

ДЛЯ ФІЗИЧНИХ ФАКТОРІВ

УДК 577.391+611.783

ВЛИЯНИЕ РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ И РАДИОПРОТЕКТОРА АЛЬТАНА НА РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ**Л.В. Батюк, С.В. Гаташ**

Харьковский НИИ медицинской радиологии, 61024, г. Харьков, ул. Пушкинская, 82,
Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, 61077, г. Харьков, пл. Свободы, 4
Поступила в редакцию 11 ноября 1999 г.

Исследовано влияние рентгеновского облучения и препарата альтан на кислотный гемолиз эритроцитов крыс и человека. Рентгеновское облучение в дозе 6 Гр приводит к уменьшению кислотной устойчивости эритроцитов как крыс, так и онкологических больных. Показано, что применение препарата альтан (перорально) до и после облучения организма существенно снижает влияние рентгеновского излучения на гемолиз эритроцитов животных и человека. В этих условиях рентгеновское облучение не приводило к изменению концентрации ионов (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}), как внутриклеточной в эритроцитах, так и в плазме крови. Выживаемость крыс, получавших препарат альтан, через 15-30 суток после облучения была выше в 2,5 раза. Обсуждается возможный механизм радиопротекторного действия препарата альтан.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: рентгеновское облучение, эритроциты, альтан, гемолиз, кислотная устойчивость, катионы, выживаемость, радиопротекторы

При воздействии ионизирующего облучения на целостный организм отмечается угнетение эритропоэза [1], понижение концентрации гемоглобина в эритроцитах [2], появление ярко выраженного анизоцитоза с преобладанием макроцитов [3], уменьшение продолжительности циркуляции клеток в кровяном русле [4], изменение структурно-функциональных свойств эритроцитов (ингибирование активного и пассивного мембранного транспорта [5], нарушение распределения ионов между внутри- и внеклеточной средой [6,7], угнетение ферментативных процессов [8], уменьшение гемолитической устойчивости [9,10]). Реакция эритроцитов на рентгеновское облучение организма носит дозозависимый характер и недостаточно изучена. Применение рентгенотерапии при онкологических заболеваниях, требует, как исследования механизмов влияния облучения на клетки, так и поиска новых веществ радиопротекторного действия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В опытах использовали кровь лабораторных крыс линии Вистар и кровь онкологических больных, проходящих курс лучевой терапии. Животные и больные подвергались рентгеновскому облучению в суммарной дозе 6 Гр с помощью аппарата РУМ-17 при мощности излучения 9,82 Гр/мин. Одна из групп животных и онкобольные за день до облучения и в течение 30 суток после облучения получали перорально препарат альтан (125 мг/кг живого веса ежедневно). Забор крови проводили у крыс при декапитации, а у человека пункцией вены, используя в качестве антикоагулянта гепарин. Эритромассу получали путем центрифугирования (при 3000 об/мин) и двукратного отмывания в физиологическом растворе по стандартной методике. В эксперименте использовали суспензию эритроцитов, полученную разбавлением эритромассы 0,15M NaCl в соотношении 1:100 в течение 5 часов после приготовления. Образцы крови, в каждой группе животных и человека, брали перед облучением и через 7, 14 и 30 суток после облучения.

Устойчивость эритроцитов к кислотному гемолитику определяли согласно [11]. Гемолиз эритроцитов регистрировали на спектрофотометре НАРЕМЕ FR SH-01 на длине волны 720 нм по методу [12]. В качестве гемолитика использовали раствор HCl в конечной концентрации 0,028N. Скорость гемолиза определяли по тангенсу угла наклона линейного участка зависимости изменения оптической плотности суспензии от времени гемолиза. Концентрацию катионов K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} измеряли методом пламенной фотометрии с помощью анализатора ПАЖ-2.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что устойчивость эритроцитов к кислотному гемолитику коррелирует с возрастом клеток, циркулирующих в кровяном русле [11,13]. Принято разделять популяцию эритроцитов на три группы устойчивости - 7-5, 4,5-3,5, и 3-1,5 мин, соответствующие трем группам клеток с возрастом - до 30, от 30 до 90 и свыше 90 дней [11]. В норме количество эритроцитов в группах - 20, 60 и 20%, соответственно.

Влияние рентгеновского облучения и радиопротектора альтана...

На рис. 1А представлены результаты исследования кислотного гемолиза эритроцитов крыс, в виде рассчитанных по эмпирическим данным эритрограмм (распределения времени гемолиза эритроцитов), из которых видно, что после рентгеновского облучения устойчивость эритроцитов к кислотному гемолитику уменьшается, а к 30-м суткам после облучения различия приобретают еще и качественный характер (кривая 4). По данным [11] такое изменение чувствительности эритроцитов к кислотному гемолитику свидетельствует об угасании пролиферативной функции красного ростка организма, вследствие чего уменьшается количество молодых эритроцитов, вклад которых в процесс гемолиза отражается на правой ветви эритрограммы. Вместе с этим, воздействие облучения приводит к уменьшению резистентности клеток всей популяции, и на 30-е сутки около 90% эритроцитов гемолизируются уже за 2 минуты, против 30% в контроле.

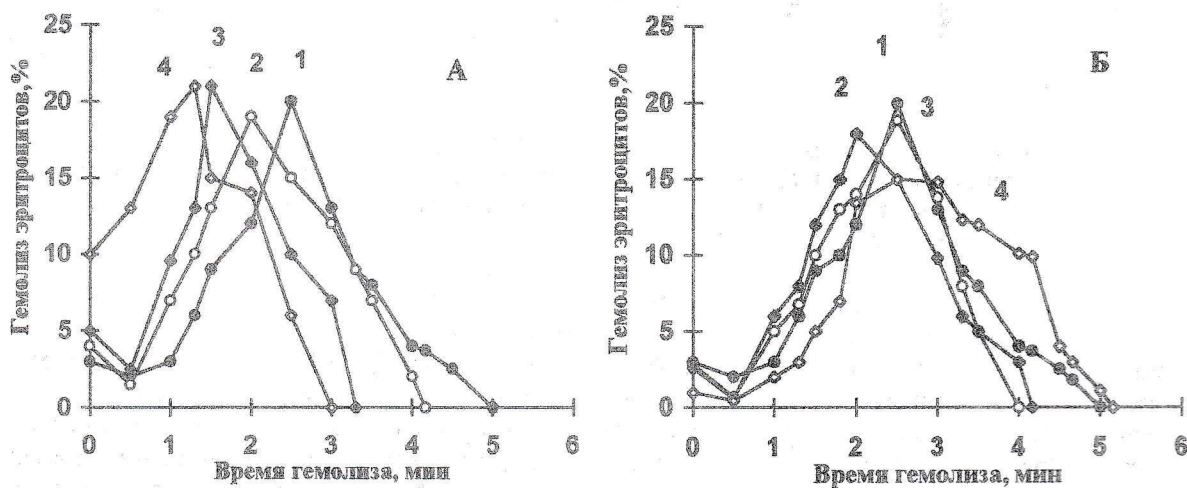


Рис. 1. Эритрограммы гемолиза эритроцитов крыс, вызванного 0,028N HCl, контрольной группы (1) и после рентгеновского облучения в дозе 6Гр (2,3,4 – через 7,14 и 30 суток после облучения, соответственно), получавших препарат альтан (Б) и не получавших (А).

Понижение устойчивости эритроцитов, в ранние сроки после облучения, наблюдалось и для группы крыс, получавших препарат альтан (рис.1Б, кривая 2). Однако уже на 14-е сутки эритрограмма смещается вправо и становится по форме близкой к контрольной (кривая 3), что означает восстановление состава популяции по количеству клеток с различной продолжительностью жизни. К 30-м суткам после облучения на эритрограмме (кривая 4) справа появляется дополнительный пик. Такая форма эритрограммы свидетельствует о нарушении равновесия в системе крови и наблюдается, например, при процессах регенерации после угнетения эритропоэза, когда в кровяное русло выходит много молодых высокоустойчивых эритроцитов, чем и объясняется появление локального максимума на правой ветви эритрограммы.

Относительная скорость гемолиза эритроцитов, на линейном участке изменения оптической плотности, облученных крыс монотонно растет со временем и к 30-м суткам достигает значения в 1,7-1,8 раз больше, чем у контрольных животных (см. рис.2). В то же время у группы крыс, получавших препарат альтан после облучения, скорость гемолиза практически не изменялась в течение всего времени наблюдения и была близка по величине к скорости для контрольной группы.

Параллельно с исследованием гемолиза эритроцитов, для тех же групп крыс, определялось влияние рентгеновского облучения на выживаемость животных. На рис. 3 представлена зависимость выживаемости крыс в течении 30 суток после облучения. На графиках выделяются три этапа: до 7-х суток наблюдается 100%-я выживаемость, как для крыс, принимавших альтан, так и без него. Для более поздних сроков выживаемость резко уменьшается и к 14-16-м суткам составляет: 30% для животных не принимающих и 70% для принимающих препарат альтан. Далее уровень выживаемости стабилизируется до конца периода наблюдения. Такая зависимость выживаемости показывает, что адаптивные процессы, происходящие на уровне целостного организма после рентгеновского облучения, идут по пути накопления негативных эффектов на первом этапе, повышенной гибели животных на втором и включения адаптивных систем на третьем. Увеличение выживаемости животных на втором и третьем этапах более чем в два раза свидетельствует о выраженном радиопротекторном и адаптогенном действии, альтана.

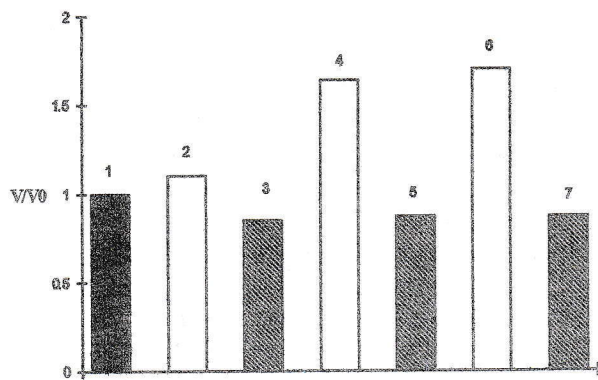


Рис.2. Относительная скорость кислотного гемолиза эритроцитов крыс контрольной группы (1) и через 7 (2,3), 14 (4,5), и 30 (6,7) суток после рентгеновского облучения в дозе 6Гр: □- с применением альтана; ■- без альтана

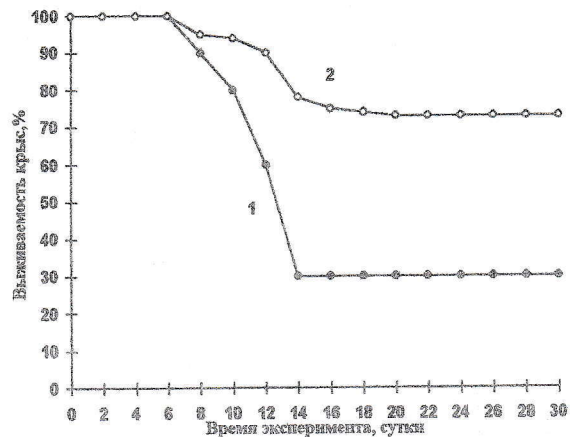


Рис.3. Выживаемость крыс в течение 30 суток после рентгеновского облучения в дозе 6Гр, принимавших препарат альтана (2) и не принимавших (1).

Эритроциты человека в целом являются более устойчивыми к кислотному гемолизику, чем крыс. Как видно из рис. 4 общее время гемолиза эритроцитов человека в 1,5-2 раза больше. Динамика изменения чувствительности эритроцитов онкобольных, подвергнутых лучевой терапии и принимавших препарат альтан, к кислотному гемолизику имеет качественно подобный характер с динамикой для эритроцитов крыс, однако, с более выраженным радиопротекторным эффектом. Значительное расширение эритрограммы до 9,6 мин и более резко выраженный локальный максимум на правой ветви на 30-е сутки после облучения (рис.4, кривая 4) указывают на большую активацию эритропоэза и продукцию макроцитов, чем у крыс. Относительная скорость гемолиза эритроцитов онкобольных близка к контролю с незначительной тенденцией к уменьшению в течение 30 суток после облучения (рис. 5).

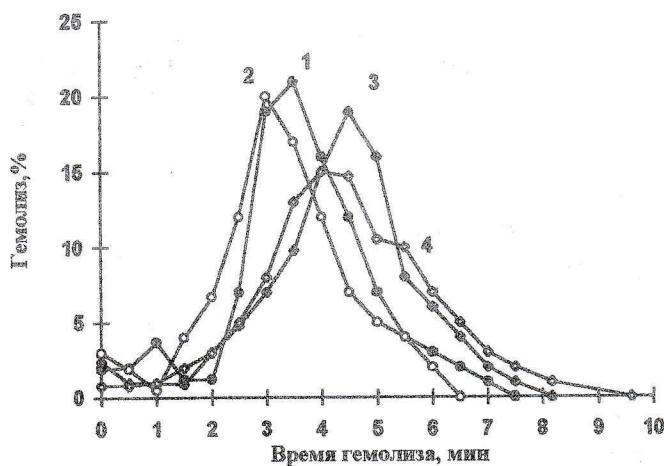


Рис.4. Эритрограммы гемолиза эритроцитов, вызванного 0,028N HCl, контрольной группы (1) и онкобольных через 7 (2), 14 (3) и 30 (4) суток после рентгеновском облучения в дозе 6 Гр на фоне приема препарата альтан.

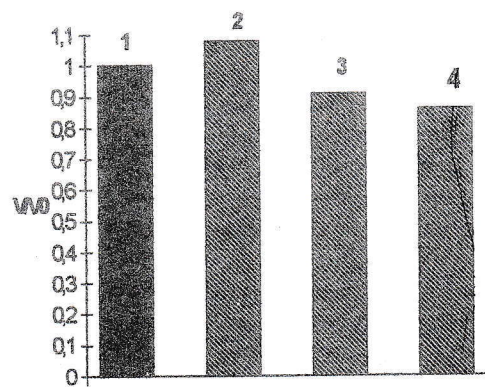


Рис.5. Относительная скорость кислотного гемолиза эритроцитов контрольной группы (1) и онкобольных через 7 (2), 14 (3) и 30 (4) суток после рентгеновского облучения в дозе 6 Гр на фоне приема препарата альтан.

Известно, что в результате действия ионизирующего излучения на клеточки нарушаются ионное равновесие и мембранный транспорт, изменяется распределение ионов между внутри- и внеклеточной средами [7,14,15], что приводит к дисрегуляции клеточного гомеостаза, и отражается на радиочувствительности клеток. Для группы онкобольных, проходивших курс лучевой терапии и принимавших препарат альтан, методом пламенной фотометрии определяли ионный состав плазмы крови и внутриклеточной среды эритроцитов. В таблице 1 представлены результаты измерений

Влияние рентгеновского облучения и радиопротектора альтана...

концентрации ионов K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} через 7, 14 и 30 суток после облучения организма. Для всех типов ионов, приведенных в таблице, величины концентрации практически не изменяются и близки к значениям для контрольной группы. Можно предположить, что радиопротекторный эффект препарата альтан заключается в стабилизации структурных компонент клеточных мембран, путем адсорбции на плазматической мембране и экранирования от повреждающего действия ионизирующего излучения.

Таблица 1. Концентрация ионов в плазме крови и в эритроцитах здоровых доноров и онкобольных после лучевой терапии в дозе 6Гр на фоне применения препарата альтан.

№ п/п	Объект исследования	Плазма крови				Эритроциты	
		Na^+	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Na^+	K^+
1	Контрольная группа	145,01±2,73	4,05±0,11	11,20±0,51	3,14±0,16	20,62±0,52	76,03±0,96
2	Больные: 7 суток после облучения	149,15±2,67	4,28±0,12	12,17±0,32	3,11±0,09	22,49±0,54	81,95±0,75
3	Больные: 14 суток после облучения	149,20±3,06	4,18±0,12	13,52±0,43	3,45±0,09	22,02±0,42	80,02±0,71
4	Больные: 30 суток после облучения	152,80±4,41	4,20±0,12	13,18±0,39	3,17±0,11	21,31±0,52	79,31±1,14

ВЫВОДЫ

Устойчивость эритроцитов крыс к кислотному гемолизу после однократного рентгеновского облучения в дозе 6 Гр снижается, причем этот процесс пролонгирован в течение достаточно длительного периода времени. Применение препарата альтан повышает кислотную резистентность эритроцитов крыс и онкологических больных, а значительное снижение скорости гемолиза указывает на то, что протектирующий эффект проявляется на этапе образования гемолитической поры в клеточной мембране. У онкологических больных, проходящих курс лучевой терапии и принимающих препарат альтан, сохраняются физиологические значения распределения ионов K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} между внутри- и внеклеточной средами. Альтан оказывает также стимулирующее эритропоэз и общее адаптогенное действие на лабораторных животных и в клинических условиях на онкологических больных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Муксинова К.Н., Мупкачева Г.С. Клеточные и молекулярные основы перестройки кроветворения при длительном радиационном воздействии. М.: Энергоатомиздат, 1990. - 156с.
2. Филенко В.А., Холодный В.С., Горбенко В.Н., Бабенко Н.А. // Биофизичний вісник, 1999 - вип.4, №2. - С.63-68.
3. Ваккер А.В., Кохан В.А., Зенькович Г.А. // Медицинская радиология, 1991. - №5. - С.47.
4. Никулин А.П., Пустовалов И.Ф. // Радиобиология, 1988. - т.28, вып.5. - С.452-454.
5. Финашин А.В., Товстяк В.В. // Биофизичний вісник, 1999 - вип.4, №2. - С.45-53.
6. Дворецкий А.И., Слепченко В.А. Влияние ионизирующей радиации на отдельные системы регуляции внутриклеточного кальция // Современные проблемы экспериментальной биологии и биотехнологии. Днепропетровск, 1985. - С.39-44.
7. Кузин А.М. Структурно-метаболическая теория в радиобиологии. М.: Наука, 1986. - 228с.
8. Горбенко Г.П., Крупин В.Д. // Биофизика, 1995. - т.40, вып.2. - С.389-392.
9. Береснев В.Л., Жильцов И.В. // Медицинская радиология, 1976. - т.21, №5. - С.84-86.
10. Казаков М.Г. // Здоровоохранение (Кишинев), 1972. - №4. - С.29-32.
11. Гительзон И.И., Терсков И.А. Эритрограммы как метод клинического исследования крови. Красноярск: Изд-во Сиб.отд.Акад.наук, 1959. - 250с.
12. Rudenko S.V., Crowe J.H., Tablin F. // Biochemistry (Moscow), 1998. - v.63, №12. - P.1385-1394.
13. Кобозев Г.Н., Троицкая Н.А. // Лаб. дело, 1980. - №8. - С.30-35.
14. Chandra S., Stefani S. // Int. J. Radiat. Biol., 1981. - v.40, №3. - P. 305-311.
15. Кудряшов Ю.Б., Беренфельд Б.С. Радиационная биофизика. М.: Изд-во МГУ, 1979. - 240с.