УДК 611-018.54:517.1:616.15:616.37-007.272

В.І.Федоров

Метаболічна активність клітин крові та кісткового мозку за умов дії низьких доз іонізуючого опромінення

В экспериментах на крысах методом микрокалориметрии изучали теплоэнерговыделения в клетках крови и костного мозга в различные сроки после однократного облучения. Показано, что облучение животных приводило к некоторому увеличению мощности теплопродукции клетками костного мозга. Изменения тепловых процессов в клетках крови и костного мозга наблюдались на протяжении месяца после облучения.

ВСТУП

Функціональний стан системи крові в організмі людини та тварин відіграє важливу роль у патогенезі радіаційних пошкоджень. Від ступеня ушкодження клітин кісткового мозку після опромінення та функціонального стану клітин периферичної крові у більш віддалені строки залежить не тільки глибина патології, але й тривалість процесів репарації та видужання.

Головну роль у життєдіяльності клітин відіграють енергетичні процеси. За літературними даними іонізуюче випромінення викликає різкі зміни енергетичного обміну в клітинах [2, 5]. Розвиток патологічних відхилень у метаболічних процесах та енергетичному обміні, що зокрема спостерігаються під впливом іонізуючої радіації, можуть бути визначені за інтегральним показником метаболічної активності – кількістю утвореної у тканинах теплової енергії [3].

Враховуючи важливе значення стану кровотворної системи для функціонування організму людини та високу радіочутливість кровотворних клітин, визначення порушення метаболічної активності клітин кісткового мозку може мати не тільки діагностичне, але і прогностичне значення для опромінених хворих; може бути використане для оцінки радіозахисної дії фармакологічних препаратів і харчових добавлень при розробці та тестуванні цих сполук в експерименті, а також оцінки ефективності їх застосування у хворих на променеву хворобу та потерпілих внаслідок аварії на ЧАЕС.

Мета цієї роботи - дослідити стан теплоенергопродукції клітин кісткового мозку та крові тварин, що зазнали опромінення у малих дозах.

МЕТОДИКА

Визначення теплопродукції проводили на моніторі біоактивності TAM-2277 фірми «TermoMetric AB», Швеція. Реєстрували тепловий потік та потужність теплопродукції. Сумарну теплопродукцію відкоригованих результатів вимірювання теплового потоку підраховували при досягненні стабільного калориметричного сигналу протягом 5-хвилинних інтервалів. Показники записували протягом 2 - 8 год експерименту, а результати розраховували відносно кількості клітин у пробі.

© В.І.Федоров

Клітини кісткового мозку експериментальних тварин вилучали із стегнової кістки на охолодженому середовищі 199 [6]. Концентрація клітин кісткового мозку при вимірюванні метаболічної активності була від 10 до 30 млн клітин у 1 мл живильного середовища.

Мікрокалориметричні дослідження провадили у гепаринізованій крові та у виділених фракціях - відмитих фізіологічним розчином еритроцитах і лімфоцитах. З метою одержання фракції лімфоцитів 2,5 мл крові нашаровували на 2,5 мл суміші фікол - верографін (щільність 1,087) та центрифугували 15 хв при 800 g [6].

Проведення мікрокалориметричних досліджень мікротеплоенергопродукції клітин кісткового мозку та крові було виконано на щурах-самцях масою 180 - 230 г. Опромінення здійснювали на апараті «Рокус» (джерело ^{60}Co) у дозі 0,1, 0,5 та 1,0 Гр при потужності експозиційної дози $3{,}05 \cdot 10^{-4}$ А/кг.

Враховуючи, що за даними Lewis [9], період генерації клітин кісткового мозку становить до 14 год, мікрокалориметричні дослідження проводили через добу після опромінення, а також у більш віддалені строки – через 20 та 30 діб.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати мікрокалориметричних вимірювань теплопродукції біологічних проб характеризувалися високим ступенем відтворюваності (рис. 1, 2).

Збільшення кількості матеріалу, що використовувався при вимірюванні у вибраному діапазоні концентрацій, супроводжувалося відповідним підвищенням максимального піка тепловиділення та загального теплового по-

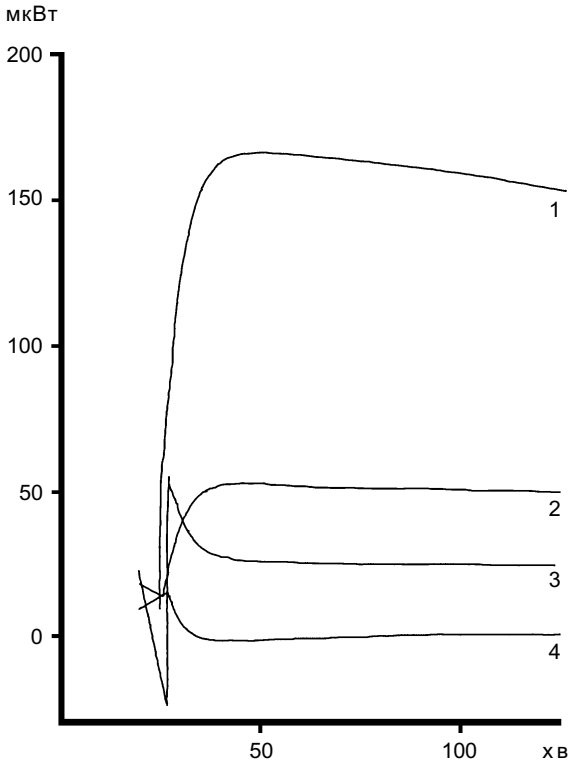

Рис. 1. Потужнність теплопродукції крові інтактних щурів: 1 – 1,0 мл; 2 – 0,4 мл; 3 – 0,2 мл; 4 – контроль (фізіологічний розчин).

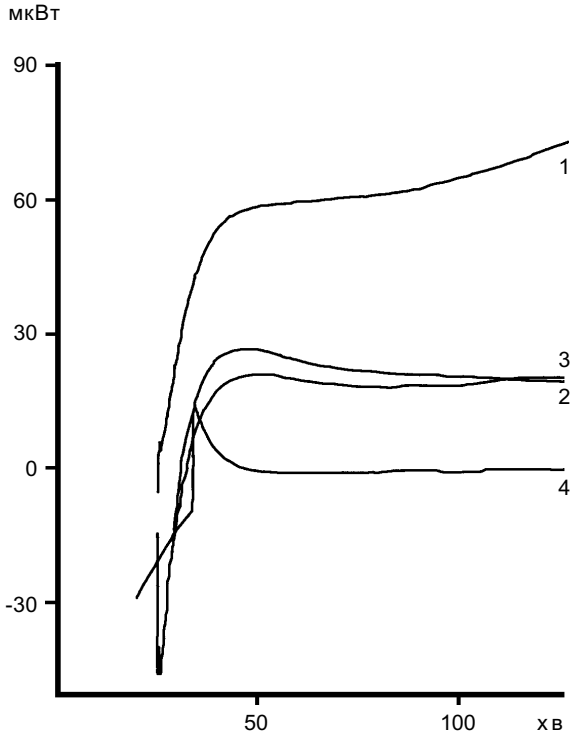

Рис. 2. Потужнність теплопродукції відмитих еритроцитів крові інтактних щурів: 1 – 0,2 мл; 2,3 – 0,1 мл; 4 – 0,1 мл буферного розчину (контроль).

току. Характер кривих потужності тепловиділення при використанні однакової кількості досліджуваного матеріалу був практично ідентичним. Проведення мікрокалориметричних вимірювань крові тварин показало, що кількість виділеної клітинами крові теплоти стабілізувалася, починаючи з 2733 с ± 93 с дослідження і утримувалася на постійному рівні до 2 – 3-ї години спостереження (табл.1; рис.1).

Таблиця 1. Показники теплопродукції клітин крові інтактних тварин (M ± m)

Показник	Кров, 100 млн клітин	Еритроцити, 100 млн клітин	Лімфоцити, 100 тис.клітин
Максимальна потужність теплопродукції, мкВт	2,86 ± 0,31 (n=15)	2,27 ± 0,21 (n=4)	0,69 ± 0,17* (n=6)
Середній тепловий потік, мкВт	2,73 ±0,26 (n=14)	2, 25 ± 0,22 (n=4)	0,32 ± 0,13* (n=3)

* P < 0,05 - відносно значень у крові; n – кількість тварин.

Представлені результати збігаються з отриманими раніше даними [3]. Слід також відзначити, що більша частина теплової енергії, котра виділяється при інкубації крові (до 80 %) зумовлена метаболічними процесами, які спостерігаються в еритроцитах. Однак простий математичний підрахунок показує, що величина теплопродукції рівної кількості клітин лейкоцитарного та еритроцитарного рядів у периферичній крові відрізняється як мінімум на два порядки і свідчить про більш високу метаболічну активність лейкоцитів.

Опромінення щурів призводило до досить стійких змін показників теплоенергопродукції крові. Так, наприклад, на 30-ту добу після опромінення (рис. 3) спостерігалися дозозалежні зміни метаболічної активності, принаймні у вибраному діапазоні доз. Причому опромінення щурів малими дозами (0,1 та 1,0 Гр) супроводжувалося незначним підвищенням значень досліджуваних показників відносно контролю. Найбільш високі показники метаболічної активності були при опроміненні дозою 0,1 Гр (на 22 % вище від контрольного рівня і на 14 % вище, ніж після опромінення дозою 1 Гр), у той час, як доза 5,0 Гр викликала вірогідне зниження теплоенергопродукції крові. Згідно з даними Бурлакова та співавт. [1], залежність ефекту від дози опромінення має полімодальний характер і фактично являє собою відображення залежності від часу включення систем репарації.

Отримані результати відносно потужності теплопродукції та кількості теплової енергії, що виділяється в період життєдіяльності клітинами кісткового мозку опромінених щурів, наведено в табл. 2.

Наведені результати свідчать, що наступної доби після одноразового опромінення в дозі 1,0 Гр теплоенерговиділення клітинами кісткового мозку дещо збільшувалася. Підвищення потужності тепловиділення клітинами кісткового мозку після опромінення показано на рис. 4.

Таблиця 2. Показники теплопродукції клітин кісткового мозку опромінених щурів (M ± m; n=4)

Показник	Контроль	Дослід
Кількість клітин, млн	81,2 ± 5,3	86,0 ± 3,8
Кількість енергії, мДж/год	243,6 ± 89,3	438,6 ± 110,8
Максимальна потужність теплопродукції, мкВт	89,3 ± 32,0	163,4 ± 34,4
Потужність теплопродукції через 1 год, мкВт	40,6 ± 16,2	86,0 ± 25,8

Відомо, що суспензія клітин кісткового мозку досить гетерогенна популяція [6]. Так, при виділенні спостерігається наступний розподіл клітин у відсотковому співвідношенні: мієлобласти та мієлоцити - 51,0 % ± 5,3 %; метамієлоцити - 6,0 % ± 1,9 %; лімфоцити - 26,3 % ± 3,6 %; моноцити - 2,4 % ± 0,8 %; гранулоцити - 0,2 % + 0,1 %; еритроїдні клітини - 11,3 % + 2,7 %; інші клітини - 2,8 % ± 1,3 %. На жаль, ми не мали змоги визначити внесок у сумарну теплопродукцію окремих фракцій клітин, але схильні вважати, що найбільше значення в цьому процесі займають мієлобласти та мієлоцити.

Можливо, що підвищення теплопродукції свідчить про активацію метаболічних процесів внаслідок проходження відновних процесів у кровотворних клітинах після опромінення. В літературі описані також морфологічні зміни стромальних клітин зони росту культур кровотворних органів після радіаційного впливу, що отримали назву «метаболічного вибуху» [8]. Але наші результати можна пояснити і відомими з літератури даними [4] про стійку структурно-функціональну модифікацію мембран і крист мітохондрій у опромінених тварин і змінами процесів окиснювального фосфорилювання. Іс нує достатньо даних про морфологічні та електронномікроскопічні зміни в кровотворних клітинах після опромінення, а також свідчення про погіршення росту культур стромальних клітин кісткового мозку, що був взятий наступної доби після опромінення в дозі 1,0 Гр [7].

У додатковій серії дослідів було доведено, що середні значення потужності теплопродукції та теплового потоку клітин кісткового мозку через 20 діб після опромінення дозою 0,5 Гр теж перевищували контрольні значення, але були меншими, ніж після опромінення дозою 1,0 Гр. У разі хронічної інтоксикації свинцем (сумісні дослідження з лабораторією радіозахисних засобів ІЕР НЦРМ) показники тепловиділення вірогідно зменшувалися до значень нижчих від контролю.

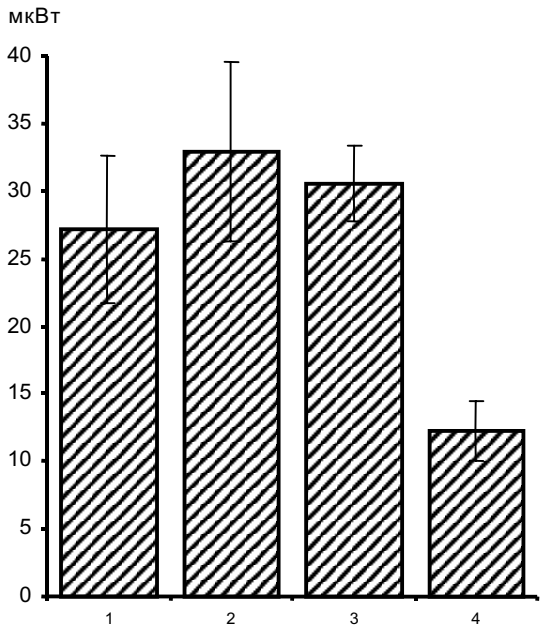

Рис.3. Потужність теплопродукції крові щурів (мкВт/0,2 мл) на 30-ту добу після одноразового зовнішнього опромінення: 1 – контроль ; 2 – 0,1 Гр; 3 – 1,0 Гр; 4 – 5 Гр.

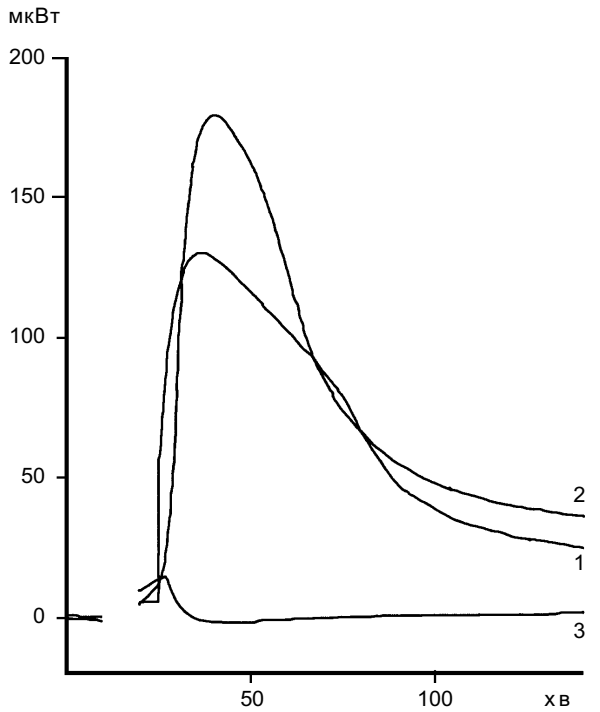

Рис.4. Потужність виділення теплової енергії клітинами кісткового мозку наступної доби після опромінення в дозі 1 Гр.
1 - контроль; 2 - після опромінення; 3 – живильне середовище 199.

Отже, в результаті проведених досліджень було отримано результати про рівень метаболічної активності клітин кісткового мозку та крові опромінених тварин за інтегральним показником – кількістю виділення теплової енергії. Враховуючи важливість різних сторін біохімічних процесів в механізмах розвитку пострадіаційних порушень, визначення теплоенергетичних процесів у тканинах, на наш погляд, потребує подальшого вивчення.

MICROKALORIMETRY DETERMINATION OF THE METABOLIC ACTIVITY OF BLOOD AND BONE MARROW CELLS UNDER LOW DOSE OF IRRADIATION INFLUENCE.

V.I.Fedorov

The processes of heat production in blood and bone marrow cells by method of microcalorimetry in the experiments on the rats in different terms after radiation influence were study. The irradiation of animals led to some increase of power heat energy production in bone marrow cells. Tte changes of heat processes in blood and bone marrow cells during month after irradiation were established.

Laboratory of radiation pathophysiology Scientific Center for Radiation Medicine Academy of Medical Sciense of Ukraine, Kiev.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бурлакова Е.Б.,Голощапов А.Н., Жижина Г.П., Конрадов А.А. Новые аспекты закономерностей действия низкоинтенсивного облучения в малых дозах // Радиац. биология. Радиоэкология. – 1999. – **39**, № 1. – С.26–34.
2. Дворецкий А.И., Айрапетян С.Н., Шаинская А.М., Чеботарев Е.Е. Трансмембранный перенос ионов при действии ионизирующей радиации на организм. – К.: Наук. думка, 1990. – 136 с.
3. Джоунс М., Френкс Ф., Пфайль В. и др. Биохимическая термодинамика: Пер. с англ. – М.: Мир, 1982. – 440 с.
4. Козырева Е.В., Антонов О.Е., Красногорская Н.В. Действие ионизирующего излучения и низкочастотных электромагнитных полей на митохондри органов различной чувствительности / 3 съезд по радиац. исслед. «Радиобиология, радиоэкология, радиац.безопасности.», Москва, 14–17 окт., 1997: Тез. докл. Т.3. – Пущино, 1997. – С.60-61.
5. Кузин А.М. Структурно-метаболическая теория в радиобиологии.–М.:Наука.– 1986.– 285 с.
6. Лимфоциты: Методы: Пер. с англ. – М.:Мир,1990. – 394 с.
7. Михайловская Э.В. Эмериополезис: гипотезы и факты. – К.–Рига: Б.и.,1998. – 157 с.
8. Фрейдлин И.С. Система мононуклеарных фагоцитов. – М.:Медицина,1984. – 272 с.
9. Lewis J.P., Trobaugh F.E. Haemopoietic stem cells// Nature.– 1964. –№ 204. – P.589.

Наук. центр радіац. медицини АМН України, Київ

Матеріал надійшов до редакції 19.06.2001