 5. – 181 с.
101. *Стрельцова В. Н., Москалев Ю. И.* Отдаленные последствия радиационного поражения // Радиацион. биология. – 1987. – № 6. – 211 с.
102. *Тимофеевский А. Д.* Эксплантация опухолей человека. – М.: Медгиз, 1947. – 159 с.
103. *Тимченко В. Г., Френкель Л. А., Гайсенюк Л. А.* Особенности состояния системы гемопоэза при воздействии малых доз ионизирующей радиации на организм человека // Радиобиол. съезд: тез. докл. – Пущино, 1989. – Т. 3. – С. 992.
104. *Титов К. Г.* К функции мегакариоцитов // Проблемы гематол. и перелив. крови. – 1956. – № 2. – С. 30–32.
105. *Труфакин В. А.* Морфологические, гистохимические и люминесцентно-микроскопические исследования вилочковой железы и лимфатических узлов человека в эмбриогенезе: Дисс. канд. наук. – Благовещенск, 1967. – 190 с.
106. *Тяжелова В. Г.* Кинетические принципы в межвидовой экстраполяции. – М.: Наука, 1988. – 192 с.
107. *Уманский М. А., Пинчук Л. Б., Пинчук В. Г.* Синдром эндогенной интоксикации. – Киев: Наукова думка, 1979. – 202 с.
108. *Федоров Н. А., Михайловская Э. В.* Изменение структуры интерфазных ядер стромальных клеток лимфоузлов под действием цАМФ // Биол. науки. – 1987. – № 1. – С. 16–20.
109. *Фриденштейн А. Я., Лурия Е. А.* Клеточные основы кроветворного микроокружения. – М.: Медицина, 1980. – 216 с.
110. *Фриденштейн А. Я., Чертков И. Л.* Клеточные основы иммунитета. – М.: Медицина, 1969. – 240 с.
111. *Хлопин Н. Г.* Общебиологические и экспериментальные основы гистологии. – М.: 1946. – С. 291–303.
112. *Хрущов Н. Г., Старостин В. И., Домарацкая Е. И.* Стволовые клетки крови. – М.: ВИНТИ, 1988. – 201 с.
113. *Чепелева М. А.* Патология лимфатических узлов. – Киев: Госмедиздат, 1962. – 320 с.

114. Чертков И. Л., Воробьев А. И. Современная схема кроветворения // Пробл. гематол. и перелив. крови. – 1973. – № 10. – С. 3–13.
115. Чертков И. Л., Гуревич О. А. Радиочувствительность клеток, переносящих кроветворное микроокружение // Пробл. гематологии. – № 2. – С. 32–39.
116. Чертков И. Л., Гуревич О. А. Стволовая кроветворная клетка и ее микроокружение. – М.: Медицина, 1984. – 238 с.
117. Чертков И. Л., Гуревич О. А., Удалов Г. А. Самоподдержание мигрирующих стволовых кроветворных клеток // Бюл. эксперим. биол. – 1979. – № 4. – С. 337–340.
118. Чертков И. Л., Фриденштейн А. Я. Клеточные основы кроветворения. – М.: Медицина, 1977. – 270 с.
119. Шубникова Е. А. О роли ядра в процессе секреции // Успехи совр. биол. – 1967. – Т. 38, № 1 (4). – С. 58–67.
120. Щелкунов С. И. Цитологический и гистологический анализ развития нормальных и малигнизированных структур. – Л: Медицина, 1971. – 340 с.
121. Юрина Н. А., Румянцева Л. С. Морфофункциональная характеристика лимфопоэтических органов белых крыс в процессе постнатального развития в условиях стресса // Морфология и морфогенез тканей и органов мезенхимного происхождения. Общие закономерности морфогенеза: Материалы 2-й межвузовской конференции. – Иркутск, 1975. – С. 206–208.
122. Ярилин А. А. Действие ионизирующей радиации на строуму тимуса эмбрионов и новорожденных мышей // Радиобиология. – 1993. – Т. 33, вып. 1 (4). – С. 542–548.
123. Ярмоненко С. П. Первичные и начальные процессы биологического действия радиации. – М.: Наука, 1972. – С. 245–246.
124. Benestad H., Laerum O. The neutrophilic granulocyte // Current Topics in Pathology / Ed. O. H. Iversen. – Berlin, Heidelberg: Springer Verlag. – 1989. – Vol. 79. – P. 7–36.
125. Bentley S. Bone marrow connective tissue and the haemopoietic microenvironment // Brit. J. Haematol. – 1982. – Vol. 50, N 1. – P. 1–6.
126. Bentley S. Close range cell: cell interaction required for stem cell maintenance in continuous bone marrow culture // Exp. Hematol. – 1981. – Vol. 9, N 3. – P. 308–312.
127. Berkessy S. Emperipoiesis: migration of bone marrow cells within megakaryocytes // OTV. Hetil. – 1983. – Vol. 124, N 31. – P. 1861–1864.
128. Bierkens J., Testa N. Residual injury to the bone marrow stroma following whole-body irradiation // Int. J. Radiat. Biol. – 1990. – Vol. 57, N 3. – P. 548–561.
129. Bosch A. Epitelio-reticular cell thymoma with lymphocytic emperipoiesis // Cancer. – 1975. – Vol. 36, N 5. – P. 1794–1803.
130. Burgess A., Nicola N. Growth factors and hemopoietic cell differentiation // Advance cell culture. – N.Y., 1984. – P. 231–258.
131. Burns E. R. Tumor cell – tumor cell emperipoiesis // Exp. Cell Res. – 1967. – N 48. – P. 229–231.
132. Byron J. Effect of steroids on the cycling of haemopoietic stem cells // Nature. – 1970. – Vol. 228. – P. 1204–1208.
133. Byron J. Evidence for B-adrenergic receptor initiating DNA synthesis in haemopoietic stem cells // Exp. Cell Res. – 1972. – Vol. 71. – P. 228–232.
134. Campbell F. Fine structure of the bone marrow of the chicken and pigeon // J. Morphol. 1967. – Vol. 132, N 3. – P. 405–440.

135. Chan S., Metcalf D. Local and systemic control of granulocytic and macrophage progenitor cell regenerating after irradiation // *Cell Tissue Kinet.* – 1973. – Vol. 6. – P. 185–197.
136. Chem Li-Tsun, Handler E. An electron microscopic study of the bone marrow of the rat in an experimental myelogenous leukemia // *Blood.* – 1972. – Vol. 39, N 1. – P. 99–112.
137. Chemnitz J. Tumor cell – tumor cell emperipolesis studied by transmission electron microscopy // *Exp. Cell Res.* – 1973. – N 82. – P. 319–324.
138. Chertkov J., Drize N., Gurevitch O. Haemopoietic stromal precursors in long-term culture of bone-marrow // *Exp. Hematol.* – 1983. – Vol. 11, N 3. – P. 231–242.
139. Clark W. Electron microscope studies of nuclear extrusions in pancreatic acinar cells of the rat // *J. Biophys. and Biochem Cytol.* – 1960. – Vol. 5, N 2. – P. 345–360.
140. Cline M., Golde D. Controlling the production of blood cells // *Blood.* – 1979. – Vol. 53. – P. 157–165.
141. Curry J., Trentin J. Hemopoietic spleen colony studies // *Develop. Biol.* – 1967, N 4. – P. 395–413.
142. DeGowin R., Lewis J., Mason R., Borke M., Hoak J. Radiation-induced inhibition of human endothelial cells replicating in culture // *Radiat. Res.* – 1976. – Vol. 68, N 2. – P. 244–250. (цит. по А. Я. Фриденштейну, 1980).
143. Deguchi H., Kitaura J., Hayashi T. Cell-mediated immune cardiocyte injury in vital myocarditic of mice and patients // *J. Circ.* Vol. 53, N 1. – P. 61–77.
144. Dewey D. L. Evidence that low doses of radiation cause a delay in the mammalian cell cycle at the restriction point // *Intern. J. Radiat. Biol.*, 1989. – Vol. 55, N 5. – P. 883–884.
145. Djaldetti M., Strauss Z. Emperipolesis by megakaryocytes in patients with non-Hodgkin's lymphoma and megaloblastic anemia // *J. Submicrosc. Cytol.*, 1982. – Vol. 14, N 2. – P. 407–413.
146. Drayer D., Blair A. A study on intracellular lymphocytes (emperipolesis) in tissue culture of lymph nodes from patients with malignant lymphoma // *Texas Reports of Biol. & Med.* – 1964. – Vol. 22, N 1. – P. 61–69.
147. Donhnijsen K., Schmidt W., Hirche H. Changes in mitotic rate and cell cycle fraction causes by delayed fixation // *Hum. Pathol.* – Vol. 21, N 7. – P. 709–714.
148. Durkin H., Thorbecke G. Homing of B-lymphocytes to follicles: specific retention of immunologically committed cells // *J. Exp. Med. Biol.* – 1973. – N 29. – P. 63–70.
149. Feinendegen L. E., Bond V., Booz J. Biochemical and cellular mechanisms of low-dose effects // *Int. J. Radiat. Biol.*, 1988. – Vol. 53, N 1. – P. 23–37.
150. Fitchen J., Fevre C., Ferrone S. Expression of Ia-like and HLA-A, B antigens on human multipotential hematopoietic progenitor cells // *Blood.* – 1982. – Vol. 59. – P. 188–190.
151. FitzGerald T., Anklesaria P., Le D. et al. Radiosensitivity of cloned permanent murine bone marrow stromal cell lines: nonuniform effect of low dose rate // *Exp. Hematol.*, 1988. – Vol. 16, N 10. – P. 820–826.
152. Fliedner T., Calvo W., Klinnert V. Bone marrow structure and its possible significance for hematopoietic cell renewal // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 1985. – Vol. 45. – P. 73–84.
153. Fliender T., Nothdurft W., Calvo W. The development of radiation late effects to the bone marrow after single and chronic exposure // *Intern. J. Radiat. Biol.* – 1986. – Vol. 49, N 1. – P. 35–46.

154. *Fried W., Barone J.* Residual marrow damage following therapy with cyclophosphamide // *Exptl. Hematol.*, 1980. – Vol. 8, N 5. – P. 610–614.
155. *Fritsh P., Masse R.* Leukocyte migration toward the alveoli // *C.R. Science Acad.*, 1979. – Vol. 288, N 2. – P. 1607–1610.
156. *Fujinami N. et al.* Interaction of mononuclear leukocytes with malignant melanoma // *Lab. Invest.*, 1981. – Vol. 45, N1. – P. 28–37.
157. *Gallini R., Hendry J.* The effect of low dose rate on recovery of haemopoietic and stromal progenitor cells in gamma-irradiation mouse bone marrow // *Radiat. Res.* – 1988. – Vol. 115, N 5. – P. 481–487.
158. *Gould J. M., Goldman B. A.* Deadly deceit: Low-level radiation, high-level cover-up. – N.Y.: 1990. – 188 p.
158. *Gould J. M., Sternglass E. J.* Presented at the symposium on health effects of low level radiation on humans // *Proc. Inst. Radiat. Biol.* – 1988. – Feb. 26–27. – P. 218–225.
159. *Gould J. M., Sternglass E. J.* Low-level radiation and mortality // *J. Chemotechnol.* – 1989. – N 3. – P. 18–21.
160. *Haemerli G., Filix H., Strauli P.* Motility of L 5222 rat leukemia cells in the flattened state. Evidence against emperipolesis // *Virch. Arch.* – 1977. – Vol. 24, N 2. – P. 165–178.
161. *Hendry J., Xu C., Testa N.* A cellular analysis of residual haemopoietic deficiencies in mice after four repeated doses of 4,5 Gr // *Intern. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 1983. – Vol. 9. – P. 1641–1648.
162. *Humble J., Jayne W., Pulvertaft R.* Biological interaction between lymphocytes and other cells // *Br. J. Haematol.* – 1956. – N 2. – P. 283–294.
163. *Ino T., Hirano M.* Emperipolesis observed in immature cells in blast crisis of chronic myelogenous leukaemia // *Scand. J. Hematol.*, 1981. – Vol. 26, N 2. – P. 91–96.
164. *Joachim H.* Emperipolesis of lymphoid cells in mixed cultures // *Lab. Invest.* – 1965. – Vol. 14, N 10. – P. 1784–1794.
165. *Jungman R.* Справочник. – Киев, 1981. – С. 461.
166. *Keaken E.* Morphology of the amorphous intracellular substance of hematopoietic tissues // *Arch. Pathol.*, 1955. – Vol. 60, N 5. – P. 610–613.
167. *Klug H.* Genesis and differentiation of interdigitating cells in human lymph nodes // *Z. Mikrosk. Anat. Forsch.* – 1981. – Vol. 95, N 3. – P. 466–476.
168. *Knospe W., Gregory S., Fried W.* Stimulation of hematopoiesis by femoral marrow curettage in sublethally irradiated mice // *Blood.* – 1973. – Vol. 41. – P. 519–527.
169. *Larsen T.* Emperipolesis of granular leukocytes within megakaryocytes in human hemopoietic bone marrow // *Am. J. Clin. Pathol.* – 1970. – Vol. 53, N 4. – P. 485–489.
170. *Lavrovsky V., Razvorotnev V.* Sensitivity of tumor and normal cells to the effect of immune lymphocytes in vitro and some properties of target cells determining this sensitivity // *Folia. Biol. Praha.* – 1976. – Vol. 22, N 2. – P. 108–115.
171. *Layfield L.* Fine needle aspiration cytologic findings in a case of sinus histiocytosis with massive lymphadenopathy // *Acta Cytol.* – Vol. 3, N 6. – P. 767–770.
172. *Lennert K.* Lymphknoten // *Hdb. Spez. Path. Anat.* – 1961. – N 5. – P. 1–3.
173. *Lee K.* Emperipolesis of hematopoietic cells within megakaryocytes in bone marrow of the rat // *J. Vet. – Pathol.* – 1989. – Vol. 26, N 6. – P. 473–478.
174. *Levine G., Rosai J.* The fine structure of thymoma, with emphasis on its differential diagnosis // *Am. J. Pathol.* – 1975. – Vol., N 1. – P. 49–86.

175. Lord B. The assay of cell proliferation inhibitors // J. Houck. – 1976. – N 5. – P. 97–139.
176. Lord B., Wright E. Sources of haemopoietic stem cell proliferation stimulators and inhibitors // Blood Cells. – 1980. – Vol.6, N 4. – P. 581–593.
177. Marchesi V., Gowans J. The migration of lymphocytes through the endothelium of venules in lymph nodes: an electron microscopy study // Pros. Roy. Soc. Biol. – 1964. – Vol. 159. – P. 283–291.
178. Mastaglia F., Papadimitriou J., Dawkins R. Mechanism of cell-mediated myotoxicity. Morphological observations in muscle grafts and in muscle exposed to sensitized spleen cells in vivo // J. Neurol. Sci. – 1975. – Vol. 25, N 3. – P. 269–282.
179. Maximov A. Bindegewebe und blutbildende Gewebe // Möllendorff's Handbuch der mikr. Anat. des Menschen. – Berlin, 1927. – Vol.2, N 1. – P. 232–252.
180. Metcalf D. Clonal analysis of the response of HL-60 human myeloid leukemia cells to biological regulators // Leukemia Res. – 1983. – Vol.7. – P. 117–132.
181. Michailovskaya E. Prospects of emperipolesis-type cells interaction analysis in radiation biology research // Influence of the Low Doses of Radiation on the Living Matter: A review by the Ukrainian Scientists at the Symposium. – Piza, 1993. – P. 39–41.
182. Mitchel J. Lymphocyte circulation in the spleen. Marginal zone bridging channels and their possible in cell traffic // Immunology, 1973. – N 24. – P. 93–107.
183. Moe R. Fine structure of the reticulum and sinuses of lymph nodes // Amer. J. Anat. – 1963. – Vol. 112, N 3. – P. 311–335.
184. Moolten S. Studies on extractable factors in the spleen and other organic sources which influence the blood platelet count // J. Int. Sinai Hosp. – 1945. – Vol. 12. – P. 866–870.
185. Mori Y., Lennert K. Electron microscopic atlas of lymph node // Amer. J. Pathol. – 1969. – Vol. 65, N 1. – P. 1–24.
186. Muto M. A scanning and transmission electron microscopic study on rat bone marrow sinuses and tras mural migration of blood cells // Arch. Histol. (Jap.). – 1976. – Vol. 39, N 1. – P. 51–66.
187. Ottolander G. J. Phagocytosis in chronic myelocytic leukemia // West. J. Med. – 1977. – Vol. 127. – P. 424–425.
188. Parmley R., Kim T., Austin R. Emperipolesis of neutrophils by dysmorphic megakaryocytes // Am. J. Hematol. – 1982. – Vol. 13, N 4. – P. 303–311.
189. Pasquale A., Paterlini P., Quaglino D. Emperipolesis of granulocytes within megakaryocytes // Brit. J. Haematol. – 1985. – Vol. 60, N 2. – P. 384–386.
190. Pitkanen M., Hopewell J. Effects of local single and fractionated X-ray doses on rat bone marrow blood flow and red blood cell volume // Strahlentherapie. – 1985. – Vol. 161, N 11. – P. 719.
191. Poppema S. Sternberg-Reed cells with intracytoplasmic lymphocytes. Phagocytosis or emperipolesis? // Virch. Arch. – 1978. – Vol. 380, N 2. – P. 355–359.
192. Pulvertaft R. Intracellular phase of existence of lymphocytes during remission of acute lymphatic leukemia // Nature. – 1962. – N 194. – P. 194–195.
193. Quesenberry P. Origin of the blood and architecture of the bone marrow // Fundamentals of Clinical Hematology / Ed. O. A. Thorup. – Philadelphia, 1987. – P. 46–49.
194. Rossi H. The effects of small doses of ionizing radiation. Fundamental biophysical characteristics // Radiat. Res. – 1977. – Vol. 71, N 1. – P. 1–8.

195. *Rozman C., Vives-Corrons J.* On the alleged diagnostic significance of megakaryocytic phagocytoses (emperipolesis) // *Brit. J. Haematol.* – 1981. – Vol. 48, N 3. – P. 510–512.
196. *Sato C., Sakka M.* // *Radiat. Res.* – 1969. – Vol. 38. – P.204–213.
197. *Sainte-Marie G., Joke M.* Architectonic of lymph nodes of the rat // *Международ. конгресс анатомов: тез. докл.* – М.: Медицина, 1970. – С. 155.
198. *Schofield R.* The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell: A. Hypothesis // *Blood cells.* – 1978. – Vol. 4. – P. 7–25.
199. *Seidel H. J.* Hemopoietic stem cells and target cells in murine-virus-induced leukemias // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* – 1982. – Vol. 104, N 1–2. – P. 1–12.
200. *Shamoto M.* Emperipolesis of hematopoietic cells in myelocytic leukemia // *Virch. Arch.* – 1981. – Vol. 35, N 3. – P. 283–290.
201. *Sharp J., Burwell R.* Interaction (peripolesis) of macrophages and lymphocytes after skin homografting or challenge with soluble antigens // *Nature.* – 1960. – Vol. 188, N 4749. – P. 474–475.
202. *Shelton E.* Prolonged survival of rabbit thoracic duct lymphocytes in a diffusion chamber // *J. Cell Biol.* – 1962. – N 12. – P. 652–654.
203. *Shelton E., Dalton A.* Electron microscopy of emperipolesis // *J. Biophys. a. Biochem. Cytol.* – 1959. – Vol. 6, N 3. – P. 513–514.
204. *Sherwin R., Margolick J.* Emperipolesis or phagocytosis by Reed-Sternberg cells? // *J. Med.* – 1979. – Vol. 301, N 24. – P. 1348–1349.
205. *Song S., Schwartz I., Strauchen J.* Meningeal nodules with features of extranodal sinus histiocytosis with massive lymphadenopathy // *Am. J. Surg. Pathol.* – 1989. – Vol. 13, N 5. – P. 406–412.
206. *Soderstrom M.* Lymphacyternas emperipoles // *Lakartidningen.* – 1966. – Vol. 30, N 63 (48). – P. 4589–4599.
207. *Stather J., Dionian J., Brown J.* The risk of leukemia in Seascale from radiation exposure // *Health Phys.*, 1988. – Vol. 55, N 2. – P. 471–481.
208. *Tavassoli M., Weiss L.* The structure of developing bone marrow sinuses in extramedullary autotransplant of the marrow in rats // *Anat. Rec.* – 1971. – Vol. 171, N 4. – P. 477–494.
209. *Tavassoli M.* Cytochemistry of marrow and extramedullary adipocytes in monolayer cultures // *Scand. J. Haematol.* – 1978. – Vol. 20. – P. 330–334.
210. *Tavassoli M.* Lodgement of haemopoietic cells in the course of haemopoiesis on cellulose ester membrane: an experimental model for haemopoietic cell trapping // *Brit. J. Haematol.* – 1984. – Vol. 57, N 1. – P. 71–80.
211. *Tavassoli M.* Modulation of megakaryocyte emperipolesis by phlebotomy: megakaryocytes as a component of marrow-blood barrier // *Blood Cells.* – 1986. – N 12. – P. 205–216.
212. *Terasawa T., Ogawa M., Porter P.* G-gamma and A-gamma globin-chain biosynthesis by adult and umbilical cord blood erythropoietic bursts and reticulocytes // *Blood.* – 1980. – Vol. 56. – P. 93–97.
213. *Till J., McCulloch E.* A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells // *Radiat. Res.* – 1961. – N 14. – P. 213–221.
214. *Till J., McCulloch E.* Hemopoietic stem cells differentiation // *Biochem. and Biophys. Acta.* – 1980. – Vol. 60, N 5. – P. 431–459.
215. *Thiele J., Krech R., Choritz H. et al.* Emperipolesis – a peculiar feature of megakaryocytes as evaluated in chronic myeloproliferative diseases by

- morphometry and ultrastructure // *Virch. Arch.-B.* – 1984. – Vol. 46, N 3. – P. 253–263.
216. *Trentin J.* Hemopoietic microenvironment // *Transplant. Proc.* – 1978. – Vol. 10, N 1. – P. 77–81.
217. *Veldman D.* Correlates of visual acuity in college freshmen // *Percept. Motor. Skills.* – 1970. – N 30. – P. 551–558.
218. *Wang N., Seemayer T., Ahmed M.* Giant cells carcinoma of the lung. A light and electron microscopic study // *Hum. Pathol.*, 1976. – Vol. 7, N 1. – P. 3–16.
219. *Watanabe Y.* An electron microscopic observation on reticulum cell in the bone marrow. // *Proc. 4th Int. Symp. of R.E., Otsu and Kyoto.* – 1966. – P. 94–107.
220. *Weiss L.* The structure of bone marrow. Functional interrelations of vascular hemopoietic compartments in experimental hemolytic anemia: An electron microscopic study // *J. Morphol.* – 1965. – Vol. 117, N 3. – P. 467–537.
221. *Weiss L.* The haemopoietic microenvironment of bone marrow: an ultrastructural study of the interactions of blood cells, stroma and blood vessels // *Blood cells and vessel walls: functional interactions.* – Amsterdam, Oxford, NY, 1980. – P. 3–19.
222. *Werts E., Johnson M., DeGowin R.* Postirradiation hemopoietic repopulation and stromal cell viability // *Radiat. Res.* – 1977. – Vol. 71, No. 1. – P. 214–224.
223. *Werts E., Gibson D., DeGowin R.* Recovery of bone marrow stroma after X-irradiation // *Radiat. Res.* – 1978. – Vol. 74, N 3. – P. 466–471.
224. *Werts E., Gibson D., Knaap S., DeGowin R.* Stromal cell migration precedes hemopoietic repopulation of the bone marrow after irradiation // *Radiat. Res.* – 1980. – Volume 81, N 1. – P. 33–40.
225. *Wolf N.* Resensibility of hematopoietic stem cell direction (not commitment) as influenced by the microenvironment // *Blood Cells.* – 1978. – Vol. 4. – P. 37–51.
226. *Xu C., Hendry J., Testa N.* Residual deficiencies in hemopoietic precursor cell populations after repeated irradiation of mice with x-rays or neutrons: dose-response relationship // *Exptl. Hematol.* – 1986. – Vol. 14. – P. 230–233.
227. *Zipori D.* Hemopoietic microenvironments // *Hematopoiesis. Long-term effects of Chemotherapy and Radiation.* – NY, 1988. – P. 27–62.

Таблица 1

**Количество эритроцитов ($\times 10^2/\text{л}$) в периферической крови
экспериментальных животных ($M \pm m$)**

Дозы облучения		Время после облучения		
		1 сутки	7 суток	30 суток
РО	0,3 Гр контроль	$8,34 \pm 0,28$ $7,62 \pm 0,37$	$8,67 \pm 0,35$ $7,78 \pm 0,31$	$7,98 \pm 0,24$ $8,12 \pm 0,40$
РО	0,5 Гр контроль	$8,85 \pm 0,31$ $9,37 \pm 0,33$	$9,05 \pm 0,26$ $8,33 \pm 0,60$	$8,97 \pm 0,34$ $7,95 \pm 0,49$
РО	1 Гр контроль	$6,96 \pm 0,28$ $7,47 \pm 0,18$	$8,36 \pm 0,29$ $7,84 \pm 0,46$	$8,07 \pm 0,27$ $7,83 \pm 0,65$
РО	2 Гр контроль	$7,87 \pm 0,41$ $8,03 \pm 0,24$	$8,87 \pm 0,31$ $8,00 \pm 0,48$	$7,90 \pm 0,36$ $7,86 \pm 0,29$
СВЧ-О	$0,25 \text{ мВт/см}^2$ контроль	$6,35 \pm 0,16$ $8,28 \pm 0,32$	$6,68 \pm 0,30$ $8,20 \pm 0,46$	$8,66 \pm 0,35$ $7,44 \pm 0,33$
Комбинированное СВЧ-О ($0,25 \text{ мВт/см}^2$) и РО (0,5 Гр)				
	контроль	$8,69 \pm 0,62$ $8,44 \pm 0,39$	$7,54 \pm 0,34$ $7,80 \pm 0,32$	$9,04 \pm 0,35$ $8,16 \pm 0,44$

Таблица 2

**Содержание гемоглобина (г/л) в периферической крови
экспериментальных животных ($M \pm m$)**

Дозы облучения		Время после облучения		
		1 сутки	7 суток	30 суток
РО	0,3 Гр контроль	$131,41 \pm 2,01$ $123,91 \pm 7,20$	$147,40 \pm 2,35$ $120,00 \pm 6,64$	$135,11 \pm 3,89$ $128,76 \pm 7,65$
РО	0,5 Гр контроль	$111,58 \pm 3,26$ $120,00 \pm 3,17$	$131,00 \pm 4,16$ $133,50 \pm 6,99$	$126,00 \pm 1,83$ $127,50 \pm 8,96$
РО	1 Гр контроль	$128,63 \pm 2,68$ $137,30 \pm 6,19$	$148,53 \pm 3,71$ $122,13 \pm 5,28$	$143,67 \pm 4,18$ $140,50 \pm 0,83$
РО	2 Гр контроль	$144,62 \pm 3,32$ $139,71 \pm 6,98$	$143,42 \pm 3,03$ $135,13 \pm 4,23$	$130,40 \pm 8,66$ $123,56 \pm 6,03$
СВЧ-О	$0,25 \text{ мВт/см}^2$ контроль	$100,20 \pm 3,21$ $117,40 \pm 0,32$	$129,80 \pm 2,66$ $131,00 \pm 2,96$	$154,67 \pm 4,70$ $143,20 \pm 5,55$
Комбинированное СВЧ-О ($0,25 \text{ мВт/см}^2$) и РО (0,5 Гр)				
	контроль	$122,57 \pm 5,41$ $127,78 \pm 3,96$	$127,60 \pm 0,98$ $130,57 \pm 9,05$	$126,00 \pm 2,10$ $124,20 \pm 7,49$

Таблица 3

**Показатели скорости оседания эритроцитов (мм/час)
в периферической крови экспериментальных животных ($M \pm m$)**

Дозы облучения		Время после облучения		
		1 сутки	7 суток	30 суток
РО	0,3 Гр	$1,78 \pm 0,17$	$2,70 \pm 0,54$	$2,56 \pm 0,73$
	контроль	$2,10 \pm 0,23$	$1,86 \pm 0,26$	$2,00 \pm 0,38$
РО	0,5 Гр	$2,58 \pm 0,48$	$2,20 \pm 0,29$	$2,56 \pm 0,29$
	контроль	$2,00 \pm 0,31$	$1,71 \pm 0,42$	$2,75 \pm 0,25$
РО	1 Гр	$1,79 \pm 0,21$	$1,90 \pm 0,50$	$1,50 \pm 0,34$
	контроль	$1,40 \pm 0,16$	$2,13 \pm 0,28$	$2,33 \pm 0,72$
РО	2 Гр	$1,69 \pm 0,21$	$2,00 \pm 0,21$	$3,20 \pm 1,07$
	контроль	$1,71 \pm 0,29$	$2,25 \pm 0,23$	$1,57 \pm 0,30$
СВЧ-О	$0,25 \text{ мВт/см}^2$	$5,40 \pm 1,02$	$1,89 \pm 0,20$	$3,11 \pm 0,51$
	контроль	$3,00 \pm 0,52$	$1,88 \pm 0,29$	$2,50 \pm 0,44$
Комбинированное СВЧ-О ($0,25 \text{ мВт/см}^2$) и РО (0,5 Гр)				
		$2,14 \pm 0,55$	$2,20 \pm 0,37$	$1,20 \pm 0,20$
	контроль	$1,75 \pm 0,31$	$1,40 \pm 0,25$	$2,80 \pm 1,11$

Таблица 4

**Общее количество лейкоцитов ($\times 10^9/\text{л}$)
в периферической крови экспериментальных животных ($M \pm m$)**

Дозы облучения		Время после облучения		
		1 сутки	7 суток	30 суток
РО	0,3 Гр	$6,96 \pm 0,67$	$10,30 \pm 1,05$	$12,84 \pm 1,66$
	контроль	$10,86 \pm 0,86$	$11,96 \pm 0,70$	$12,68 \pm 0,68$
РО	0,5 Гр	$7,12 \pm 0,65$	$10,49 \pm 0,83$	$10,41 \pm 1,51$
	контроль	$11,34 \pm 0,82$	$10,13 \pm 0,52$	$11,88 \pm 2,26$
РО	1 Гр	$5,04 \pm 0,42$	$7,95 \pm 1,57$	$9,19 \pm 0,74$
	контроль	$11,32 \pm 1,01$	$10,70 \pm 0,75$	$10,52 \pm 1,06$
РО	2 Гр	$4,28 \pm 0,39$	$6,66 \pm 1,06$	$12,49 \pm 1,60$
	контроль	$12,12 \pm 0,48$	$10,90 \pm 0,58$	$13,46 \pm 2,55$
СВЧ-О	$0,25 \text{ мВт/см}^2$	$11,50 \pm 0,63$	$11,33 \pm 0,95$	$10,76 \pm 1,20$
	контроль	$10,40 \pm 0,79$	$12,41 \pm 0,69$	$13,72 \pm 1,40$
Комбинированное СВЧ-О ($0,25 \text{ мВт/см}^2$) и РО (0,5 Гр)				
		$4,77 \pm 0,47$	$4,40 \pm 0,53$	$4,34 \pm 0,21$
	контроль	$10,26 \pm 0,60$	$10,50 \pm 1,27$	$12,46 \pm 1,65$

Относительное (%) и абсолютное (абс., $\times 10^9/\text{л}$) количество лимфоцитов в периферической крови экспериментальных животных ($M \pm m$)

Дозы облучения			Время после облучения		
			1 сутки	7 суток	30 суток
РО	0,3 Гр	%	$63,56 \pm 2,30$	$67,70 \pm 2,45$	$66,67 \pm 2,68$
	контроль	%	$69,50 \pm 1,76$	$69,80 \pm 3,73$	$65,40 \pm 1,16$
	абс.		$4,07 \pm 0,50$	$7,05 \pm 0,85$	$8,24 \pm 0,88$
	контроль абс.		$7,58 \pm 0,73$	$8,30 \pm 0,47$	$8,30 \pm 0,48$
РО	0,5 Гр	%	$58,75 \pm 1,26$	$61,40 \pm 2,30$	$70,88 \pm 2,42$
	контроль	%	$70,17 \pm 1,76$	$68,50 \pm 0,87$	$67,50 \pm 1,66$
	абс.		$4,20 \pm 0,40$	$6,38 \pm 0,49$	$7,22 \pm 0,96$
	контроль абс.		$6,78 \pm 0,82$	$6,93 \pm 0,32$	$8,10 \pm 1,71$
РО	1 Гр	%	$39,68 \pm 2,37$	$58,53 \pm 4,12$	$56,27 \pm 2,26$
	контроль	%	$69,20 \pm 0,81$	$68,25 \pm 1,49$	$61,83 \pm 3,39$
	абс.		$1,93 \pm 0,15$	$4,34 \pm 0,96$	$5,12 \pm 0,42$
	контроль абс.		$7,86 \pm 0,75$	$7,32 \pm 0,57$	$6,21 \pm 0,55$
РО	2 Гр	%	$22,00 \pm 2,07$	$40,67 \pm 3,10$	$52,29 \pm 4,08$
	контроль	%	$70,50 \pm 1,58$	$69,25 \pm 0,82$	$67,50 \pm 2,15$
	абс.		$0,91 \pm 0,09$	$2,66 \pm 0,44$	$6,89 \pm 1,31$
	контроль абс.		$8,56 \pm 0,41$	$7,55 \pm 0,41$	$9,08 \pm 0,68$
СВЧ-О	$0,25 \text{ мВт/см}^2$	%	$53,80 \pm 3,09$	$67,90 \pm 2,70$	$65,00 \pm 2,24$
	контроль	%	$71,20 \pm 1,77$	$70,88 \pm 1,60$	$69,90 \pm 1,87$
	абс.		$6,15 \pm 0,44$	$7,15 \pm 0,66$	$7,03 \pm 0,78$
	контроль абс.		$7,51 \pm 0,72$	$8,80 \pm 0,53$	$9,63 \pm 1,20$
Комбинированное СВЧ-О ($0,25 \text{ мВт/см}^2$) и РО (0,5 Гр)					
		%	$54,00 \pm 3,43$	$57,20 \pm 3,06$	$69,00 \pm 1,46$
	контроль	%	$68,88 \pm 2,02$	$68,00 \pm 1,22$	$66,20 \pm 2,22$
	абс.		$2,54 \pm 0,25$	$2,55 \pm 0,40$	$3,00 \pm 0,19$
	контроль абс.		$7,92 \pm 0,87$	$7,13 \pm 0,90$	$8,31 \pm 1,31$

Лимфоцитограмма периферической крови экспериментальных животных, подвергшихся рентгеновскому облучению в дозе 0,3 Гр ($M \pm m$)

Показатель (%)	Время после облучения		
	1 сутки	7 суток	30 суток
Малые лимфоциты	60,83 $\pm$ 2,14	53,10 $\pm$ 1,40	58,22 $\pm$ 1,43
контроль	65,50 $\pm$ 2,14	68,25 $\pm$ 0,63	68,25 $\pm$ 2,10
Средние лимфоциты	24,22 $\pm$ 1,90	28,40 $\pm$ 1,39	34,11 $\pm$ 1,54
контроль	26,25 $\pm$ 2,36	20,75 $\pm$ 0,75	21,75 $\pm$ 2,06
Большие лимфоциты	2,11 $\pm$ 0,47	2,60 $\pm$ 1,15	3,11 $\pm$ 0,48
контроль	3,57 $\pm$ 0,78	3,14 $\pm$ 0,46	4,00 $\pm$ 1,08
БГЛ	4,39 $\pm$ 0,68	10,40 $\pm$ 2,41	1,11 $\pm$ 0,26
контроль	3,29 $\pm$ 0,42	3,71 $\pm$ 0,61	2,57 $\pm$ 0,43
Лимфо-ретикулярные	6,78 $\pm$ 0,94	2,10 $\pm$ 0,48	1,33 $\pm$ 0,55
контроль	1,57 $\pm$ 0,37	2,71 $\pm$ 0,47	2,43 $\pm$ 0,37
Формы Ридера	1,33 $\pm$ 0,30	3,20 $\pm$ 0,76	1,44 $\pm$ 0,24
контроль	1,29 $\pm$ 0,36	1,00 $\pm$ 0,31	1,14 $\pm$ 0,14
2-ядерные клетки	0,22 $\pm$ 0,13	0,20 $\pm$ 0,13	0,67 $\pm$ 0,37
контроль	0,86 $\pm$ 0,40	0,71 $\pm$ 0,42	0,57 $\pm$ 0,30
Плазматические клетки	0,11 $\pm$ 0,08	–	–
контроль	0,35 $\pm$ 0,12	–	–

Таблица 7

Лимфоцитограмма периферической крови экспериментальных животных, подвергшихся рентгеновскому облучению в дозе 0,5 Гр ($M \pm m$)

Показатель (%)	Время после облучения		
	1 сутки	7 суток	30 суток
Малые лимфоциты	54,67 $\pm$ 2,74	43,70 $\pm$ 6,21	61,63 $\pm$ 1,69
контроль	62,30 $\pm$ 4,14	69,60 $\pm$ 1,50	64,60 $\pm$ 2,29
Средние лимфоциты	21,75 $\pm$ 1,75	22,60 $\pm$ 1,59	28,50 $\pm$ 1,80
контроль	25,60 $\pm$ 2,85	24,57 $\pm$ 1,83	22,14 $\pm$ 2,07
Большие лимфоциты	5,92 $\pm$ 1,71	6,00 $\pm$ 1,15	3,75 $\pm$ 0,53
контроль	4,71 $\pm$ 0,99	4,20 $\pm$ 0,86	4,57 $\pm$ 0,78
БГЛ	7,75 $\pm$ 0,51	5,50 $\pm$ 0,72	1,75 $\pm$ 0,45
контроль	4,29 $\pm$ 0,86	3,57 $\pm$ 0,30	3,86 $\pm$ 0,63
Лимфо-ретикулярные	7,42 $\pm$ 0,87	3,80 $\pm$ 0,25	1,38 $\pm$ 0,32
контроль	2,71 $\pm$ 0,29	2,43 $\pm$ 0,48	1,71 $\pm$ 0,42
Формы Ридера	0,75 $\pm$ 0,30	0,80 $\pm$ 0,25	1,38 $\pm$ 0,26
контроль	1,29 $\pm$ 0,36	1,00 $\pm$ 0,31	1,14 $\pm$ 0,14
2-ядерные клетки	1,50 $\pm$ 0,42	0,90 $\pm$ 0,23	0,50 $\pm$ 0,19
контроль	0,86 $\pm$ 0,40	0,71 $\pm$ 0,42	0,57 $\pm$ 0,30
Плазматические клетки	0,50 $\pm$ 0,25	0,60 $\pm$ 0,31	1,88 $\pm$ 0,91
контроль	0,35 $\pm$ 0,12	0,31 $\pm$ 0,20	0,33 $\pm$ 0,11

Лимфоцитограмма периферической крови экспериментальных животных, подвергшихся рентгеновскому облучению в дозе 1 Гр ($M \pm m$)

Показатель (%)	Время после облучения		
	1 сутки	7 суток	30 суток
Малые лимфоциты контроль	55,68 $\pm$ 2,66 65,00 $\pm$ 3,73	49,13 $\pm$ 4,12 63,38 $\pm$ 1,81	59,64 $\pm$ 1,75 63,50 $\pm$ 2,58
Средние лимфоциты контроль	29,84 $\pm$ 2,36 19,43 $\pm$ 2,12	25,80 $\pm$ 2,53 23,88 $\pm$ 2,10	31,36 $\pm$ 1,74 25,00 $\pm$ 1,31
Большие лимфоциты контроль	1,89 $\pm$ 0,30 3,86 $\pm$ 0,77	5,00 $\pm$ 2,09 4,14 $\pm$ 0,67	2,82 $\pm$ 0,33 3,57 $\pm$ 0,68
БГЛ контроль	6,58 $\pm$ 1,06 3,57 $\pm$ 0,87	12,93 $\pm$ 2,42 4,57 $\pm$ 1,13	2,36 $\pm$ 0,53 2,67 $\pm$ 0,56
Лимфо-ретикулярные контроль	4,00 $\pm$ 0,47 2,86 $\pm$ 0,40	3,00 $\pm$ 0,48 2,71 $\pm$ 0,64	2,00 $\pm$ 0,33 1,71 $\pm$ 0,29
Формы Ридера контроль	1,21 $\pm$ 0,30 1,29 $\pm$ 0,36	2,80 $\pm$ 0,65 1,00 $\pm$ 0,31	1,18 $\pm$ 0,44 1,14 $\pm$ 0,14
2-ядерные клетки контроль	1,33 $\pm$ 0,17 0,86 $\pm$ 0,40	0,80 $\pm$ 0,20 0,71 $\pm$ 0,42	1,20 $\pm$ 0,20 0,57 $\pm$ 0,30
Плазматические клетки контроль	0,26 $\pm$ 0,13 0,35 $\pm$ 0,12	1,07 $\pm$ 0,21 0,31 $\pm$ 0,20	0,18 $\pm$ 0,12 0,33 $\pm$ 0,11

Таблица 9

Лимфоцитограмма периферической крови экспериментальных животных, подвергшихся рентгеновскому облучению в дозе 2,0 Гр ($M \pm m$)

Показатель (%)	Время после облучения		
	1 сутки	7 суток	30 суток
Малые лимфоциты контроль	52,69 $\pm$ 2,29 63,43 $\pm$ 2,56	41,08 $\pm$ 3,18 63,88 $\pm$ 2,34	55,43 $\pm$ 4,91 64,86 $\pm$ 3,01
Средние лимфоциты контроль	33,38 $\pm$ 2,14 23,60 $\pm$ 2,36	31,75 $\pm$ 2,62 25,13 $\pm$ 2,30	29,14 $\pm$ 3,88 23,29 $\pm$ 1,54
Большие лимфоциты контроль	2,08 $\pm$ 0,45 4,80 $\pm$ 0,54	2,58 $\pm$ 0,48 4,13 $\pm$ 0,54	2,43 $\pm$ 0,53 3,86 $\pm$ 1,08
БГЛ контроль	6,77 $\pm$ 1,10 3,14 $\pm$ 0,40	16,08 $\pm$ 2,03 2,38 $\pm$ 0,25	4,86 $\pm$ 1,08 3,86 $\pm$ 0,63
Лимфо-ретикулярные контроль	2,15 $\pm$ 0,41 2,43 $\pm$ 0,37	3,33 $\pm$ 0,38 2,43 $\pm$ 0,43	2,43 $\pm$ 0,65 2,14 $\pm$ 0,34
Формы Ридера контроль	1,54 $\pm$ 0,64 1,29 $\pm$ 0,36	4,0 $\pm$ 0,77 1,0 $\pm$ 0,31	4,29 $\pm$ 0,57 1,14 $\pm$ 0,14
2-ядерные клетки контроль	1,33 $\pm$ 0,33 0,86 $\pm$ 0,40	1,00 $\pm$ 0,00 0,71 $\pm$ 0,42	2,50 $\pm$ 0,50 0,57 $\pm$ 0,30
Плазматические клетки контроль	0,77 $\pm$ 0,30 0,35 $\pm$ 0,12	1,08 $\pm$ 0,38 0,31 $\pm$ 0,20	0,14 $\pm$ 0,14 0,33 $\pm$ 0,11

Лимфоцитограмма периферической крови экспериментальных животных, подвергшихся комбинированному СВЧ-облучению в дозе 0,25 мВт/см² (М ± m)

Показатель (%)	Время после облучения		
	1 сутки	7 суток	30 суток
Малые лимфоциты	60,70 ± 2,03	61,80 ± 2,59	62,89 ± 2,38
контроль	65,57 ± 1,96	63,29 ± 2,43	66,90 ± 1,59
Средние лимфоциты	22,00 ± 1,47	23,60 ± 2,11	23,00 ± 1,40
контроль	22,50 ± 1,59	24,29 ± 3,16	27,29 ± 2,11
Большие лимфоциты	6,00 ± 0,92	6,80 ± 0,99	5,00 ± 0,82
контроль	3,30 ± 0,39	3,71 ± 1,02	4,43 ± 1,06
БГЛ	8,20 ± 1,04	1,40 ± 0,37	4,22 ± 0,49
контроль	3,14 ± 0,59	2,86 ± 0,63	4,43 ± 0,99
Лимфо-ретикулярные	2,60 ± 0,43	2,00 ± 0,26	2,22 ± 0,57
контроль	2,43 ± 0,30	2,14 ± 0,40	1,86 ± 0,34
Формы Ридера	1,50 ± 0,60	4,70 ± 0,45	3,33 ± 0,60
контроль	1,29 ± 0,36	1,00 ± 0,31	1,14 ± 0,14
2-ядерные клетки	0,90 ± 0,31	0,40 ± 0,22	0,33 ± 0,24
контроль	0,86 ± 0,40	0,71 ± 0,42	0,57 ± 0,30
Плазматические клетки	0,10 ± 0,10	0,30 ± 0,15	–
контроль	0,35 ± 0,12	0,31 ± 0,20	–

Таблица 11

Лимфоцитограмма периферической крови экспериментальных животных, подвергшихся комбинированному СВЧ-облучению в дозе 0,25 мВт/см² и рентгеновскому облучению в дозе 0,5 Гр (М ± m)

Показатель (%)	Время после облучения		
	1 сутки	7 суток	30 суток
Малые лимфоциты	58,71 ± 0,78	56,40 ± 1,57	65,40 ± 3,08
контроль	64,50 ± 3,13	64,14 ± 2,52	68,86 ± 2,32
Средние лимфоциты	14,86 ± 1,24	18,60 ± 1,21	14,00 ± 1,76
контроль	23,29 ± 1,54	20,86 ± 3,12	27,40 ± 2,76
Большие лимфоциты	10,43 ± 0,48	9,60 ± 1,44	7,00 ± 0,63
контроль	3,43 ± 0,87	3,29 ± 1,17	3,14 ± 0,83
БГЛ	6,43 ± 0,90	6,00 ± 1,05	6,20 ± 1,07
контроль	3,43 ± 0,37	3,57 ± 0,65	2,71 ± 0,56
Лимфо-ретикулярные	5,43 ± 0,84	5,80 ± 1,24	3,60 ± 0,51
контроль	2,43 ± 0,37	1,71 ± 0,42	2,14 ± 0,26
Формы Ридера	1,14 ± 0,26	1,60 ± 0,51	1,80 ± 0,37
контроль	1,29 ± 0,36	1,00 ± 0,31	1,14 ± 0,14
2-ядерные клетки	2,43 ± 0,37	1,20 ± 0,49	1,60 ± 0,24
контроль	0,86 ± 0,40	0,71 ± 0,42	0,57 ± 0,30
Плазматические клетки	0,57 ± 0,20	0,80 ± 0,37	0,40 ± 0,24
контроль	0,35 ± 0,12	0,31 ± 0,20	0,33 ± 0,11

**Относительное (%) и абсолютное (абс., $\times 10^9/\text{л}$) количество
сегментоядерных нейтрофильных лейкоцитов
в периферической крови экспериментальных животных ($M \pm m$)**

Дозы облучения			Время после облучения		
			1 сутки	7 суток	30 суток
РО	0,3 Гр	%	$30,28 \pm 2,04$	$28,60 \pm 2,19$	$26,00 \pm 2,68$
	контроль	%	$23,77 \pm 1,51$	$19,80 \pm 2,26$	$20,80 \pm 1,32$
	абс.		$2,17 \pm 0,22$	$2,88 \pm 0,29$	$3,57 \pm 0,66$
	контроль абс.		$2,49 \pm 0,17$	$2,37 \pm 0,27$	$2,63 \pm 0,19$
РО	0,5 Гр	%	$33,00 \pm 1,27$	$29,70 \pm 2,05$	$22,88 \pm 1,73$
	контроль	%	$24,17 \pm 1,78$	$22,50 \pm 1,55$	$23,75 \pm 2,39$
	абс.		$2,34 \pm 0,23$	$3,17 \pm 0,40$	$2,55 \pm 0,52$
	контроль абс.		$2,30 \pm 0,27$	$2,29 \pm 0,24$	$2,73 \pm 0,44$
РО	1 Гр	%	$53,53 \pm 2,43$	$35,73 \pm 4,23$	$33,45 \pm 2,02$
	контроль	%	$19,00 \pm 0,73$	$26,63 \pm 1,33$	$32,00 \pm 3,16$
	абс.		$2,78 \pm 0,35$	$3,02 \pm 0,90$	$3,06 \pm 0,28$
	контроль абс.		$2,13 \pm 0,19$	$2,84 \pm 0,23$	$3,59 \pm 0,54$
РО	2 Гр	%	$73,00 \pm 2,28$	$52,92 \pm 3,18$	$37,00 \pm 3,53$
	контроль	%	$18,80 \pm 0,10$	$25,88 \pm 0,87$	$21,40 \pm 0,87$
	абс.		$3,15 \pm 0,34$	$3,58 \pm 0,73$	$4,55 \pm 0,57$
	контроль абс.		$2,27 \pm 0,15$	$2,82 \pm 0,18$	$2,77 \pm 0,46$
СВЧ-О	0,25 мВт/см ²	%	$38,60 \pm 2,83$	$28,30 \pm 2,19$	$30,78 \pm 2,52$
	контроль	%	$23,50 \pm 1,29$	$23,38 \pm 1,49$	$26,40 \pm 2,39$
	абс.		$4,43 \pm 0,40$	$3,31 \pm 0,41$	$2,51 \pm 0,58$
	контроль абс.		$2,39 \pm 0,18$	$2,84 \pm 0,21$	$3,54 \pm 0,09$
Комбинированное СВЧ-О (0,25 мВт/см ²) и РО (0,5 Гр)					
		%	$38,71 \pm 3,94$	$38,60 \pm 3,94$	$22,20 \pm 0,80$
	контроль	%	$25,38 \pm 2,14$	$20,60 \pm 1,50$	$27,40 \pm 1,69$
	абс.		$1,90 \pm 0,37$	$1,66 \pm 0,21$	$0,96 \pm 0,03$
	контроль абс.		$2,36 \pm 0,17$	$2,18 \pm 0,31$	$2,52 \pm 0,28$

**Относительное (%) и абсолютное (абс., $\times 10^9/\text{л}$) количество палочко-
ядерных лейкоцитов в периферической крови экспериментальных
животных ($M \pm m$)**

Дозы облучения			Время после облучения		
			1 сутки	7 суток	30 суток
РО	0,3 Гр	%	$1,87 \pm 0,89$	$1,70 \pm 0,42$	$2,33 \pm 0,58$
	контроль	%	$1,30 \pm 0,30$	$1,20 \pm 0,29$	$1,20 \pm 0,37$
	абс.		$0,18 \pm 0,06$	$0,16 \pm 0,05$	$0,35 \pm 0,09$
	контроль абс.		$0,13 \pm 0,04$	$0,13 \pm 0,06$	$0,15 \pm 0,05$
РО	0,5 Гр	%	$4,00 \pm 0,56$	$2,20 \pm 0,36$	$2,75 \pm 0,49$
	контроль	%	$2,29 \pm 0,29$	$2,75 \pm 1,11$	$1,29 \pm 0,36$
	абс.		$0,30 \pm 0,06$	$0,23 \pm 0,04$	$0,29 \pm 0,05$
	контроль абс.		$0,15 \pm 0,06$	$0,29 \pm 0,13$	$0,34 \pm 0,10$
РО	1 Гр	%	$2,68 \pm 0,60$	$3,27 \pm 0,47$	$4,73 \pm 0,45$
	контроль	%	$2,00 \pm 0,26$	$2,13 \pm 0,28$	$1,56 \pm 0,41$
	абс.		$0,12 \pm 0,03$	$0,26 \pm 0,07$	$0,43 \pm 0,05$
	контроль абс.		$0,21 \pm 0,03$	$0,23 \pm 0,03$	$0,14 \pm 0,07$
РО	2 Гр	%	$2,77 \pm 0,44$	$2,83 \pm 0,46$	$6,71 \pm 1,98$
	контроль	%	$1,00 \pm 0,30$	$2,38 \pm 0,30$	$1,20 \pm 0,58$
	абс.		$0,21 \pm 0,05$	$0,19 \pm 0,05$	$0,71 \pm 0,21$
	контроль абс.		$0,10 \pm 0,04$	$0,26 \pm 0,03$	$0,21 \pm 0,11$
СВЧ-О	0,25 мВт/см ²	%	$2,30 \pm 0,30$	$5,40 \pm 0,81$	$1,11 \pm 0,31$
	контроль	%	$0,90 \pm 0,28$	$1,00 \pm 0,27$	$0,60 \pm 0,25$
	абс.		$0,08 \pm 0,01$	$0,03 \pm 0,02$	$0,09 \pm 0,01$
	контроль абс.		$0,09 \pm 0,04$	$0,13 \pm 0,04$	$0,08 \pm 0,03$
Комбинированное СВЧ-О (0,25 мВт/см ²) и РО (0,5 Гр)					
		%	$1,71 \pm 0,29$	$0,60 \pm 0,40$	$2,20 \pm 0,20$
	контроль	%	$2,00 \pm 0,27$	$1,40 \pm 0,40$	$1,60 \pm 0,60$
	абс.		$0,08 \pm 0,01$	$0,03 \pm 0,02$	$0,09 \pm 0,01$
	контроль абс.		$0,11 \pm 0,02$	$0,13 \pm 0,04$	$0,19 \pm 0,08$

**Относительное (%) и абсолютное (абс., $\times 10^9/\text{л}$) количество
сегментоядерных эозинофильных лейкоцитов
в периферической крови экспериментальных животных ($M \pm m$)**

Дозы облучения			Время после облучения		
			1 сутки	7 суток	30 суток
РО	0,3 Гр	%	$2,39 \pm 0,64$	$1,00 \pm 0,26$	$3,44 \pm 0,67$
	контроль	%	$3,00 \pm 0,60$	$5,00 \pm 1,20$	$5,20 \pm 1,02$
	абс.		$0,28 \pm 0,08$	$0,10 \pm 0,03$	$0,47 \pm 0,11$
	контроль абс.		$0,37 \pm 0,11$	$0,63 \pm 0,28$	$0,66 \pm 0,13$
РО	0,5 Гр	%	$1,67 \pm 0,56$	$3,90 \pm 0,55$	$1,50 \pm 0,33$
	контроль	%	$1,83 \pm 0,40$	$3,25 \pm 1,38$	$3,67 \pm 1,00$
	абс.		$0,13 \pm 0,05$	$0,41 \pm 0,07$	$0,17 \pm 0,06$
	контроль абс.		$0,17 \pm 0,07$	$0,32 \pm 0,14$	$0,08 \pm 0,05$
РО	1 Гр	%	$2,21 \pm 0,42$	$0,47 \pm 0,24$	$2,09 \pm 1,04$
	контроль	%	$2,70 \pm 0,21$	$1,13 \pm 0,33$	$3,67 \pm 0,69$
	абс.		$0,11 \pm 0,02$	$0,03 \pm 0,02$	$0,25 \pm 0,14$
	контроль абс.		$0,29 \pm 0,03$	$0,11 \pm 0,03$	$0,39 \pm 0,10$
РО	2 Гр	%	$1,38 \pm 0,47$	$1,17 \pm 0,34$	$1,57 \pm 0,48$
	контроль	%	$4,50 \pm 0,53$	$3,00 \pm 0,41$	$3,14 \pm 1,25$
	абс.		$0,11 \pm 0,04$	$0,06 \pm 0,02$	$0,18 \pm 0,10$
	контроль абс.		$0,54 \pm 0,07$	$0,07 \pm 0,02$	$0,40 \pm 0,11$
СВЧ-О	0,25 мВт/см ²	%	$2,40 \pm 0,62$	$1,20 \pm 0,25$	$1,89 \pm 0,54$
	контроль	%	$1,60 \pm 0,31$	$1,75 \pm 0,31$	$2,00 \pm 0,89$
	абс.		$0,30 \pm 0,08$	$0,14 \pm 0,04$	$0,16 \pm 0,05$
	контроль абс.		$0,13 \pm 0,04$	$0,21 \pm 0,03$	$0,31 \pm 0,17$
Комбинированное СВЧ-О (0,25 мВт/см ²) и РО (0,5 Гр)					
		%	$3,14 \pm 0,51$	$0,40 \pm 0,87$	$4,80 \pm 0,37$
	контроль	%	$1,88 \pm 0,29$	$2,80 \pm 0,37$	$3,20 \pm 0,86$
	абс.		$0,15 \pm 0,02$	$0,12 \pm 0,05$	$0,21 \pm 0,02$
	контроль абс.		$0,11 \pm 0,02$	$0,28 \pm 0,03$	$0,40 \pm 0,12$

**Относительное (%) и абсолютное (абс., $\times 10^9/\text{л}$) количество
сегментоядерных базофильных лейкоцитов в периферической крови
экспериментальных животных ($M \pm m$)**

Дозы облучения			Время после облучения		
			1 сутки	7 суток	30 суток
РО	0,3 Гр	%	$0,22 \pm 0,13$	$0,20 \pm 0,13$	$0,11 \pm 0,11$
	контроль	%	$0,22 \pm 0,07$	$0,20 \pm 0,06$	$0,24 \pm 0,09$
	абс.		$0,02 \pm 0,01$	$0,02 \pm 0,01$	$0,01 \pm 0,01$
	контроль абс.		$0,02 \pm 0,01$	$0,03 \pm 0,01$	$0,02 \pm 0,01$
РО	0,5 Гр	%	$0,08 \pm 0,08$	$0,20 \pm 0,13$	$0,13 \pm 0,13$
	контроль	%	$0,22 \pm 0,07$	$0,20 \pm 0,06$	$0,24 \pm 0,09$
	абс.		$0,01 \pm 0,01$	$0,02 \pm 0,01$	$0,02 \pm 0,02$
	контроль абс.		$0,02 \pm 0,01$	$0,03 \pm 0,01$	$0,02 \pm 0,01$
РО	1 Гр	%	$2,68 \pm 0,60$	–	$0,09 \pm 0,09$
	контроль	%	$0,22 \pm 0,07$	–	$0,24 \pm 0,09$
	абс.		$0,03 \pm 0,02$	–	$0,01 \pm 0,01$
	контроль абс.		$0,02 \pm 0,01$	–	$0,02 \pm 0,01$
РО	2 Гр	%	$0,15 \pm 0,10$	$0,25 \pm 0,13$	–
	контроль	%	$0,22 \pm 0,07$	$0,20 \pm 0,06$	–
	абс.		$0,07 \pm 0,05$	$0,02 \pm 0,01$	–
	контроль абс.		$0,02 \pm 0,01$	$0,03 \pm 0,01$	–
СВЧ-О	0,25 мВт/см ²	%	$0,50 \pm 0,27$	$0,10 \pm 0,10$	–
	контроль	%	$0,22 \pm 0,07$	$0,20 \pm 0,06$	–
	абс.		$0,07 \pm 0,04$	$0,02 \pm 0,02$	–
	контроль абс.		$0,02 \pm 0,01$	$0,03 \pm 0,01$	–
Комбинированное СВЧ-О (0,25 мВт/см ²) и РО (0,5 Гр)					
		%	$0,14 \pm 0,14$	–	–
	контроль	%	$0,22 \pm 0,07$	–	–
	абс.		$0,01 \pm 0,01$	–	–
	контроль абс.		$0,02 \pm 0,01$	–	–

Относительное (%) и абсолютное (абс., $\times 10^9/\text{л}$) количество моноцитов в периферической крови экспериментальных животных ($M \pm m$)

Дозы облучения			Время после облучения		
			1 сутки	7 суток	30 суток
РО	0,3 Гр	%	$2,28 \pm 0,63$	$0,80 \pm 0,29$	$1,44 \pm 0,29$
	контроль	%	$2,60 \pm 0,31$	$2,10 \pm 0,46$	$2,20 \pm 0,57$
	абс.		$0,24 \pm 0,08$	$0,08 \pm 0,03$	$0,20 \pm 0,08$
	контроль абс.		$0,41 \pm 0,08$	$0,28 \pm 0,04$	$0,39 \pm 0,06$
РО	0,5 Гр	%	$2,33 \pm 0,57$	$2,40 \pm 0,34$	$2,13 \pm 0,44$
	контроль	%	$2,60 \pm 0,31$	$2,10 \pm 0,46$	$2,20 \pm 0,57$
	абс.		$0,14 \pm 0,03$	$0,25 \pm 0,04$	$0,17 \pm 0,04$
	контроль абс.		$0,41 \pm 0,08$	$0,28 \pm 0,04$	$0,39 \pm 0,06$
РО	1 Гр	%	$1,74 \pm 0,40$	$2,00 \pm 0,39$	$3,36 \pm 0,39$
	контроль	%	$2,60 \pm 0,31$	$2,10 \pm 0,46$	$2,20 \pm 0,57$
	абс.		$0,12 \pm 0,03$	$0,46 \pm 0,33$	$0,31 \pm 0,04$
	контроль абс.		$0,41 \pm 0,08$	$0,28 \pm 0,04$	$0,39 \pm 0,06$
РО	2 Гр	%	$0,69 \pm 0,26$	$2,17 \pm 0,55$	$2,43 \pm 0,65$
	контроль	%	$2,60 \pm 0,31$	$2,10 \pm 0,46$	$2,20 \pm 0,57$
	абс.		$0,07 \pm 0,03$	$0,15 \pm 0,04$	$0,27 \pm 0,07$
	контроль абс.		$0,41 \pm 0,08$	$0,28 \pm 0,04$	$0,39 \pm 0,06$
СВЧ-О	0,25 мВт/см ²	%	$2,40 \pm 0,48$	$1,10 \pm 0,28$	$1,22 \pm 0,32$
	контроль	%	$2,60 \pm 0,31$	$2,10 \pm 0,46$	$2,20 \pm 0,57$
	абс.		$0,29 \pm 0,07$	$0,13 \pm 0,04$	$0,13 \pm 0,04$
	контроль абс.		$0,41 \pm 0,08$	$0,28 \pm 0,04$	$0,39 \pm 0,06$
Комбинированное СВЧ-О (0,25 мВт/см ²) и РО (0,5 Гр)					
		%	$2,29 \pm 0,42$	$1,20 \pm 0,37$	$1,80 \pm 0,37$
	контроль	%	$2,60 \pm 0,31$	$2,10 \pm 0,46$	$2,20 \pm 0,57$
	абс.		$0,11 \pm 0,02$	$0,05 \pm 0,02$	$0,08 \pm 0,02$
	контроль абс.		$0,41 \pm 0,08$	$0,28 \pm 0,04$	$0,39 \pm 0,06$

**Количество тромбоцитов ($\times 10^9/\text{л}$)
в периферической крови экспериментальных животных ($M \pm m$)**

Дозы облучения		Количество тромбоцитов			
		облучение		контроль	
РО	1 сут.	902,08 $\pm$ 62,40	(n=12)	807,86 $\pm$ 29,27	(n=7)
0,5 Гр	7 сут.	1211,08 $\pm$ 116,97	(n=10)	831,36 $\pm$ 36,69	(n=7)
РО	1 сут.	467,61 $\pm$ 0,61	(n=9)	881,00 $\pm$ 50,20	(n=7)
1,0 Гр	7 сут.	679,60 $\pm$ 59,61	(n=15)	801,86 $\pm$ 28,16	(n=7)
РО	1 сут.	328,46 $\pm$ 26,70	(n=13)	809,00 $\pm$ 49,73	(n=7)
2,0 Гр	7 сут.	448,08 $\pm$ 60,53	(n=12)	886,86 $\pm$ 32,88	(n=7)
СВЧ-О	1 сут.	990,40 $\pm$ 52,50	(n=10)	980,60 $\pm$ 26,14	(n=7)
0,25 мВт/см ²	7 сут.	1206,80 $\pm$ 180,30	(n=9)	862,28 $\pm$ 47,22	(n=7)
Комбинированное СВЧ-О (0,25 мВт/см ²) и РО (0,5 Гр)					
	1 сут.	1252,30 $\pm$ 132,96	(n=7)	782,50 $\pm$ 38,67	(n=7)
	7 сут.	1423,20 $\pm$ 267,90	(n=5)	923,00 $\pm$ 37,53	(n=7)

**Продолжительность фаз митоза стромальных клеток кроветворных
органов интактных экспериментальных животных ($M \pm m$)**

Фаза митоза	Тип клеток		
	лимфатиче- ские узлы	тимус	костный мозг
Поздняя профаза	25,33 $\pm$ 2,80 /n=6/	20,67 $\pm$ 1,05 /n=6/	18,33 $\pm$ 1,63 /n=6/
Метафаза	9,67 $\pm$ 1,45 /n=6/	8,67 $\pm$ 0,67 /n=6/	9,50 $\pm$ 0,62 /n=6/
Анафаза	5,17 $\pm$ 0,48 /n=6/	5,50 $\pm$ 0,22 /n=6/	6,00 $\pm$ 0,45 /n=6/
Телофаза	11,33 $\pm$ 0,67 /n=6/	11,67 $\pm$ 0,76 /n=6/	9,50 $\pm$ 0,43 /n=6/
Общая продолжительность митоза, начиная с поздней профазы	51,50 $\pm$ 4,82 /n=6/	46,50 $\pm$ 1,36 /n=6/	43,30 $\pm$ 1,93 /n=6/

**Продолжительность фаз митоза стромальных клеток
кроветворных органов экспериментальных животных,
подвергшихся рентгеновскому облучению в дозе 0,3 Гр ($M \pm m$)**

Фаза митоза	Тип клеток		
	лимфатиче- ские узлы	тимус	костный мозг
Поздняя профаза	$14,14 \pm 1,56$ /n=6/	$17,83 \pm 1,82$ /n=6/	$18,17 \pm 1,54$ /n=6/
Метафаза	$9,29 \pm 1,54$ /n=6/	$7,33 \pm 0,49$ /n=6/	$6,83 \pm 0,31$ /n=6/
Анафаза	$5,29 \pm 0,36$ /n=6/	$5,17 \pm 0,48$ /n=6/	$5,17 \pm 0,17$ /n=6/
Телофаза	$11,86 \pm 0,70$ /n=6/	$12,00 \pm 0,68$ /n=6/	$10,17 \pm 0,48$ /n=6/
Общая продолжительность митоза, начиная с поздней профазы	$40,57 \pm 1,94$ /n=6/	$42,33 \pm 1,87$ /n=6/	$40,33 \pm 1,50$ /n=6/

Таблица 20

**Продолжительность фаз митоза стромальных клеток
кроветворных органов экспериментальных животных,
подвергшихся рентгеновскому облучению в дозе 0,5 Гр ($M \pm m$)**

Фаза митоза	Тип клеток		
	лимфатиче- ские узлы	тимус	костный мозг
Поздняя профаза	$19,50 \pm 1,34$ /n=6/	$18,20 \pm 4,32$ /n=6/	$18,83 \pm 0,40$ /n=6/
Метафаза	$6,50 \pm 0,43$ /n=6/	$7,40 \pm 0,68$ /n=6/	$6,83 \pm 0,79$ /n=6/
Анафаза	$5,17 \pm 0,17$ /n=6/	$6,00 \pm 0,55$ /n=6/	$5,33 \pm 0,21$ /n=6/
Телофаза	$10,17 \pm 0,48$ /n=6/	$10,20 \pm 0,80$ /n=6/	$11,00 \pm 0,37$ /n=6/
Общая продолжительность митоза, начиная с поздней профазы	$41,33 \pm 0,76$ /n=6/	$43,80 \pm 3,15$ /n=6/	$42,00 \pm 1,15$ /n=6/

Продолжительность фаз митоза стромальных клеток кроветворных органов экспериментальных животных, подвергшихся СВЧ-О при плотности потока мощности 0,25 мВт/см² (М ± m)

Фаза митоза	Тип клеток		
	лимфатические узлы	тимус	костный мозг
Поздняя профаза	18,57 ± 1,04 /n=6/	18,50 ± 1,09 /n=6/	18,83 ± 0,87 /n=6/
Метафаза	6,86 ± 0,26 /n=6/	6,17 ± 0,40 /n=6/	5,83 ± 0,31 /n=6/
Анафаза	5,00 ± – /n=6/	5,33 ± 0,33 /n=6/	5,00 ± – /n=6/
Телофаза	9,86 ± 0,46 /n=6/	9,83 ± 0,48 /n=6/	10,00 ± 0,45 /n=6/
Общая продолжительность митоза, начиная с поздней профазы	40,00 ± 0,87 /n=6/	39,83 ± 1,70 /n=6/	39,67 ± 0,49 /n=6/

Таблица 22

Продолжительность фаз митоза стромальных клеток кроветворных органов экспериментальных животных, подвергшихся рентгеновскому облучению в дозе 1,0 Гр (М ± m)

Фаза митоза	Тип клеток		
	лимфатические узлы	тимус	костный мозг
Поздняя профаза	14,56 ± 1,99 /n=6/	20,00 ± 0,56 /n=6/	–
Метафаза	15,22 ± 1,55 /n=6/	10,71 ± 1,63 /n=6/	–
Анафаза	5,33 ± 0,33 /n=6/	5,57 ± 0,30 /n=6/	–
Телофаза	11,44 ± 0,78 /n=6/	10,86 ± 0,51 /n=6/	–
Общая продолжительность митоза, начиная с поздней профазы	45,44 ± 2,46 /n=6/	47,14 ± 2,36 /n=6/	–

**Продолжительность фаз митоза стромальных клеток
кроветворных органов экспериментальных животных,
подвергшихся рентгеновскому облучению в дозе 2,0 Гр ($M \pm m$)**

Фаза митоза	Тип клеток		
	лимфатиче- ские узлы	тимус	костный мозг
Поздняя профаза	$15,73 \pm 1,70$ /n=6/	$14,88 \pm 2,22$ /n=6/	–
Метафаза	$10,22 \pm 0,84$ /n=6/	$14,88 \pm 1,72$ /n=6/	–
Анафаза	$4,18 \pm 0,30$ /n=6/	$5,50 \pm 0,33$ /n=6/	–
Телофаза	$12,64 \pm 0,24$ /n=6/	$11,25 \pm 0,86$ /n=6/	–
Общая продолжительность митоза, начиная с поздней профазы	$32,82 \pm 1,93$ /n=6/	$35,50 \pm 3,04$ /n=6/	–

**Продолжительность фаз митоза стромальных клеток кроветворных
органов экспериментальных животных, подвергшихся
комбинированному воздействию СВЧ-О и рентгеновскому облучению
в дозе 0,5 Гр ($M \pm m$)**

Фаза митоза	Тип клеток		
	лимфатиче- ские узлы	тимус	костный мозг
Поздняя профаза	$15,20 \pm 2,15$ /n=5/	$13,40 \pm 1,72$ /n=5/	$15,63 \pm 1,44$ /n=5/
Метафаза	$8,86 \pm 0,97$ /n=5/	$9,40 \pm 0,81$ /n=5/	$7,20 \pm 0,49$ /n=5/
Анафаза	$5,60 \pm 0,24$ /n=5/	$5,40 \pm 0,24$ /n=5/	$4,20 \pm 0,37$ /n=5/
Телофаза	$10,00 \pm 0,55$ /n=5/	$9,60 \pm 0,68$ /n=5/	$11,40 \pm 0,17$ /n=5/
Общая продолжительность митоза, начиная с поздней профазы	$39,60 \pm 1,94$ /n=5/	$37,83 \pm 2,08$ /n=5/	$38,40 \pm 1,44$ /n=5/

**Количество мегакариоцитов в костном мозге интактных
экспериментальных животных и животных, подвергшихся
радиационному воздействию ($M \pm m$)**

Дозы облучения		Период после облучения			
		1-е сутки		7-е сутки	
Контроль		2,50 ± 0,06 /n=10/			
РО	2,0 Гр	1,84 ± 0,09	/n=5/	2,14 ± 0,07	/n=5/
РО	1,0 Гр	2,07 ± 0,14	/n=5/	2,22 ± 0,10	/n=5/
РО	0,5 Гр	2,33 ± 0,06	/n=5/	2,56 ± 0,08	/n=5/
СВЧ-О	0,25 мВт/см²	2,52 ± 0,06	/n=5/	2,54 ± 0,17	/n=5/
Комбинир. облучение 0,25 мВт/см² ± 0,5 Гр		2,43 ± 0,12	/n=5/	2,54 ± 0,08	/n=5/

**Количество лейкоцитов, взаимодействующих с мегакариоцитами
костного мозга экспериментальных животных ($M \pm m$)**

Дозы облучения		Период после облучения			
		1-е сутки		7-е сутки	
Контроль		0,89 ± 0,06 /n=10/			
РО	2,0 Гр	0,38 ± 0,03	/n=5/	0,35 ± 0,12	/n=5/
РО	1,0 Гр	0,53 ± 0,94	/n=5/	0,62 ± 0,06	/n=5/
РО	0,5 Гр	0,97 ± 0,04	/n=5/	1,01 ± 0,05	/n=5/
СВЧ-О	0,25 мВт/см ²	1,07 ± 0,08	/n=5/	1,17 ± 0,06	/n=5/
Комбинир. облучение 0,25 мВт/см ² ± 0,5 Гр		1,23 ± 0,08	/n=5/	1,49 ± 0,09	/n=5/

Хронометрический анализ скорости разрушения сегментоядерными нейтрофильными лейкоцитами мегакариоцитов костного мозга экспериментальных животных, подвергшихся радиационному воздействию ($M \pm m$)

Дозы облучения	Период после облучения			
	1-е сутки		7-е сутки	
Контроль	19,60 ± 1,96 /n=10/			
PO 0,3 Гр	18,60 ± 2,06	/n=5/		
PO 0,5 Гр	18,80 ± 2,29	/n=5/		
PO 1,0 Гр	48,80 ± 3,06	/n=5/		
PO 2,0 Гр	51,20 ± 2,15	/n=5/		
СВЧ-О	21,20 ± 3,18	/n=5/	20,80 ± 3,06	/n=5/
СВЧ-О ± 0,5 Гр	17,00 ± 3,22	/n=5/	14,80 ± 1,77	/n=5/

Количество мегакариоцитов в костном мозге интактных экспериментальных животных и животных, подвергшихся радиационному воздействию ($M \pm m$)

Дозы облучения		Период после облучения			
		1-е сутки		7-е сутки	
Контроль		2,50 ± 0,06 /n=10/			
РО	2,0 Гр	1,84 ± 0,09	/n=5/	2,14 ± 0,07	/n=5/
РО	1,0 Гр	2,07 ± 0,14	/n=5/	2,22 ± 0,10	/n=5/
РО	0,5 Гр	2,33 ± 0,06	/n=5/	2,56 ± 0,08	/n=5/
СВЧ-О	0,25 мВт/см²	2,52 ± 0,06	/n=5/	2,54 ± 0,17	/n=5/
Комбинир. облучение 0,25 мВт/см² ± 0,5 Гр		2,43 ± 0,12	/n=5/	2,54 ± 0,08	/n=5/

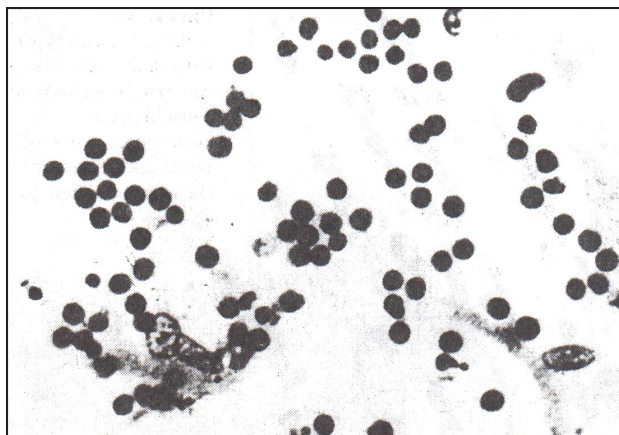


Рис. 1. Лимфоциты зоны роста первичной культуры тимуса интактного экспериментального животного. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 400$.

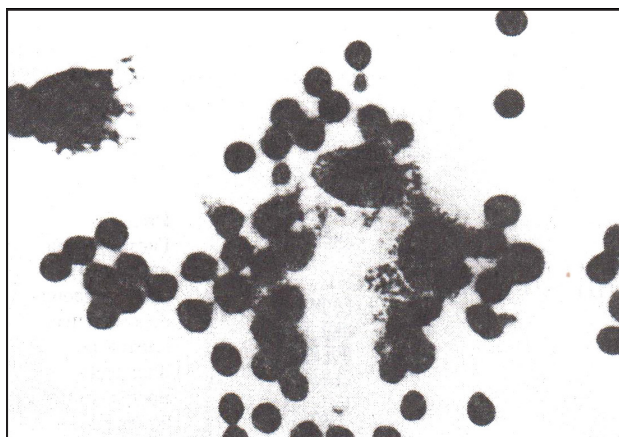


Рис. 2. Лимфоциты зоны роста первичной культуры лимфатического узла интактного экспериментального животного. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 900$.

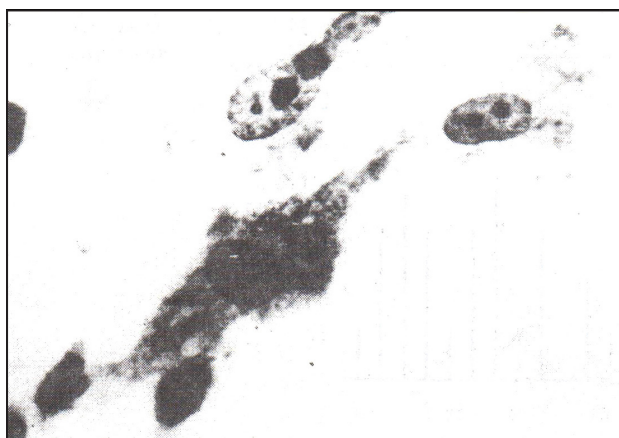


Рис. 3. Стромальные клетки зоны роста культуры лимфатического узла интактного экспериментального животного. Срок культивирования 4 дня. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 900$.

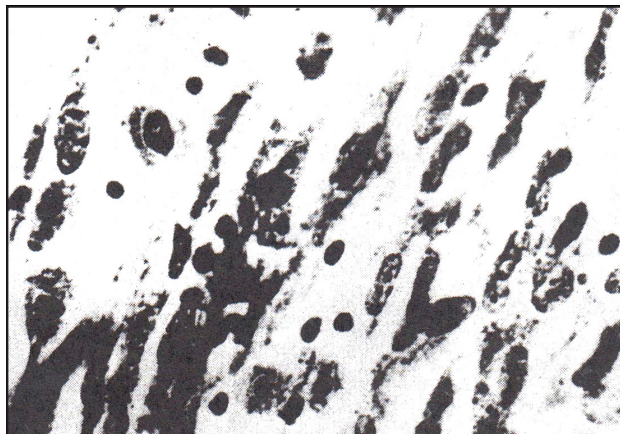


Рис. 4. Зона роста культуры тимуса интактного животного на 5-й день после начала культивирования. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 400$.

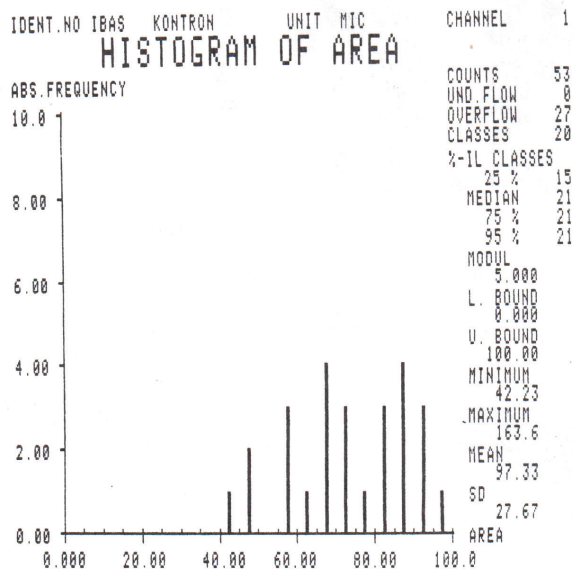


Рис. 5. Гистограмма частотного распределения стромальных клеток по площадям профиля ядер в зонах роста первичных культур тимуса интактных животных.

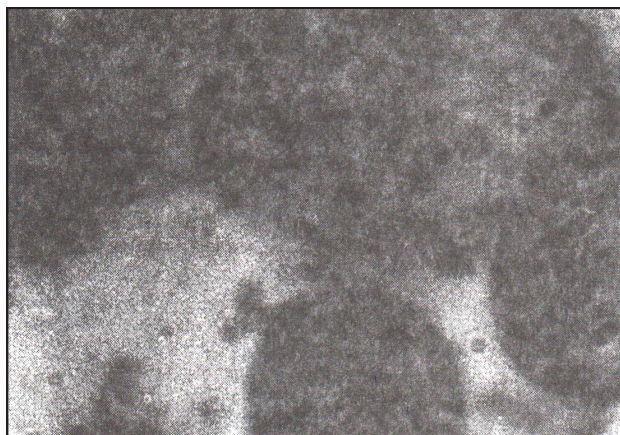


Рис. 8. ШИК-реакция в стромальных клетках зоны роста культуры костного мозга интактного экспериментального животного. Тотальный препарат. Увеличение $\times 900$.

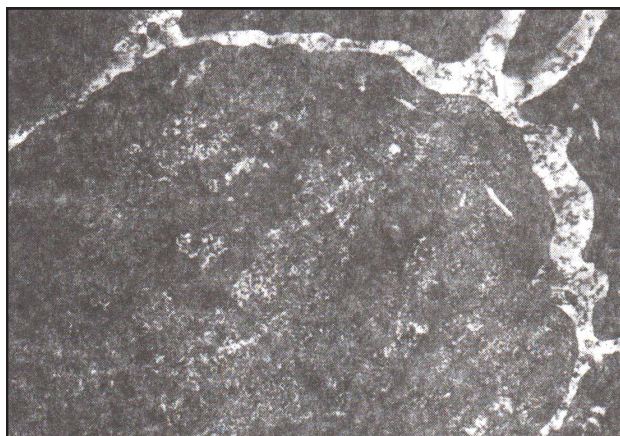


Рис. 9. Стромальная клетка в зоне роста 5-дневной культуры лимфатического узла интактной белой крысы. Электронная микрофотография. Увеличение $\times 6800$.



Рис. 10. Митотически делящиеся стромальные клетки в зоне роста первичной культуры лимфатического узла. Срок культивирования 5 дней. Тотальный препарат. Окраска по Джентеру-Гимзе. Увеличение $\times 400$.



Рис. 11. Различные фазы митотического деления стромальных клеток в зоне роста 5-дневной культуры тимуса. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 900$.

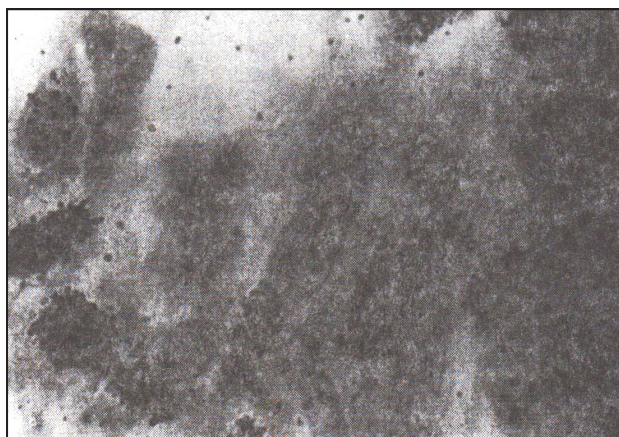


Рис. 12. Распределение метки 3Н-тимидина в ядрах стромальных клеток 5-дневной культуры тимуса интактных животных через 3 часа после импульсного введения в культуру радиоактивного предшественника ДНК. Тотальный препарат. Окраска гематоксилином. Радиоавтограф. Увеличение $\times 400$.

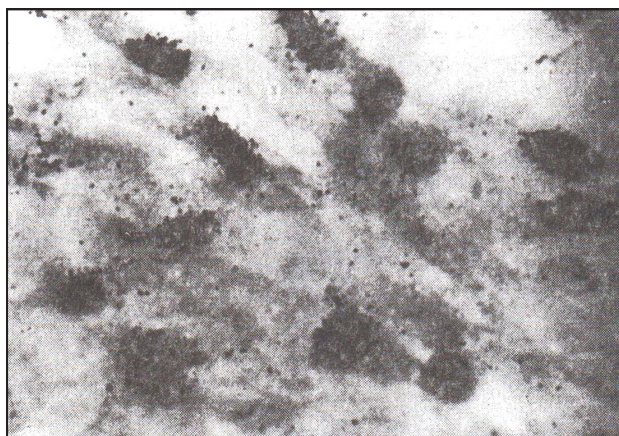


Рис. 13. Меченые митозы стромальных клеток через 6 часов после импульсного введения в культуру костного мозга 3Н-тимидина. Тотальный препарат. Окраска гематоксилин-эозином. Радиоавтограф. Увеличение $\times 400$.

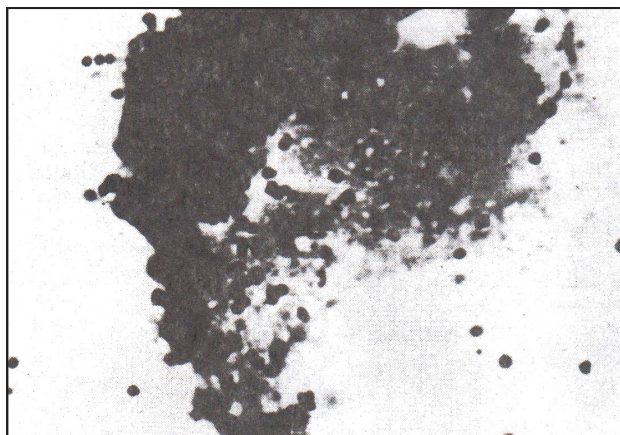


Рис. 14. Включение радиоактивного предшественника РНК-ЗН-уридина стромальными клетками зоны роста первичной культуры тимуса интактного животного через 12 часов после переноса культуры в среду, не содержащую изотопа. Тотальный препарат. Окраска гематоксилин-эозином. Радиоавтограф. Увеличение $\times 900$.

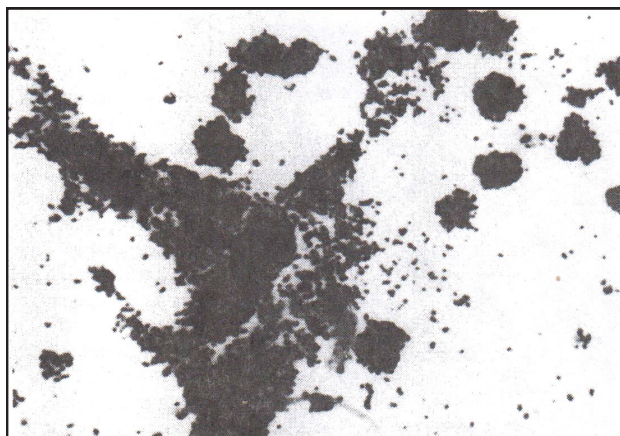


Рис. 15. Включение клетками зоны роста первичной культуры костного мозга интактного животного радиоактивного предшественника белка ^{35}S -метионина. Тотальный препарат. Окраска гематоксилин-эозином. Радиоавтограф. Увеличение $\times 400$.

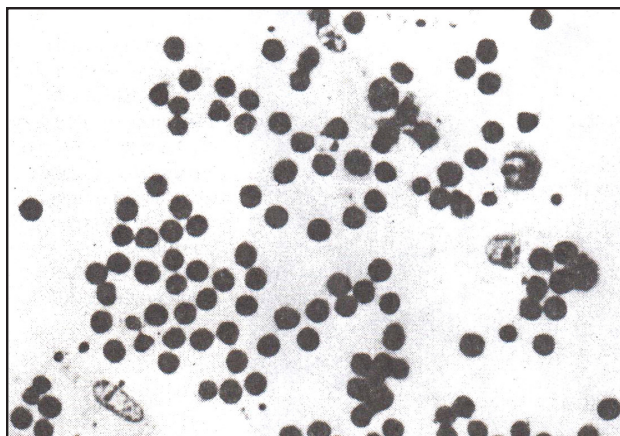


Рис. 16. Лимфоидные комплексы в зоне роста 5-дневной культуры тимуса интактного животного. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 400$.

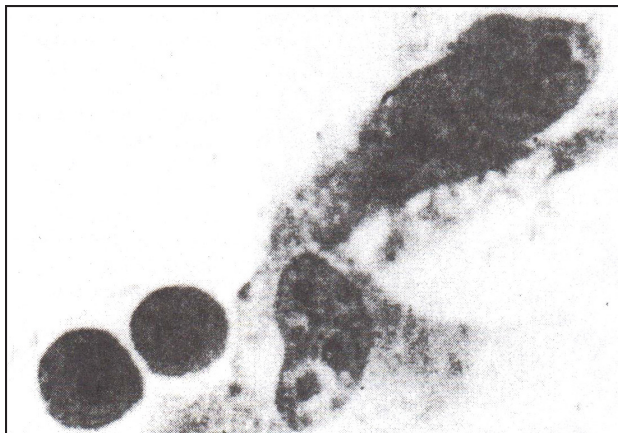


Рис. 17. Митозы среди лимфоцитов зон роста первичных культур тимуса интактного экспериментального животного. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 900$.

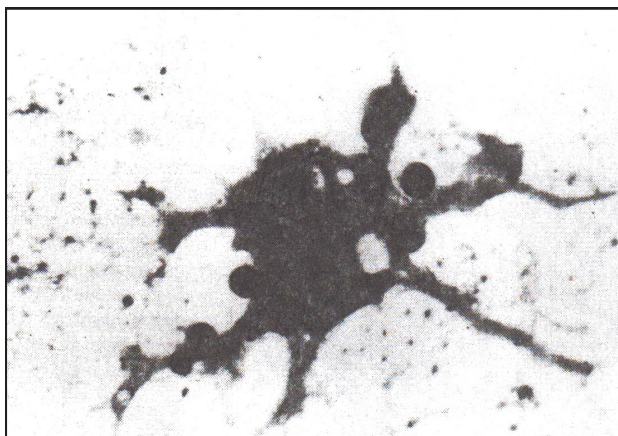


Рис. 18. Макрофаг зоны роста первичной культуры лимфатического узла интактного животного. Срок культивирования 5 дней. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 700$.



Рис. 19. Формирование фагоцитарной вакуоли макрофагом в зоне роста 5-дневной культуры тимуса. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 900$.

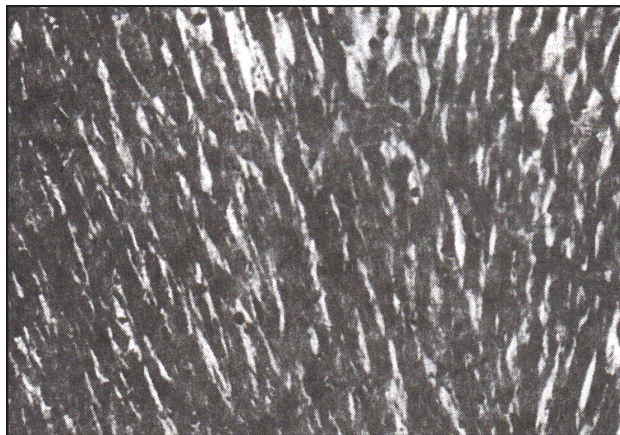


Рис. 20. Зона роста культуры лимфатического узла белой интактной крысы, состоящая из стромальных фибробластов. Срок культивирования 8 суток. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 200$.



Рис. 21. Трансформация стромальных фибробластов в макрофаги в полостях «разжижения» в зонах роста первичных культур лимфатического узла белой крысы. Срок культивирования 6 дней. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 400$.

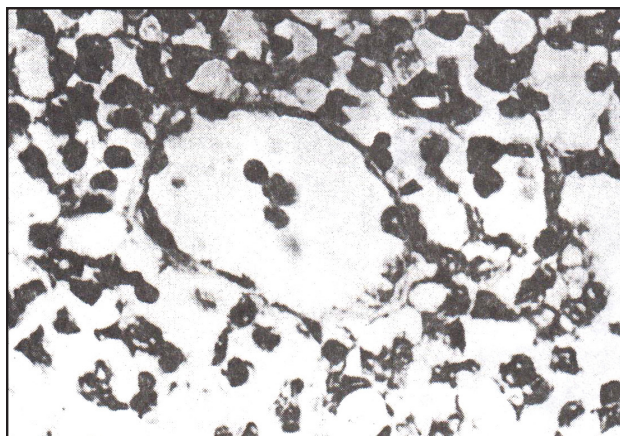


Рис. 22. Синус мозгового слоя брыжеечного лимфатического узла белой крысы. Гистологический препарат. Окраска по Паппенгейму. Увеличение $\times 200$.

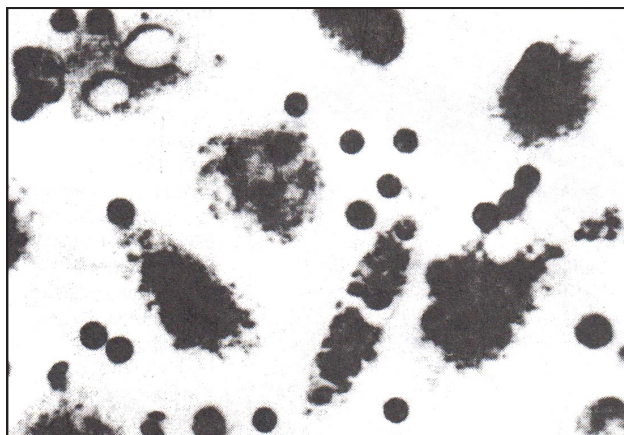


Рис. 23. Трансформация в макрофаги стромальных фибробластов в полостях «разжижения» культур лимфатического узла интактного экспериментального животного. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 400$.

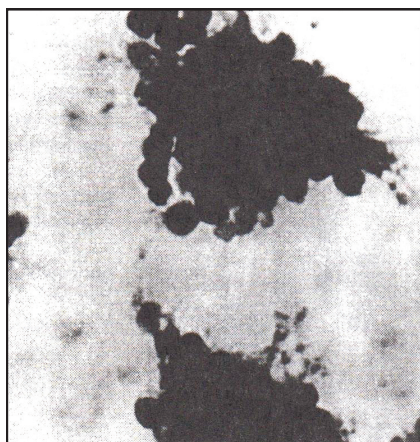


Рис. 24. Приклеивание лимфоцитов к макрофагам в зоне роста первичной культуры тимуса интактного животного. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 900$.

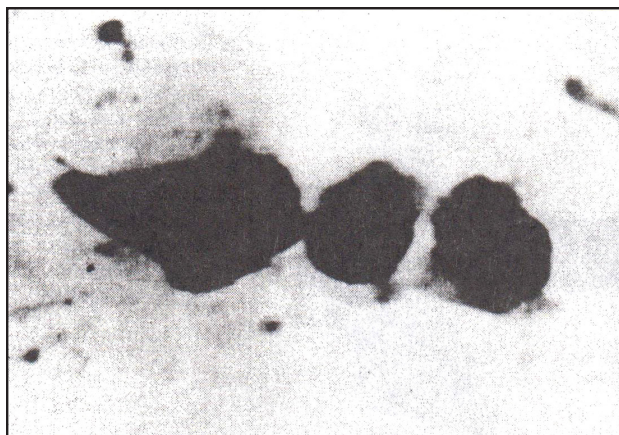


Рис. 25. Лимфоциты различных размеров в зоне роста 5-дневной первичной культуры тимуса экспериментального животного, подвергнутого рентгеновскому облучению в дозе 0,3 Гр. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 900$.

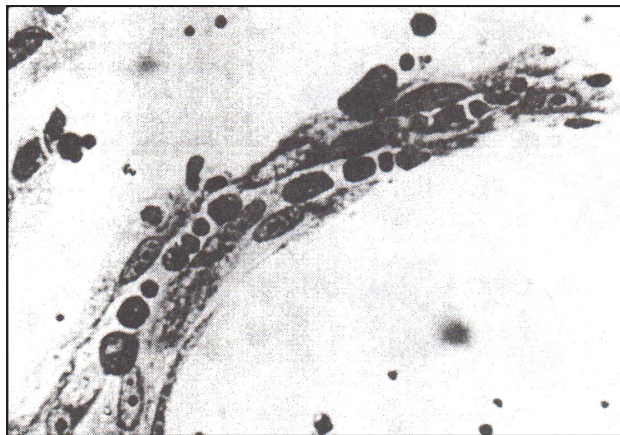


Рис. 26. Разнообразные переходные формы лимфоидных клеток, расположенные среди стромальных элементов в зоне роста 5-дневной культуры лимфатического узла экспериментального животного, подвергнутого СВЧ-облучению. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 400$.

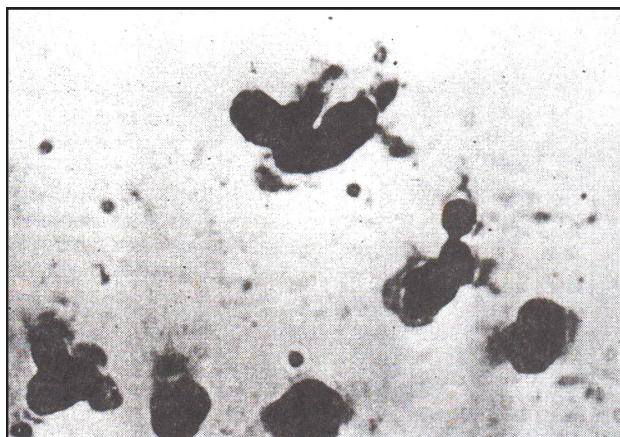


Рис. 27. Лимфоциты зоны роста 5-дневной первичной культуры тимуса экспериментального животного, подвергнутого рентгеновскому облучению в дозе 0,3 Гр. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 400$.

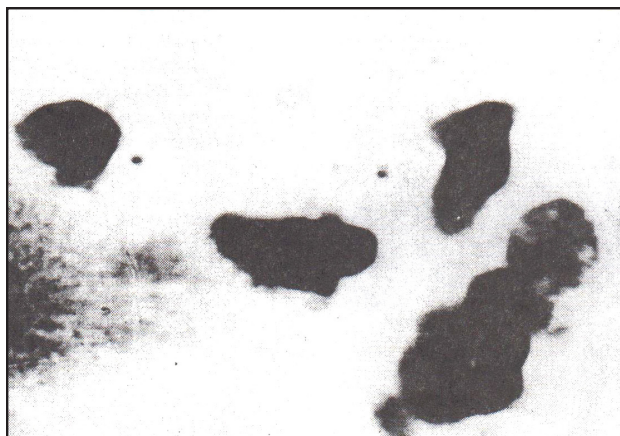


Рис. 28. Лимфоциты, имеющие разнообразную форму ядер, в зонах роста 5-дневной первичной культуры лимфатического узла животного, подвергнутого СВЧ-облучению. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 400$.



Рис. 29. Лимфоциты зоны роста 5-дневной культуры лимфатического узла, контактирующие со стромальной клеткой по типу периполезиса. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 750$.

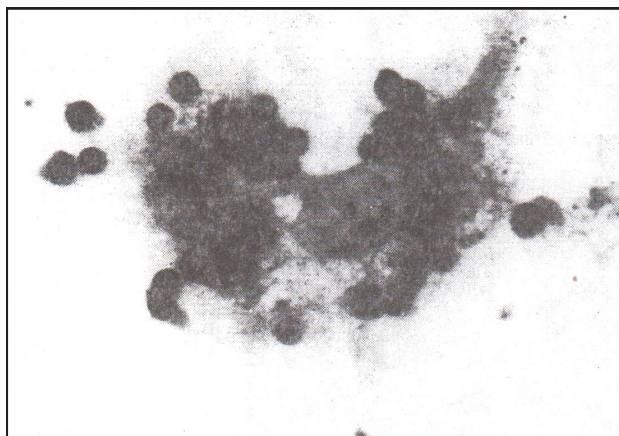


Рис. 30. Лимфоидные клетки различной степени зрелости, контактирующие с поверхностью стромальной клетки в зоне роста 5-дневной культуры. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 750$.

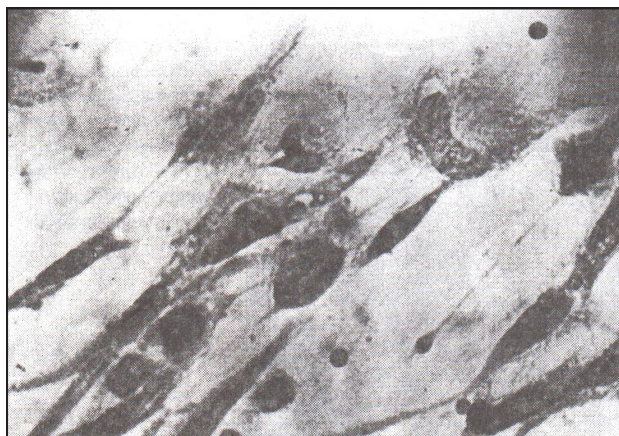


Рис. 31. Зона роста 5-дневной культуры тимуса экспериментального животного, подвергнутого рентгеновскому облучению в дозе 1,0 Гр. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 400$.

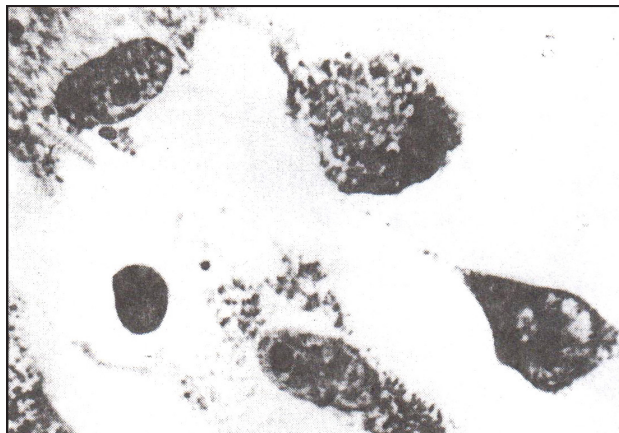


Рис. 32. Разрыв цитоплазматических связей между клетками зоны роста 5-дневной первичной культуры лимфатического узла экспериментального животного, подвергнутого рентгеновскому облучению в дозе 2,0 Гр. Окраска по Брассе. Увеличение $\times 900$.



Рис. 33. Фрагмент стромальной клетки тимуса белой крысы, подвергнутой рентгеновскому облучению в дозе 2,0 Гр. Электронная микрофотография. Увеличение $\times 6800$.



Рис. 34. Фрагмент стромальной клетки костного мозга белой крысы, подвергнутой рентгеновскому облучению в дозе 2,0 Гр. Электронная микрофотография. Увеличение $\times 6800$.



Рис. 35. Стромальные клетки зоны роста 5-дневной культуры лимфатического узла экспериментального животного, подвергнутого рентгеновскому облучению в дозе 2,0 Гр. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 900$.

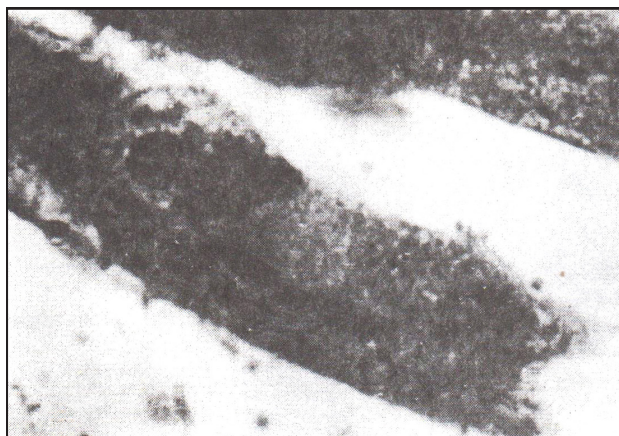


Рис. 36. Стромальные клетки с гигантскими ядрами и скоплением ядер в зоне роста 5-дневной культуры тимуса экспериментального животного, подвергнутого рентгеновскому облучению в дозе 2,0 Гр. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 900$.

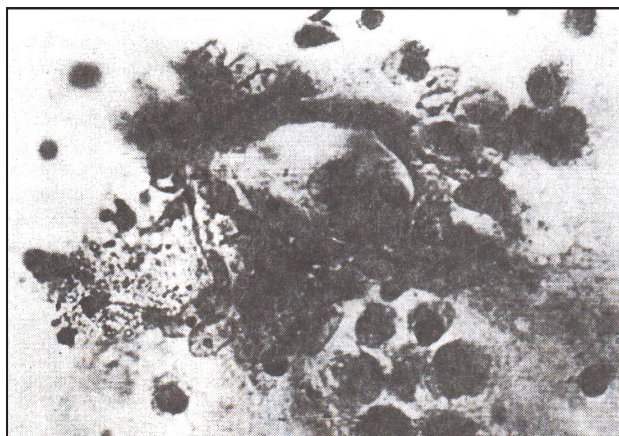


Рис. 37. Многоядерные атипичные комплексы в зоне роста первичной культуры тимуса экспериментального животного, подвергнутого рентгеновскому облучению в дозе 2,0 Гр. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 400$.

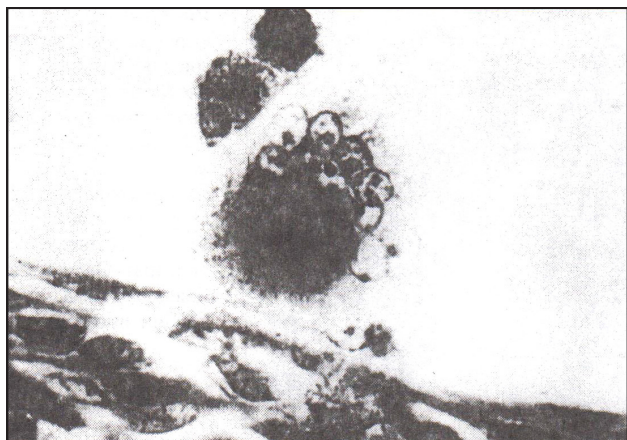


Рис. 38. Многоядерный комплекс с резкой ШИК-положительной реакцией в зоне роста первичной культуры лимфатического узла экспериментального животного, подвергнутого рентгеновскому облучению в дозе 2,0 Гр. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 400$.

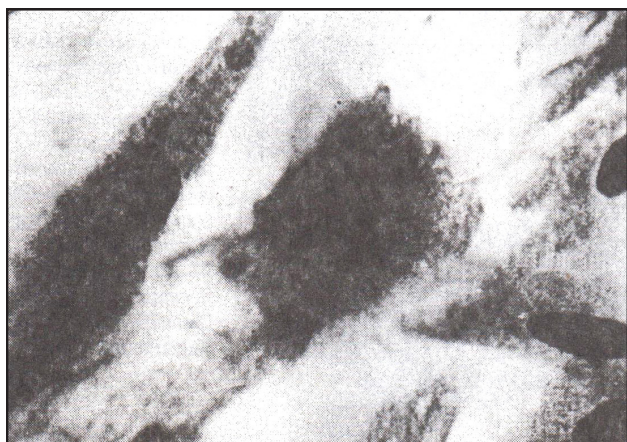


Рис. 39. Митотическое деление 2-ядерной стромальной клетки зоны роста 5-дневной культуры тимуса экспериментального животного, подвергнутого рентгеновскому облучению в дозе 2,0 Гр. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 400$.



Рис. 40. Патологический митоз стромальной клетки зоны роста 5-дневной первичной культуры тимуса экспериментального животного, подвергнутого рентгеновскому облучению в дозе 2,0 Гр. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 900$.

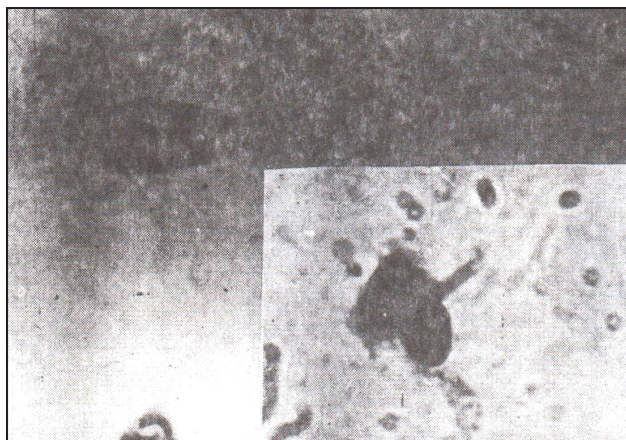


Рис. 41. Хроматидные мосты при патологических митозах. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 400$.

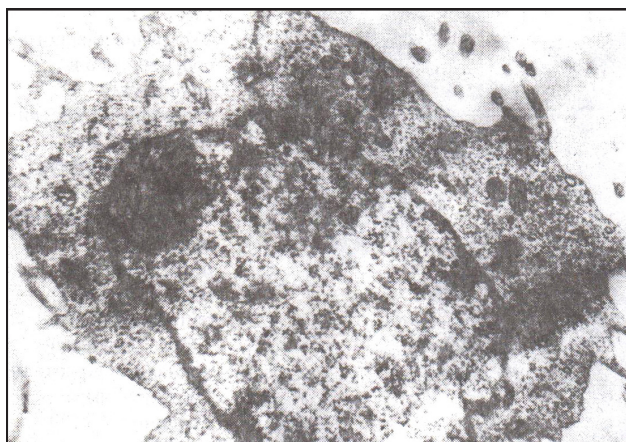


Рис. 42. Цитоплазматические выбросы на поверхности стромальной клетки зоны роста 5-дневной культуры тимуса экспериментального животного, подвергшегося рентгеновскому облучению в дозе 2,0 Гр. Тотальный препарат. Электронная микрофотография. Увеличение $\times 6800$.



Рис. 43. Стромальные клетки с перешнуровками ядер. Тотальный препарат. Электронная микрофотография. Увеличение $\times 900$.

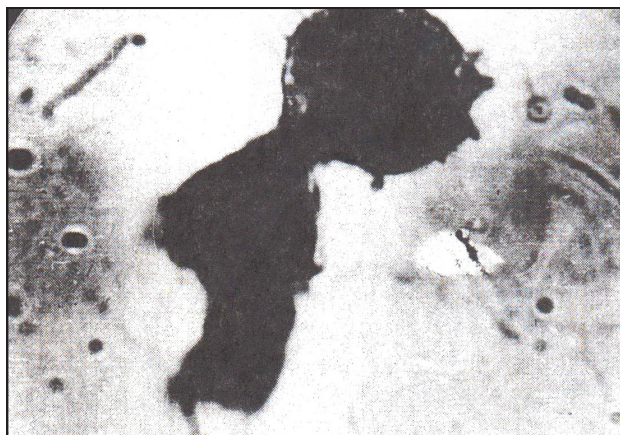


Рис. 44. 2-ядерная стромальная клетка с цитоплазматической перетяжкой. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 900$.

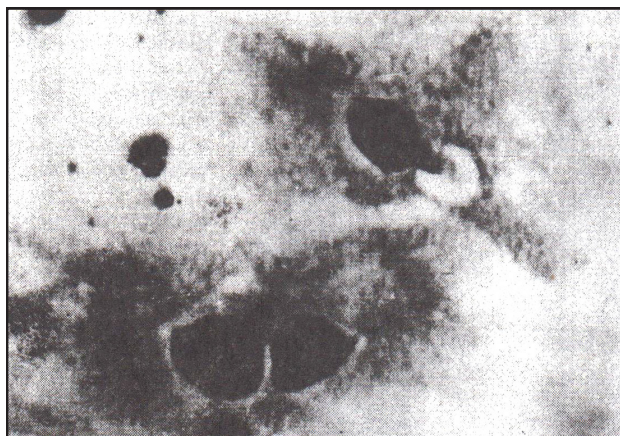


Рис. 45. Экструзия ядерного содержимого в цитоплазму стромальной клетки зоны роста 5-дневной культуры тимуса экспериментального животного, подвергнутого рентгеновскому облучению в дозе 1,0 Гр. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 400$.

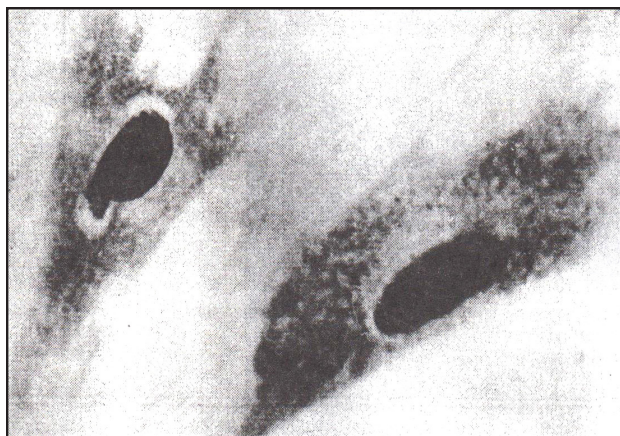


Рис. 46. Последовательные стадии экструзии ядерного материала в цитоплазму стромальных клеток. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 400$.

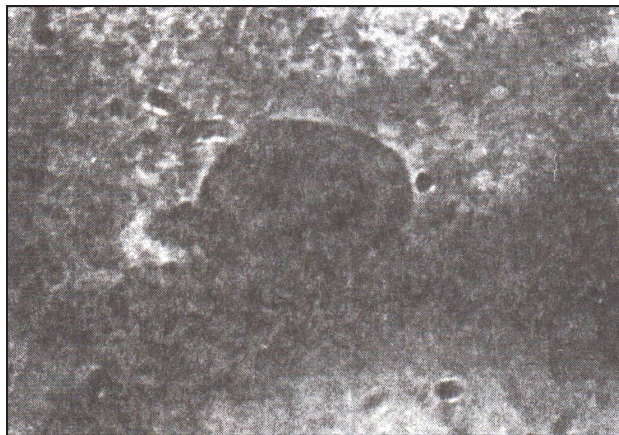


Рис. 47. Перемещение ядерного материала из гигантского ядра в цитоплазму стромальной клетки в зоне роста 5-дневной первичной культуры лимфатического узла экспериментального животного, подвергнутого рентгеновскому облучению в дозе 2,0 Гр. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 900$.



Рис. 48. Экструзия содержимого гигантского ядра в цитоплазму стромальной клетки в зоне роста 5-дневной первичной культуры тимуса экспериментального животного, подвергнутого рентгеновскому облучению в дозе 2,0 Гр. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 900$.



Рис. 49. Процесс выделения ядерного материала в цитоплазму стромальной клетки. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 900$.



Рис. 50. Состояние метаболического взрыва стромальной клетки зоны роста первичной культуры лимфатического узла экспериментального животного, подвергнутого рентгеновскому облучению в дозе 2,0 Гр. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 900$.

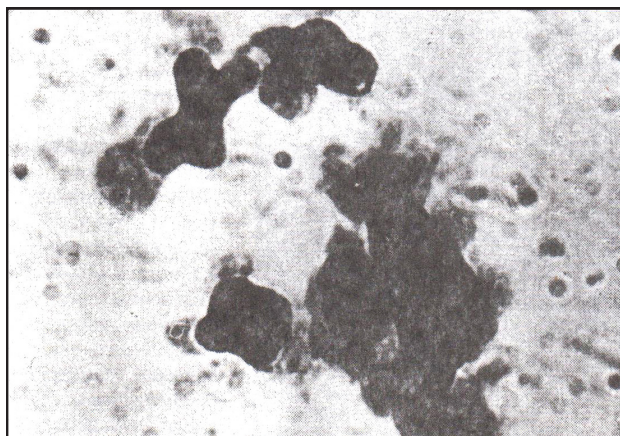


Рис. 51. Многообразие формы клеток в зоне роста культуры тимуса экспериментального животного, подвергнутого комбинированному воздействию СВЧ- и рентгеновского облучения. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 900$.



Рис. 52. Лимфоидные клетки различной степени зрелости в зоне роста 5-дневной культуры костного мозга экспериментального животного, подвергнутого комбинированному воздействию СВЧ- и рентгеновского облучения. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 1200$.

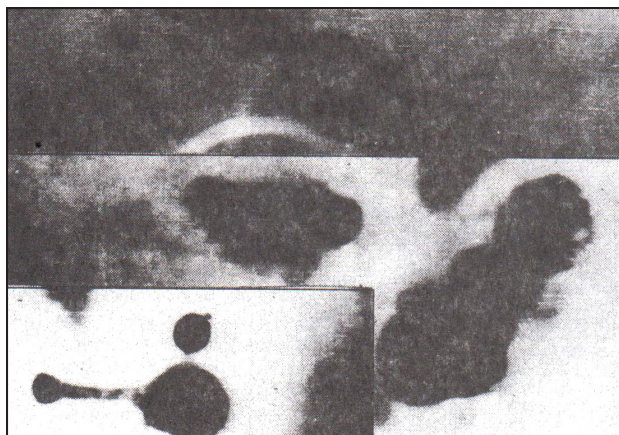


Рис. 53. Лимфоциты, зафиксированные в момент движения в зоне роста первичной культуры тимуса экспериментального животного, подвергнутого комбинированному воздействию СВЧ- и рентгеновского облучения. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 400$.

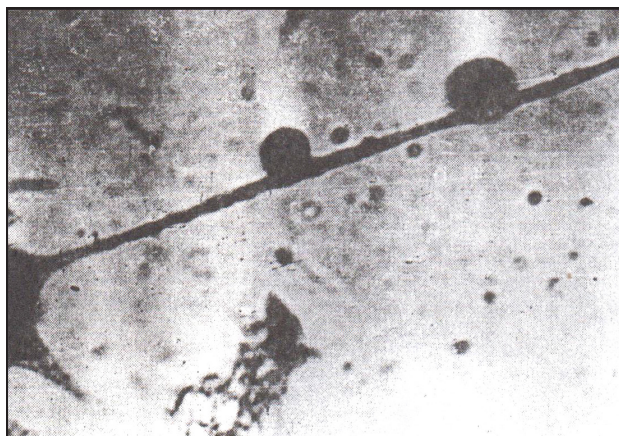


Рис. 54. Лимфоциты, взаимодействующие со стромальной клеткой по типу периполезиса, в зоне роста первичных культур тимуса экспериментального животного, подвергнутого комбинированному воздействию СВЧ- и рентгеновского облучения в дозе 0,5 Гр. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 900$.

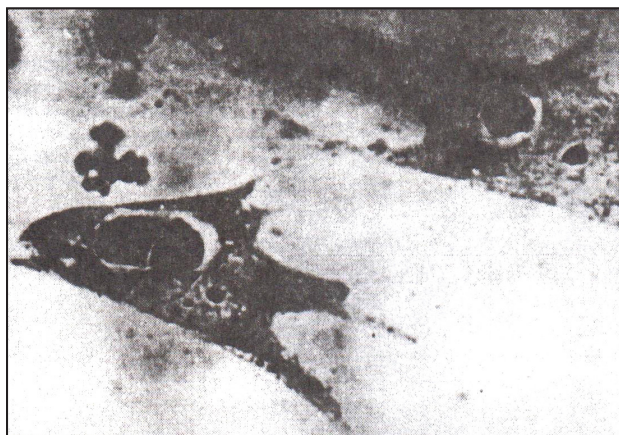


Рис. 55. Эмпериполезис в зоне роста 5-дневной культуры тимуса экспериментального животного, подвергнутого комбинированному воздействию СВЧ- и рентгеновского облучения в дозе 0,5 Гр. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 900$.



Рис. 56. Делящийся лимфоцит и взаимодействующие по типу эмпериполезиса клетки в зоне роста 5-дневной культуры лимфатического узла экспериментального животного, подвергнутого комбинированному воздействию СВЧ- и рентгеновского облучения в дозе 0,5 Гр. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 900$.

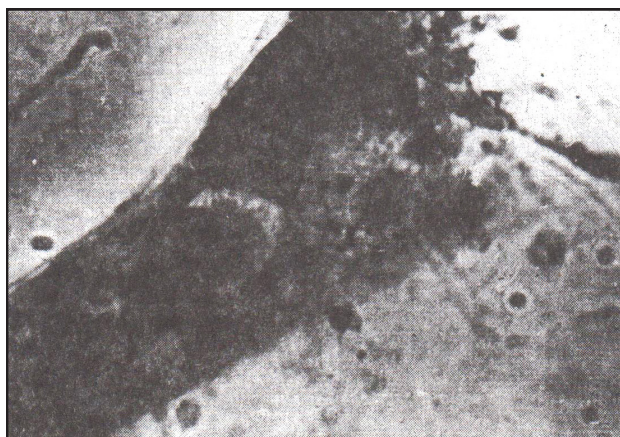


Рис. 57. Стромальная клетка, взаимодействующая с лимфоцитом по типу эмпериполезиса в зоне роста первичной культуры лимфатического узла интактной белой крысы. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 900$.



Рис. 58. Митотически делящиеся лимфоциты в цитоплазматической вакуоли стромальной клетки в зоне роста первичной культуры лимфатического узла интактной белой крысы. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 900$.



Рис. 59. Эмпериполезис в зоне роста 5-дневной первичной культуры тимуса экспериментального животного, подвергнутого рентгеновскому облучению в дозе 0,3 Гр. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 400$.



Рис. 60. Бласттрансформированный лимфоцит в цитоплазматической вакуоли стромальной клетки зоны роста первичной культуры лимфатического узла интактной белой крысы. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 900$.

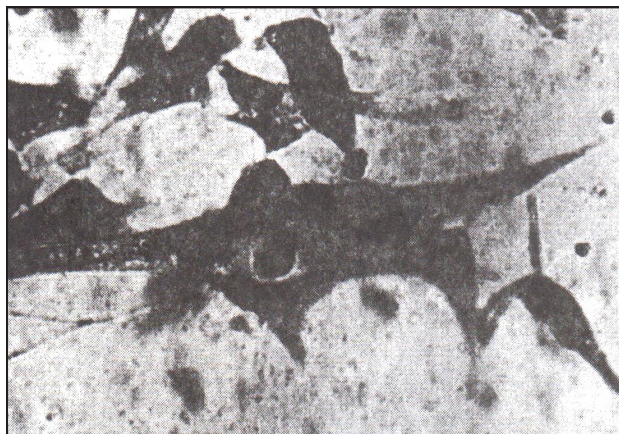


Рис. 61. Фагоцитирующая стромальная клетка в зоне роста первичной культуры лимфатического узла белой крысы. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 750$.

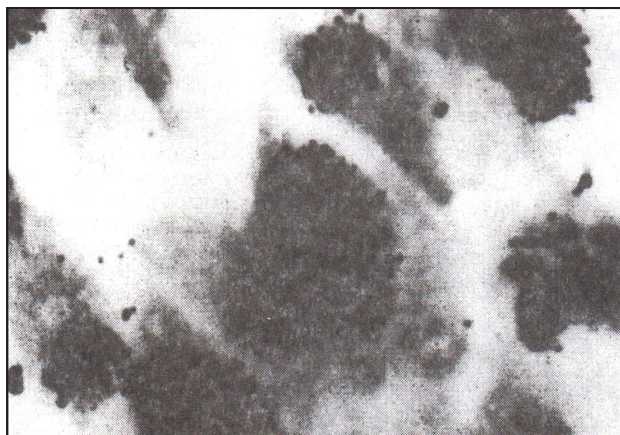


Рис. 62. Включение Н-тимидина стромальными клетками зоны роста первичной культуры тимуса экспериментального животного, подвергнутого рентгеновскому облучению в дозе 0,3 Гр. Тотальный препарат. Радиоавтограф. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 900$.



Рис. 63. Лимфоцит, находящийся в вакуоли цитоплазмы стромальной клетки, синтезирующей радиоактивный предшественник ДНК – тимидин, меченый тритием. Радиоавтограф. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 750$.

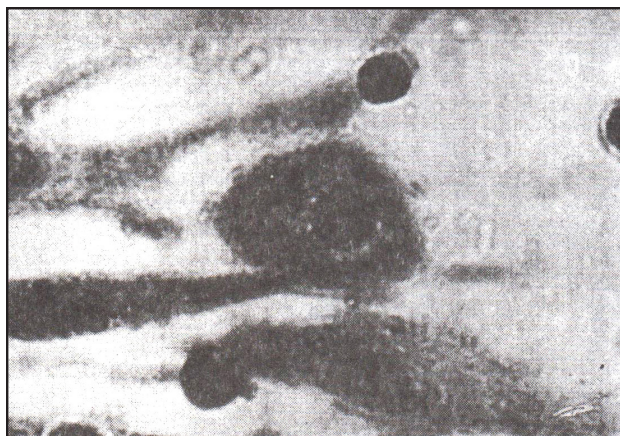


Рис. 64. Лимфоцит, находящийся в цитоплазматической вакуоли митотически делящейся стромальной клетки. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 400$.

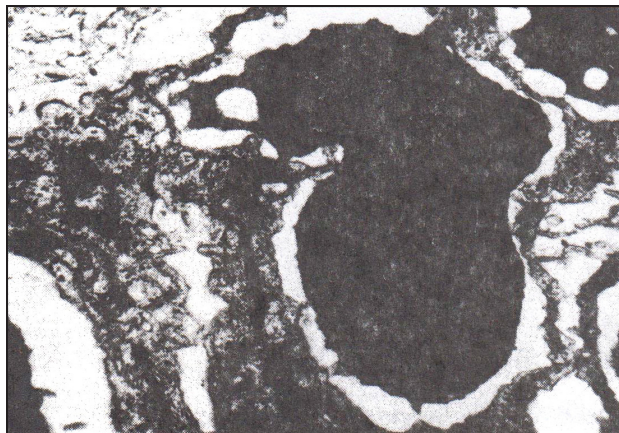


Рис. 65. Фрагмент стромальной клетки, содержащей в цитоплазматической вакуоли лимфоцит. Электронная микрофотография. Увеличение $\times 1200$.



Рис. 66. Вакуоль эмperiоплезиса в цитоплазме стромальной клетки. Электронная микрофотография. Увеличение $\times 6800$.



Рис. 67а, б, в. Кинематографическая регистрация передвижения лимфоцита, взаимодействующего со стромальной клеткой по типу эмпериполезиса. Увеличение $\times 900$.





Рис. 68. Взаимодействие между лимфоцитом и стромальной клеткой по типу незавершенного эмбриополезиса в зоне роста первичной культуры тимуса экспериментального животного, подвергшегося рентгеновскому облучению в дозе 2,0 Гр. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 750$.

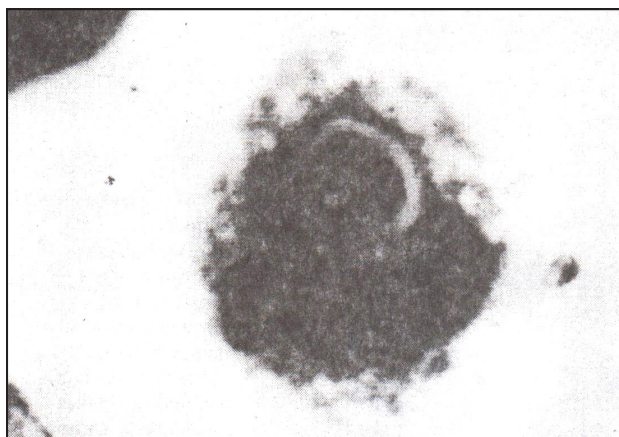


Рис. 69. Стромальная клетка, выделившаяся из общего массива клеток зоны роста, и лимфоцит, находящийся в ее цитоплазматической вакуоли, в зоне роста 5-дневной первичной культуры экспериментального животного, подвергшегося рентгеновскому облучению в дозе 2,0 Гр. Тотальный препарат. Окраска по Дженнеру-Гимзе. Увеличение $\times 400$.



Рис. 70. Тромбоцитогенный мегакариоцит костного мозга интактного экспериментального животного. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение $\times 900$.

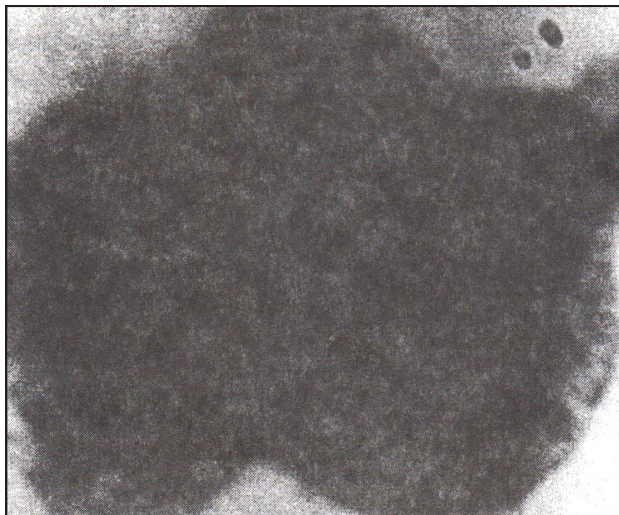


Рис. 71. Мегакариоцит костного мозга интактного экспериментального животного. Обильные включения гликогена в цитоплазме тромбоцитогенного мегакариоцита. ШИК-реакция. Увеличение $\times 1200$.



Рис. 72. Мегакариоцит костного мозга интактного экспериментального животного. В цитоплазме видны сегментоядерные лейкоциты. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение $\times 1200$.



Рис. 73. Сегментоядерные лейкоциты, взаимодействующие с мегакариоцитом костного мозга. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение $\times 1200$.



Рис. 74. Лимфоцит, взаимодействующий с мегакариоцитом костного мозга интактного экспериментального животного. Электронная микрофотография. Увеличение $\times 10200$.

