

ВМІСТ КЛІТИН КІСТКОВОГО МОЗКУ ПРИ ДІЇ РАДІАЦІЇ ТА СВИНЦЮ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

(м. Дніпропетровськ)

Робота є фрагментом наукової теми «Розвиток і морфо-функціональний стан органів і тканин експериментальних тварин і людей у нормі, в онтогенезі під впливом зовнішніх факторів», № держ. реєстрації 0111U009598

Вступ. Для чинників урбанізованого і техногенного середовища характерні широкі загальні спектри забруднювачів, серед яких особливе місце займають іонізуюче випромінювання та важкі метали [1, 3]. Вони надходять в організм людей і тварин з їжею, водою та повітрям, накопичуються в ньому, створюючи передумови для розвитку стадійних токсикозів, здатних до прогресування та генерації патологічного процесу [1, 4].

Більшість з них стосується інтоксикацій при нормальному радіаційному фоні [2]. Прояви сполученої дії радіаційного і хімічного фактора не завжди чітко виявляються і прогножуються [3, 4]. Однак у науковій літературі питання про сполучену дію радіації і хімічних поллютантів, у тому числі важких металів, висвітлюється широко [1, 4]. При цьому вказується, що особливого значення набуває проблема зміни чутливості опроміненого організму до наступного впливу токсичних факторів навколишнього середовища [4]. Інформація про свинцеву інтоксикацію при наявності підвищеного радіаційного фону стосується, в основному, змін біохімічних показників (системи перекисного окиснення ліпідів, антиоксидантної системи тощо) [1, 3, 5]. Мало робіт, присвячених вивченню кількісного вмісту клітин кісткового мозку при сполученому впливі радіації і важких металів. Враховуючи те, що кістковий мозок має край високу радіочутливість, а свинець впливає на розвиток анемії, оцінка результатів їх сполученого впливу має велике не тільки теоретичне, але і практичне значення [4, 7, 8, 9].

Метою дослідження було вивчення ефектів роздільної і комбінованої дії зовнішнього опромінення і свинцю на вміст мієлокаріоцитів у кістковому мозку щурів.

Об'єкт і методи дослідження. Використовували 140 білих нелінійних щурів обох статей з початковою масою тіла 200-230 г ($220,1 \pm 15,1$ г). Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на

тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Тварин ділили на 7 груп по 20 особин в кожній групі. Загальне гамма-опромінення здійснювали з використанням установки «Рокус» (Росія), джерело ^{60}Co , потужність експозиційної дози $4,3 \cdot 10^{-4}$ Кл/(кг·с). Опромінення (окрім тварин 3 і 7 групи) проводили однократно тотально дозами 0,5 Гр (1, 4, 6 групи) і 5 Гр (2, 5 групи). Відразу після опромінення (4, 5 група) і неопромінені (3 група) щурам протягом 10 діб щодня вводили оцтовокислий свинець через металевий зонд у шлунок в токсичній дозі 10 мг/кг [3] з подальшим відновним періодом протягом 20 днів. Паралельно контрольним щурам (6 група), опромінені дозою 0,5 Гр, вводили внутрішньошлунково воду. Для отримання початкових даних використовували інтактних щурів (7 група), яких отримували протягом всього експерименту в ідентичних умовах з рештою тварин. Тварин виводили з експерименту через 1, 3, 5, 10, 20 і 30 діб після опромінення. Останні два терміни відповідають 10 і 20 добам відновного періоду (після закінчення затравки свинцем).

У щурів вищляли гомілки. Суспензію клітин одержували шляхом вимивання кісткового мозку охолодженим середовищем 199. Вміст клітин підраховували в камері Горяєва. Дані виражали у відсотках до кількості клітин кісткового мозку, одержаних в інтактному контролі на відповідний термін дослідження. В процесі експерименту реєстрували загибель тварин.

Статистичну обробку результатів проводили в пакеті програм «Statgraphics 4.0», достовірність оцінювали по t критерію Стюдента.

Результати досліджень та їх обговорення. За результатами експерименту опромінення і навантаження свинцем викликають кількісні зміни у кістковому мозку (рис.). Проте динаміка цього процесу і його вираженість в кожному випадку різні. Так, виявляється чітка дозова залежність зниження клітин кісткового мозку через 3 доби пострадіаційного періоду. Після опромінення дозою 0,5 Гр кількість мієлокаріоцитів зменшується на 24,7% ($p < 0,05$), після опромінення дозою 5 Гр – на 70,2% ($p < 0,001$, в інтактному контролі міститься $124,7 \times 10^6 \pm 4,9 \times 10^6$). В наступні доби відбувається регенерація кісткового мозку, що знаходить відображення у відновленні кількості клітин. Цей процес протікає набагато інтенсивніше при опроміненні меншою дозою, після

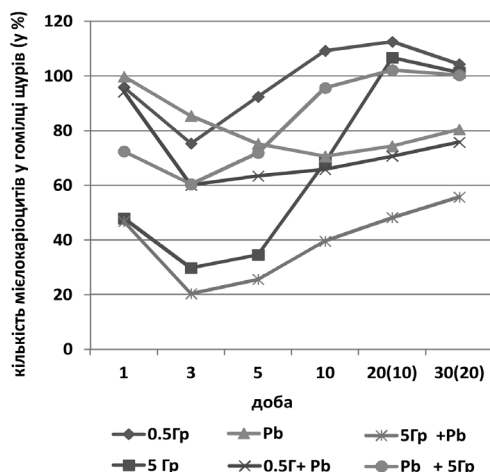


Рис. Динаміка кількості ядерних клітин кістково-мозку після роздільної і поєднаної дії опромінення та ацетату свинцю.

Позначення: по осі x позначена доба після опромінення і періоду дії металу, в дужках дана доба після припинення його дії.

якої в інтервалі між 10-20 добами спостерігається гіперплазія кісткового мозку, внаслідок чого через 20 діб число ядерних клітин перевищує рівень інтактного контролю на 12,5% ($p < 0.05$).

В період свинцевої інтоксикації без опромінення вже через 3 доби після затравки вміст клітин в кістковому мозку достовірно зменшується і максимально знижується через 10 діб на 29,4% ($p < 0.05$). За 10 діб відновного періоду є тенденція до збільшення кількості мієлокаріоцитів, проте, до кінця експерименту повного відновлення клітин не відбувається.

Сумісна дія опромінення і свинцю має ефект, який при більшій дозі опромінення виражений значніше, але при цьому в обох випадках знижується здатність кісткового мозку до регенерації і тому відновлення клітин до кінця експерименту не відбувається.

Через 30 діб після опромінення дозою 0,5 Гр в поєднанні зі свинцем клітин у кістковому мозку, в порівнянні з інтактним контролем, менше на 24,2% ($p < 0.05$), після опромінення дозою 5 Гр – на 44,3% ($p < 0.05$). Спостерігається збільшення смертності тварин. Так, після опромінення дозою 0,5 Гр всі щури до кінця експерименту залишалися живими, при сумісній дії цієї дози опромінення і свинцю через 10 діб загинуло 6,0% тварин.

Після опромінення дозою 5 Гр смертність склала 61,7%, при цьому основна маса тварин загинула на 11-12 добу – 48,3%, що узгоджується з літературними даними і є характерним для гострого радіаційного кістковомозкового синдрому. Після сполученої дії опромінення дозою 5 Гр і свинцю смертність щурів склала 66,7%, при цьому 20,0% тварин гинуло на списі інтоксикації свинцем і 36,7% – на 11-12 добу експерименту.

Література

1. Ананьєва Т. В. Биологические эффекты комбинированного воздействия низкодозового облучения и ионов тяжелых металлов / Т. В. Ананьєва, Е. А. Лихолат, А. И. Дворецкий // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2000. – Т. 40, № 4. – С. 410–415.

Проблема впливу свинцю на організм багатогранна. Він здатний накопичуватися в організмі людини при постійному влученні навіть у невеликих кількостях. У нормі його утримується 7-15 мг, однак у деяких професійних групах його кількість може досягати 135-240 мг, при цьому є два обмінних пули свинцю: швидкий у крові й у м'яких тканинах і повільний – у скелеті. У крові метал розподіляється нерівномірно: 96-98% його фіксується веритроцитах, 2-4% зв'язується з плазменими білками. Більше усього свинцю накопичується в кістках, потім у шкірі, крові, печінці, нирках, при цьому його концентрація в скелеті в десятки, а то й у сотні разів перевищує таку в інших органах. Подібність свинцю з кальцієм у процесах відкладення і переносу обумовлює його сильно виражену тенденцію локалізуватися і накопичуватися в кістках скелету [2]. Підраховано, що 94-95% загальної кількості свинцю в організмі в дорослих, що не піддавалися професійним впливам, знаходиться в кістках. З віком концентрація свинцю в скелеті зростає. У чоловіків до 60-70 років вона досягає 200 мг і більше, для жінок ці цифри нижчі. Кістковий скелет є, таким чином, нагромаджувачем свинцю, де його кількість може бути показником його кумулятивної дії [2]. У сполученні з опроміненням процеси кісткового метаболізму мають додаткові негативні наслідки.

На підставі одержаних даних і фактів, що є в літературі можна припустити, що один з основних механізмів дії свинцю на кістковомозкове кровотворення може зводитися до порушення структури кісткової тканини, яка, як відомо, є компонентом специфічного мікрооточення для стовбурних кровотворних клітин. [6, 7, 9,]. Звідси витікає, що їх функція напряму залежить від вмісту кальцію в кістках і його зниження, характерне для свинцевої інтоксикації, мабуть, блокує здібність цих клітин до проліферації і диференціювання. Таке трактування одержаних даних логічно пояснює механізм затримки відновлення клітин кісткового мозку після затравки свинцем і після поєднаної дії опромінення і свинцю.

Висновки.

1. Опромінення дозами 0,5 і 5,0 Гр знижує кількість мієлокаріоцитів в перші доби спостережень з різницею між дозами 45%, за 20 діб при дозі 0,5 Гр показники перевищують рівень інтактного контролю на 12,5%, при дії дози 5 Гр ефекти відновлення пригнічені.

2. Сумісна дія опромінення і свинцю до кінця експерименту різко знижує здатність кісткового мозку до регенерації, при цьому різниця показників між дозами опромінення складає 20%.

Перспективи подальших досліджень спрямовані на комплексне вивчення впливу радіації та важких металів при моделюванні патологічних процесів у тварин.

2. Ахметзянова Э. Х. Роль свинца в формировании артериальной гипертензии (обзор литературы) / Э. Х. Ахметзянова, А. Б. Бакиров // Медицина труда и пром. экология. – 2006. – № 5. – С. 17–22.
3. Иваницкая Н. Ф. Сочетанное действие металлов и радиации / Н. Ф. Иваницкая // Тяжелые металлы во внешней среде: Современные гигиенические и токсикологические аспекты. – Минск : Наука і тэхніка, 1994. – С. 163–197.
4. Коршун М. М. Обгрунтування показників адекватної оцінки поєднаної дії іонізуючого випромінювання та хімічних забруднювачів довкілля / М. М. Коршун // Медичні перспективи. – 1999. – Т. IV, № 1. – С. 15–19.
5. Першин О. І. Вплив іонів свинцю на пероксидну оксидацию ліпідів та активність ферментів антиоксидантної системи в еритроцитах щурів / О. І. Першин, Г. Л. Антоняк // Експерим. та клініч. фізіологія і біохімія. – 2005. – № 3. – С. 19–24.
6. Фриденштейн А. Я. Клеточные основы кроветворного микроокружения / А. Я. Фриденштейн, Е. А. Лурия. – М.: Медицина, 1980. – 320 с.
7. Anemia and unexplained abdominal pain: looking for a lead / D. A. Tsitsikas, M. Emery, S. Pomfret [et. al.] // B. M. J. – 2012. – Vol. 2. – №. 344. – P. 2996 – 1999.
8. Kersey M. Anemia, lead poisoning and vitamin D deficiency in low-income children: do current screening recommendations match the burden of illness / M. Kersey, M. Chi, D. B. Cutts // Public. Health. Nutr. – 2011. – Vol. 14 – № 8. – P. 1424–1428
9. Luster M. I. Environmentally related disorders at the hematologic and immune system / M. I. Luster, D. Wierda, G. J. Rosenthal // Med. Clin. North. Amer. – 1990. – Vol. 74, № 2. – P. 425–440.

УДК 661. 852:546. 41:616. 419

ВМІСТ КЛІТИН КІСТКОВОГО МОЗКУ ПРИ ДІЇ РАДІАЦІЇ ТА СВИНЦЮ

Островська С. С.

Резюме. Досліджена роздільна і сполучена дія опромінення і свинцю на кістковий мозок щурів. Показники числа мієлокаріоцитів при одноразовому опроміненні дозами 0,5 і 5 Гр у динаміці спостережень мають дозозалежний хвилеподібний характер. Внутрішньошлункове введення ацетату свинцю протягом 10 днів викликає зменшення числа мієлокаріоцитів з наступною їх регенерацією. Сполучений вплив радіації і свинцю призводить до різкого зниження здатності кісткового мозку до регенерації і збільшення смертності тварин.

Ключові слова: кістковий мозок, радіація, свинець.

УДК 661. 852:546. 41:616. 419

СОДЕРЖАНИЕ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА ПРИ ДЕЙСТВИИ РАДИАЦИИ И СВИНЦА

Островская С. С.

Резюме. Исследовано раздельное и сочетанное воздействие облучения и свинца на костный мозг крыс. Показатели числа миелокариоцитов при однократном облучении дозами 0,5 и 5 Гр в динамике наблюдений имеют дозозависимый волнообразный характер. Внутривентрикулярное введение ацетата свинца в течение 10 дней вызывает уменьшение числа миелокариоцитов с последующей их регенерацией. Сочетанное воздействие радиации и свинца приводит к резкому снижению способности костного мозга к регенерации и увеличению смертности животных.

Ключевые слова: костный мозг, радиация, свинец.

UDC 661. 852:546. 41:616. 419

The Content of Marrow Cells under the Action of Radiation and Lead

Ostrovska S. S.

Abstract. The wide general spectrums of pollutants are typical for the factors of the urbanized and technogenic environment, among them the special place is occupied by an ionizing radiation and heavy metals. The special value is acquired by the problem of change of sensitiveness of the radiated organism to the next influence of toxic factors of the environment. Taking into account, that marrow has high radiosensitivity, and lead influences on the development of anemia. The estimation of results of their united influence has not only great theoretical but also practical value.

The research aim was to study the effects of separated and combined action of external irradiation and lead on the content of myelocaryocytes in the rats' marrow.

The object and methods of the research. The white nonlinear rats of both sexes were used. The general gamma-irradiation was conducted singly with the dosages of 0.5 Gy. and 5 Gy. Right after irradiation during 10 days to the irradiated and non-irradiated rates it was entering acetous lead every day through a metallic probe in stomach in a toxic dose with the further period of rehabilitation during 20 days. The animals were led out the experiment through 1, 3, 5, 10, 20 and 30 day after irradiation, the last two terms correspond to 10 and 20 days of rehabilitation period (after finishing lead poisoning). The shins were divided into parts in rats.

The suspension of the cells was got by the washing of marrow with the help of chill environment 199. The content of the cells was counted in the Goryaev's chamber.

Data was expressed in percents to the amount of the cells of marrow that was got in intact control on the corresponding term of the research. Death of the animals was registered in the process of the experiment.

The results of the research and their discussion. The dynamics of quantitative changes in the marrow of this process and its evidence in every case are different.

So, it turns out clear dose dependence of decline cellularity of the marrow through 3 days of the post radiation period. After irradiation of the dose 0.5 Gy. the amount of the myelocaryocytes reduces on 24,7% ($p < 0.05$), after irradiation of the dose 5 Gy. – on 70,2% ($p < 0.001$, in intact control contained $124,7 \times 10^6 \pm 4,9 \times 10^6$). In the next days regeneration of the marrow occurs that finds a reflection in the restoration of the cells amount. This process flows far more intensive with irradiation of less dose, after that in interval between 10-20 days hyperplasia of the marrow is observed, as a results in 20 days the number of nuclear cells exceeds the level of intact control on 12,5% ($p < 0.05$).

In the period of leaden intoxication without irradiation already after 3 days poisoning the content of the cells of the marrow diminishes and maximally goes down in 10 days on 29,4% ($p < 0.05$). After 10 days of the regenerative period there is a tendency to the increase of the amount of the myelocaryocytes, however the full regeneration of the cells does not occur.

The combined action of irradiation and lead is signified by potentiative effect that at the greater dose of irradiation is expressed more considerable but here in both cases the capacity of marrow for regeneration goes down and that is why renovation of the cellularity does not take place to the end of the experiment.

Conclusions: Irradiation of doses 0,5 Gy. and 5 Gy. reduces the amount of the myelocaryocytes in the first day of the research with the difference in the dose 45%, for 20 days at a dose 0,5 Gy. indexes exceed the level of the intact control on 12%, at a dose of 5 Gy. the full renovation does not take place. The combined action of irradiation and lead reduces the capacity of the marrow to regeneration to the end of the experiment, thus the difference of indexes between the doses of irradiation folds 20%, renovation of the marrow cells is not observed till the end of the experiment.

Keywords: marrow, radiation, lead.

Рецензент – проф. Костенко В. О.

Стаття надійшла 5. 06. 2014 р.