

КЛІНІЧНА ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

© Абсеттарова А. И.

УДК 611:611-018. 46:611. 832:612. 6

Абсеттарова А. И.

ИЗМЕНЕНИЯ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ КРОВИ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЛУЧЕВОМ ПОРАЖЕНИИ И ЕГО КОРРЕКЦИИ КСЕНОГЕННОЙ ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТЬЮ

Крымский государственный медицинский университет имени С. И. Георгиевского
(г. Симферополь)

Данная работа является фрагментом НИР «Онтогенетические особенности морфофункциональных характеристик и регенераторных потенциалов различных органов и систем при введении КЦСЖ», № гос. регистрации 0108U002090, шифр – 06/08.

Вступление. Проблема радиационного воздействия на кроветворение сопутствует всем этапам развития радиобиологии [2,6]. Происхождение и механизмы действия радиопротекторов разнообразны, одним из рассматриваемых радиопротекторных средств является ксеногенная цереброспинальная жидкость (КЦСЖ), изучение биологических свойств которой ведется на базе кафедры нормальной анатомии Крымского государственного медицинского университета имени С. И. Георгиевского. Физиологическая активность ЦСЖ определяется наличием широкого спектра биологически активных веществ [5]. На сегодняшний день накоплен значительный экспериментальный опыт применения КЦСЖ с целью коррекции разнообразных патологических состояний [1, 4]. В 2007 г. были показаны эффекты КЦСЖ на интактный костный мозг крыс [6]. Изучения влияния КЦСЖ на гипоплазированный костный мозг не проводилось. В связи с этим, мы планировали изучить периферическую кровь при облучении и коррекции КЦСЖ в возрастном аспекте.

Цель исследования – изучить изменения картины крови крыс при экспериментальном лучевом поражении и его коррекции КЦСЖ.

Объект и методы исследования. Эксперимент проведен на 96 белых крысах линии Wistar обоих полов 4 возрастных групп: новорожденные, неполовозрелые, половозрелые и предстарческого возраста. Гипоплазия костного мозга достигалась однократным гамма-облучением в дозе 5Гр на установке «Тератрон» на базе КРУ«ОКД». В каждой возрастной группе после облучения 3-кратно или 10-кратно с интервалом в 2 дня вводили КЦСЖ, забор материала производили на 7-е, 14-е, 21-е и 30-е сутки. За референсные контрольные значения показателей костного мозга без радиооблучения, принимали данные, отраженные ранее в диссертационной работе

[6], как части единой темы исследования кафедры анатомии. Для чистоты эксперимента использовали 2 группы контроля – облученных крыс без последующих вмешательств, и с введением 0,9%NaCl по схеме. Отбор и подготовку КЦСЖ к введению производили по методу [3]. Для анализа крови, ее забирали в видалевскую пробирку с 5% цитратом натрия, разводя на четверть. Подсчет эритроцитов проводили в камере Горяева в 5 больших квадратах, к полученному числу прибавляли j. Для подсчета лейкоцитарной формулы готовили серию мазков на стеклах и после высушивания фиксировали в этиловом спирте 10 минут и окрашивали по Романовскому-Гимза, подсчитывали процентное соотношение лейкоцитов. Достоверными считали результаты при значении $P < 0,05$.

Содержание животных и эксперименты проводились согласно положений «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментов и других научных целей» (Страссбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», утвержденных Первым национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001).

Результаты исследований и их обсуждение. В I группе животных после однократного тотального облучения без коррекции из 24 крысят погибло 17 (70%): в первые 5 суток погибло 9 крысят; на 8-11 – еще 7; 1 – на 14 сутки. Оставшихся 7 животных вывели из эксперимента на 30 сутки. В этой группе при облучении с последующей коррекцией КЦСЖ из 24 крысят погибло 5 (21%). Оставшихся 19 исследовали на 14, 21 и 30 сутки, что показало динамику гематологических показателей. При сравнении контрольной и экспериментальной серии на 30 сутки количество эритроцитов у животных после коррекции превышало на 3,0% таковое в контроле; ретикулоцитов – на 15,4%; тромбоцитов – на 18,1%. В лейкоцитарной формуле относительное количество палочкоядерных в эксперименте превышало контрольные значения на 57,0%, эозинофилов – на 62,4%, лимфоцитов – на 6,9%, моноцитов – на

33,3%. Такие изменения свидетельствуют о стимулирующем действии КЦСЖ на гемоцитопоз.

Во II возрастной группе через 7 суток после облучения у животных экспериментальной серии количество ретикулоцитов увеличивалось на 13,4%, палочкоядерных на 53,2%, тромбоцитов на 3,7%. Количество эритроцитов существенно не отличалось, поскольку эритроциты являются зрелыми и долгоживущими клетками, а значит, радиорезистентными. В той же группе у экспериментальных животных на 14 сутки растет число лимфоцитов – на 37,8% и моноцитов – на 39,3% в сравнении со значением в контрольной серии. Именно возросшая относительная доля лимфоцитов и моноцитов обусловила в лейкоцитарной формуле уменьшение сегментоядерных нейтрофилов – на 36,6%. Количество эритроцитов резко снижено и в опытной, и в контрольной сериях ($2,8$ и $2,7 \times 10^{12}/л$, соответственно), что позволяет предположить явления токсической анемии; количество тромбоцитов катастрофически низкое ($2,7$ и $0,2 \times 10^9/л$). На 21 сутки во II возрастной группе картина крови опытных и контрольных животных отличается по количеству ретикулоцитов – на 11,9%, сегментоядерных – на 9,7%, лимфоцитов – на 12,2% в сторону увеличения их количества в экспериментальной серии. На 30 сутки в той же группе животных значительные отличия обнаружены в количестве эритроцитов, ретикулоцитов, тромбоцитов и лимфоцитов. У животных, которым проводилась коррекция КЦСЖ после облучения эритроцитов было больше на 15,1%, ретикулоцитов – на 12,6%, тромбоцитов на 9,9%, лимфоцитов – на 14,2%. Таким образом, стимулирующее влияние КЦСЖ на гемоцитопоз к 30 суткам сохраняется.

В III возрастной группе на 7 сутки количество эритроцитов в опыте оказалось выше на 26,2%, палочкоядерных – на 40,9%, лимфоцитов – на 7,1%, моноцитов – 35,1%. За счет этого в 1,99 раза уменьшилась доля сегментоядерных нейтрофилов в лейкоцитарной формуле. К 14 суткам наблюдения в той же возрастной группе у животных после проведенной коррекции отмечали увеличение абсолютного числа эритроцитов – на 10,7%, ретикулоцитов – на 7,5%. Несмотря на критическое падение числа тромбоцитов к 14 суткам, отмечали значительное (на 93,6%), превышение их количества в опыте в сравнении с контролем. Изменения формулы крови при коррекции КЦСЖ касались возросшего числа лимфоцитов и моноцитов на 37,0 и 37,7%, соответственно. Через 21 день после облучения картина крови в III возрастной группе была идентичной животным II группы на 21-й день. Число ретикулоцитов у крыс после коррекции КЦСЖ было выше контрольных образцов без коррекции на 14,0%, тромбоцитов – на 11,3%. Несмотря на общее скудное количество гранулоцитов в мазке крови, относительное количество лимфоцитов и моноцитов в опыте было выше на 15,2% и 19,0%. На 30 сутки общее количество эритроцитов, ретикулоцитов и тромбоцитов продолжало расти; при сравнении опыта и контроля отмечали увеличение их на 19,3, 13,8 и 7,5%,

соответственно. В формуле изменения коснулись лимфоцитов, относительное количество которых возросло на 35,1%, и моноцитов, число их увеличилось на 22,3%.

В IV группе на 7 сутки после облучения процент нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов, а также абсолютное число эритроцитов и тромбоцитов было выше в крови животных при коррекции КЦСЖ. Так, число эритроцитов в опытном образце превышало контрольный показатель на 20,7%, тромбоцитов – на 4,2%. Сегментоядерных и лимфоцитов в крови опытных животных было на 12,3% и 8,5% выше, соответственно. На 14 сутки в той же группе наблюдали снижение числа эритроцитов и минимальное количество тромбоцитов, значения которых, однако, у опытных животных были выше, чем у контрольных на 18,7% и 8,7%, соответственно. Наблюдалось увеличение относительного количества лимфоцитов и моноцитов в сравнении с контрольными образцами – на 37,1% и 37,5%. К 21 суткам у животных экспериментальной серии количество эритроцитов, ретикулоцитов и тромбоцитов начинало постепенно восстанавливаться, более быстрыми темпами у животных после коррекции КЦСЖ. В тоже время, показатели белой крови также оказались выше в опыте. Относительное содержание сегментоядерных превышало контрольное значение на 9,5, лимфоцитов – на 17,2, моноцитов – на 19,5%. На 30 сутки эксперимента у животных IV группы особенно заметно различие в числе тромбоцитов опытной и контрольной группы, их превышение в мазках крови опытных животных достигло 13,1%. Количество сегментоядерных в опытной группе превышало значение в контроле на 16,5%, однако подъем кривой гранулоцитов отражает лишь относительное (в%) преобладание сегментоядерных клеток в лейкоцитарной формуле, в основном, за счет небольшого числа лимфоцитов и моноцитов, что отражает конкурирующий тип активации и восстановления ростков гемоцитопоза. Отмечено появление большого числа деформированных клеток на 7-30 сутки без коррекции КЦСЖ.

Выводы. Во всех возрастных группах коррекция введением КЦСЖ вызвала стимуляцию дифференцирования ретикулоцитов и тромбоцитов к 30 суткам. Несмотря на медленное восстановление гранулоцитарного ростка, к 30 суткам у облученных животных, темпы восстановления числа нейтрофильных гранулоцитов оказались выше после коррекции КЦСЖ. Несмотря на то, что при облучении количество эритроцитов долгое время не уменьшается, в крови облученных животных и еще в большей степени после коррекции КЦСЖ отмечали ретикулоцитоз, что предвосхищало последующую потерю эритроцитов. Общей тенденцией действия КЦСЖ явилась стимуляция сначала эритроцитарного, затем тромбоцитарного и гранулоцитарного, затем лимфоцитарного ростков.

Перспективы дальнейших исследований. Перспективно исследование ультраструктуры клеток крови в данном эксперименте.

Литература

1. Бессалова Е. Ю. Морфологические эффекты ксеногенной спинномозговой жидкости на репродуктивную систему самок млекопитающих / Е. Ю. Бессалова, В. В. Ткач, В. А. Королев // Таврический медико-биологический вестник. – 2006. – Т. 9, № 3, Ч. 1. – С. 175-178.
2. Василенко, О. И. Радиационная экология / О. И. Василенко. – М. : Медицина, 2004. – 216 с.
3. Деклараційний патент на винахід «Спосіб одержання цільного лікворного препарату» / Ткач В. В., Адамень Ф. Ф., Лисенко В. В., Макаров О. І, Сушко А. І., Ткач В. В. (мл). Заявл. № 2003087810, от 02. 09. 2003.
4. Кривенцов М. А. Структурные изменения брыжеечных лимфатических узлов при парентеральном введении ксеногенной спинномозговой жидкости : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук : спец. 14. 03. 01 «Анатомия человека» / М. А. Кривенцов. – Симферополь, 2009. – 21 с.
5. Ткач В. В. Нормальный химический состав и содержание некоторых биологически активных веществ в цереброспинальной жидкости крупного рогатого скота / В. В. Ткач, В. В. Ткач (мл.), В. В. Киселев // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2004. – № 3. – С. 61.
6. Шаймарданова Л. Р. Возрастные морфофункциональные изменения костного мозга под действием спинномозговой жидкости : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук : спец. 14. 03. 01 «Анатомия человека» / Л. Р. Шаймарданова – Симферополь, 2011. – 22 с.

УДК 611:611-018. 46:611. 832:612. 6

ЗМІНИ МОРФОЛОГІЧНОЇ КАРТИНИ КРОВІ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ОПРОМІНЕННІ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЇ КСЕНОГЕННОЇ ЦЕРЕБРОСПІНАЛЬНОЮ РІДИНОЮ

Абсеттарова А. І.

Резюме. У статті відображені результати експерименту з дослідження впливу ксеногенної цереброспінальної рідини (КЦСР) на клітинний склад крові щурів лінії Вістар. Достовірне поліпшення показників крові, прискорення відновлення кровотворення, зниження токсичних наслідків опромінення і збереження гематомедулярного бар'єру були доведені експериментально у всіх вікових групах. Отримані дані дозволяють розглядати КЦСР в якості радіопротектора мультівекторної дії.

Ключові слова: кров, цереброспінальна рідина, опромінення.

УДК 611:611-018. 46:611. 832:612. 6

ИЗМЕНЕНИЯ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ КРОВИ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЛУЧЕВОМ ПОРАЖЕНИИ И ЕГО КОРРЕКЦИИ КСЕНОГЕННОЙ ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТЬЮ

Абсеттарова А. И.

Резюме. В статье отображены результаты эксперимента по исследованию влияния ксеногенной цереброспинальной жидкости (КЦСЖ) на клеточный состав крови крыс линии Вистар. Достоверное улучшение показателей крови, ускорение возобновления кроветворения, снижение токсичных последствий облучения и сохранения гематомедулярного барьера были доказаны экспериментально во всех возрастных группах. Полученные данные позволяют рассматривать КЦСЖ в качестве радиопротектора мультिवекторного действия.

Ключевые слова: кровь, цереброспинальная жидкость, облучение.

UDC 611:611-018. 46:611. 832:612. 6

Changes in the Morphological Blood Picture of the Rats after Experimental Radiation Exposure and its Correction by Xenogenic Cerebrospinal Fluid

Absettarova A. I.

Abstract. One of radioprotective factors is a xenogenic cerebrospinal fluid. A purpose of our investigation is to changes in the morphological blood picture of the rats after experimental radiation exposure and its correction by xenogenic cerebrospinal fluid as radioprotective biological substrate. The study of its biological properties executed on normal anatomy department of Crimean State Medical University named after S. I. Georgievskiy (Simferopol).

The article is devoted to revealing and studying of the morphological changes of the irradiated Wistar rats' blood after parenteral injection of xenogenic cerebrospinal fluid in different periods of postnatal development (newborn, immature, mature). The article presents the results of the experiment for the study of the influence of xenogeneic cerebrospinal fluid (XCSF) on morphological blood picture in Wistar rats. Lactating cows aged 4-6 years were taken as cerebrospinal fluid donors. The effect of cerebrospinal fluid was studied by classical clinical laboratory methods.

It was found that cerebrospinal fluid preparation caused different inhibiting effects on destructive processes in blood cells, that is associated with the presence of broad spectrum of biological active substances in mammalian cerebrospinal fluid. Significant improvement in blood cellularity, inhancing recovery of hematopoiesis, reducing toxic effects of radiation and the safety of the blood-marrow barrier were proved by the results of the experiment in all age groups. The data obtained allow to consider XCSF as the radioprotective remedy with multivector effects.

The evident radioprotective effect was proved by the analyses of the destructive processes degree in blood cells of the rats exposed to total body radiation at 5 Gr and 3- and 10-times infusions of cerebrospinal fluid. Findings testify to activating of regenerator and strengthening processes at the correction of consequences of irradiation by

introduction of cerebrospinal fluid. However the least degree of expressed these processes are had in the old age group, that is cerebrospinal fluid, probably, with the decline of activity of adaptation mechanisms. Morphofunctional indexes age-dependent dynamics experimental studying on white rats after a xenogenic CSF parenteral injections at various ontogenetic periods.

Cerebrospinal fluid shown as a morphological substrate at the homeostasis anatomophysiological component and also shown it's role in the intersystemic nervous and endocrine regulation. It allows to formulate a new scientific conception of xenogenic cerebrospinal fluid morphophysiological regulatory effects (Bessalova Ye. Yu., Pikaluk V. S. 2010-2013). That provides their systemic cognition at leading intention to disclose liquor's regulatory physiological role at an organism (Bessalova Ye. Yu., 2013). Considering no immunopathological response while the experimental study onto injection of cerebrospinal fluid and it's anatomophysiological effects complex assessment there were set up challenging perspectives for directional bioactive drug product to be developed on a base cow's cerebrospinal fluid and to be used in fields of medical and veterinary science, animal breeding and experimental morphology. The results of the research have been practiced during the other investigation and may be a predisposition for the collaboration of drug preparation on the base of cerebrospinal fluid.

Key words: blood, cerebrospinal fluid, radiation.

Рецензент – проф. Міщенко І. В.

Стаття надійшла 17. 07. 2014 р.