

ГЕМОПОЕТИЧНА ЧУТЛИВІСТЬ ЩУРІВ ДО РАДІАЦІЙНОГО ВПЛИВУ В АНТЕНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ ОНТОГЕНЕЗУ

О.А. Романова, Т.А. Сидоренко, Н.І. Ізумнова, Л.Г. Гозадзе

Інститут мікробіології та імунології імені І.І.Мечникова АМН України, м. Харків

РЕЗЮМЕ

Проведено вивчення морфологічних та цитогенетичних змін гемопоезу новонароджених щурів під впливом опромінення в антенатальному періоді розвитку. Виявлено, що клітинний склад кісткового мозку тварин, антенатально опромінених відносно малими дозами, свідчить про виражений дисбаланс продукції, визрівання та диференціювання гемопоетичних клітин всіх кровотворних паростків. Серед мієлокаріоцитів опроміненого потомства спостерігається збільшення частки клітин з хромосомними аберациями.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ранній ембріогенез, опромінення, гемопоез

До нашого часу сотні тисяч людей проживають на територіях, забруднених радіонуклідами внаслідок аварії на ЧАЕС, постійно перебуваючи під впливом малих доз радіаційного опромінення [1]. За розвитку атомної енергетики в майбутньому відсутність подібних аварій не тільки не гарантована, а навпаки – вони мають перейти до розряду техногенних, призводячи до неминучого росту відсотку населення, яке зазнало дії малих та відносно малих доз радіації. На цьому фоні першочерговою постає проблема вивчення такого радіаційного впливу на ембріон та плід, а також післянатальний розвиток внутрішньоутробно опроміненого потомства.

При розгляді механізмів впливу радіації на розвиток потомства особливої уваги потребує дослідження змін, які виникають внаслідок опромінення на найраніших стадіях ембріогенезу, оскільки відомо, що радіочутливість ембріону тим вища, чим він незріліший [2]. У наших попередніх дослідженнях [3] показано, що у самиць щурів, одноразово опромінених у дозі 0,5 Гр в період до імплантації ембріонів, народжується потомство з відхиленнями від нормальних параметрів, що характеризують лімфомієлоїдні органи та периферичну кров. Беручи до уваги провідну роль кісткового мозку у кровотворенні та імуногенезі організму, а також недостатність даних літератури про вплив опромінення в пренатальному періоді на центральний лімфогемопоетичний орган, метою даного дослідження було встановлення наявності морфологічних і цитогенетичних змін у гемопоезі антенатально опромінених новонароджених щурів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проведено на щурах популяції Вістар розводки віварію Харківського державного медичного університету МОЗ України.

Для одержання нащадків відбирали самиць двохмісячного віку, першонароджуючих, з масою 200-250 г, та самців того ж віку та ваги, яких тримали у віварії на стандартному харчуванні. На 3-ю добу вагітності самиць одноразово опромінювали рентгенівськими променями на установці РУМ-17 у дозі 0,5 Гр впродовж 40 секунд при шкірно-фокусній відстані 40 см, силі струму 10 мА, напрузі на трубці 120 кВ, фільтрах 0,5 Cu +1мм Al Після опромінення тварин повертали до віварію і тримали у звичайних умовах. Одночасно з дослідною групою формували контрольну групу неопромінених тварин тої ж популяції. Всього для отримання потомства у дослідній групі було використано 36 самиць. Кількість приплоду, отриманого від маток опроміненої групи, становило 6-9, контрольної (неопроміненої) групи – 8-11 особин. Утримання та використання лабораторних тварин відповідало Національним нормам з біоетики [4].

Морфологічний склад кісткового мозку тварин досліджували мікроскопічно у мазках кісткового мозку, пофарбованих за Романовським-Гімзе.

Цитогенетичне дослідження мієлокаріоцитів проводили у хромосомних препаратах кісткового мозку, приготуваних за методом [5].

Морфологічні і цитогенетичні дослідження антенатально опроміненого потомства здійснено у динаміці на 7-, 14- та 30-ту добу післянатального життя. Від кожної новонародженої тварини будь-якого віку було отримано по 3 препарати

кісткового мозку або хромосом мієлокаріоцитів.

Статичний аналіз результатів проводили з використанням параметричних показників середнього арифметичного та середнього квадратичного відхилення. Достовірність різниці між показниками різних груп оцінювали за критерієм Стьюдента і вважали значимою при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Дослідження вмісту ядромістких клітин у кістковому мозку стегна потомства щурів виявило, що на 7-му добу після народження він становив $(6,4 \pm 0,5) \times 10^6$. У дослідній групі та $(7,8 \pm 0,6) \times 10^6$ – у контрольній; на 14-ту добу: $(15,2 \pm 1,1) \times 10^6$ у досліді та $(12,5 \pm 1,0) \times 10^6$ у контролі; на 30-ту добу: $(43,6 \pm 3,5) \times 10^6$ у опромінених щурят та $(33,3 \pm 2,9) \times 10^6$ – у інтактного потомства.

опромінених тварин, можна свідчити, що відсоткове превалювання його клітин над контрольним на 7-му та 14-ту добу досліджень забезпечується перевищенням продукції моноцитарних клітин у цей час, а також присутністю великої кількості плазматичних клітин. Останній факт привертає до себе особливу увагу, оскільки вміст плазматичних клітин у кістковому

Вивчення цитогам кісткового мозку тварин, опромінених у ранньому періоді ембріогенезу до імплантації, виявило, що основний внесок у збільшення кількості ядромісткуючих клітин органу на 14-ту та 30-ту добу у порівнянні з контролем вносять клітини еритроїдного та лімфо-моноцитарного паростків кровотворення (табл.). Як свідчать отримані дані, активізація продукції клітин еритроїдного ряду властива кістковому мозку опроміненого потомства на всіх досліджених етапах його післянатального розвитку. Перевищення кількості еритроїдних клітин у кістковому мозку тварин дослідної групи спостерігається на всіх стадіях їх розвитку – від бластогенезу, особливо яскраво вираженого на 14-ту і 30-ту добу, до передостаннього етапу визрівання. Стосовно післянатального формування лімфо-моноцитарного паростку кісткового мозку антенатально

мозку інтактних тварин обмежується 1%, а у досліджених опромінених в ембріогенезі щурів він перевищує нормальний рівень у 1,6-5,2 рази. У тридцятиденних дослідних щурят відсотковий вміст цих клітин дещо знижується, не набуваючи при цьому нормальних значень, а частка моноцитів, що продукуються кістковим мозком, практично дорівнює контрольній.

Таблиця

Цитограма кісткового мозку щурів, опромінених в ембріональному періоді до імплантації ($M \pm m$)

Вік тварин доба	Групи тварин	Мієлоїдний паросток, %									Загальний вміст клітин, %
		мієлобласти	нейтрофільні промієлоцити	нейтрофільні мієлоцити	нейтрофільні метамієлоцити	паличко-ядерні нейтрофіли	сегментоядерні нейтрофіли	еозинофільні мієлоцити та метамієлоцити	паличко-та сегментоядерні еозинофіли	базофіли	
7	Д	2,3±0,2*	6,1±0,3*	5,0±0,3*	8,1±0,4*	13,0±0,7*	11,5±0,7	0,8±0,05*	1,1±0,05*	1,0±0,05*	48,9
	К	1,6±0,08	2,4±0,1	4,0±0,2	14,2±0,8	16,5±0,9	12,7±0,7	0,6±0,02	0,8±0,04	2,7±0,1	55,5
14	Д	1,2±0,09*	2,0±0,09*	3,8±0,2*	8,0±0,5	15,2±0,7	8,2±0,5	1,6±0,09*	2,4±0,13*	0,9±0,05*	43,3
	К	2,0±0,1	3,7±0,2	5,2±0,3	8,9±0,4	16,7±1,0	10,3±0,6	1,1±0,07	1,2±0,07	1,7±0,09	50,8
30	Д	1,7±0,09	2,7±0,1	3,9±0,1	9,8±0,4	11,9±0,6	6,7±0,3*	3,3±0,1*	3,1±0,1*	1,0±0,05	44,1
	К	1,5±0,06	2,9±0,1	4,4±0,3	11,6±0,8	13,1±0,8	10,5±0,7	0,5±0,02	0,7±0,04	1,0±0,06	46,2
Вік тварин доба	Групи тварин	Еритроїдний паросток, %				Загальний вміст клітин, %					
		еритробласти та пронормоцити	нормоцити базофільні	нормоцити поліхроматофільні	нормоцити оксифільні						
7	Д	1,3±0,07	3,6±0,1	12,5±0,7 *	17,8±0,9	35,2					
	К	1,2±0,07	3,0±0,1	10,3±0,5	16,5±0,9	31,0					
14	Д	1,5±0,08 *	6,8±0,3	9,3±0,5	14,9±0,8	32,5					
	К	0,7±0,03	6,0±0,3	8,4±0,3	13,0±0,6	28,1					
30	Д	1,2±0,06 *	10,2±0,6	12,8±0,7	16,6±0,8	40,8					
	К	0,9±0,03	8,6±0,5	11,1±0,6	14,8±0,8	35,4					
Вік тварин доба	Групи тварин	Лімфо-моноцитарний паросток, %					Загальний вміст клітин, %				
		лімфобласти та пролімфоцити	лімфоцити	плазматичні клітини	моноцити	ретикулярні клітини					
7	Д	1,0±0,06 *	4,4±0,3 *	5,2±0,2 *	5,9±0,3	0,6±0,02	17,1				
	К	1,3±0,07	7,1±0,3	1,0±0,05	5,2±0,3	0,6±0,02	15,2				
14	Д	1,7±0,1	14,8±0,7	3,2±0,3 *	4,6±0,3 *	0,9±0,05	25,2				
	К	1,8±0,1	13,6±0,7	0,9±0,04	3,0±0,1	0,8±0,04	20,1				
30	Д	1,3±0,08	9,0±0,5 *	1,0±0,08 *	2,7±0,1	1,3±0,07 *	15,3				
	К	1,5±0,07	12,6±0,6	0,6±0,02	3,0±0,1	0,7±0,03	18,4				

Примітки: Д – тварини дослідної групи; К – тварини контрольної групи.

* – достовірність відмінностей показників дослідних тварин у порівнянні з контролем $p < 0,05$

Характерним для становлення лімфо-моноцитарного паростку кісткового мозку тварин, підданих опроміненню, є також хвилеподібність вмісту лімфоїдних клітин в органі залежно від строку дослідження. Лімфоцитарна недостатність, достовірно виражена у семидобових дослідних тварин ($p < 0,05$), на 14-ту добу їх розвитку змінюється підвищенням вмісту лімфоцитів у кістковому мозку. Але вже на 30-ту добу дослідження знову спостерігається достовірний спад вмісту цих клітин в органі при тенденції до зменшення відсотку їх бластних форм, а також більш визрілих – пролімфоцитів.

Загальний відсотковий вміст клітин мієлоїдного ряду кісткового мозку опромінених тварин на всіх етапах

дослідження поступає їх вмісту у інтактного потомства на 2,1-6,6%. Вивчення мієлограм свідчить про те, що основною причиною цієї нестачі мієлоїдних клітин є нейтропенія, яка спостерігається у кровотворному органі у опромінених особин всіх вікових груп, стаючи найбільш виразною у найстарших досліджених щурів.

Іншою особливістю мієлоїдного паростку кісткового мозку дослідних тварин на будь-якому етапі післянатального розвитку є надпродукція еозинофільних гранулоцитів, яка у 1,3-4,4 рази перевищує їх нормальне утворення в органі.

Таким чином, дослідження процесу кровотворення у антенатально опромінених особин через клітинний склад основного кровотворного органу – кісткового мозку,

свідчить про виражений дисбаланс утворення, визрівання та диференціювання гемопоетичних та лімфоїдних клітин усіх паростків гемопоезу.

Цитогенетичним дослідженням метафазних клітин кісткового мозку тварин, підданих дії ікс-випромінення у дозі 0,5 Гр на стадії раннього ембріогенезу до імплантації у стінку матки, було виявлено підвищення частки клітин з абераціями хромосом у порівнянні з контролем. У семи-, чотирнадцяти- та тридцятидобового опроміненого потомства частка таких клітин становила (5,6±0,3); (5,4±0,3) та (5,0±0,2)% відповідно, тоді як у нормальних новонароджених тварин вона коливалась від (1,0±0,06) до (1,4±0,08)%. Тип виявлених у дослідних тварин хромосомних аберацій являв собою міжхромосомні обміни, делеції, одиничні фрагменти, а також поліплоїдні клітини.

Відомо, що структурні зміни у декількох генах слугують основою патологічних процесів при багатьох спадкових захворюваннях, для яких характерні аномальна відповідь на uszkodження ДНК, порушення контролю програмованої клітинної загибелі (апоптозу) та підвищена ймовірність пухлинної трансформації [6].

Таким чином, одержані результати свідчать про те, що опромінення у відносно малих дозах у період доімплантаційного ембріогенезу викликає порушення лімфогемопоетичного гомеостазу народжених особин, яке проявляється змінами низки параметрів лімфомієлоїдного органу, особливо у ранні післянатальні строки. Дані зміни можуть трактуватись як наслідки ефекту малих доз радіації, що зачіпають ділянки геному, відповідальні за механізми регуляції проліферації,

диференціовального спрямування поліпотентних стовбурових клітин, а також диференціювання та визрівання клітин-попередників всіх кровоутворювальних паростків лімфомієлоїдної тканини.

ВИСНОВКИ

Післянатальний гемопоез новонароджених, опромінених у ранньому ембріогенезі до імплантації у дозі 0,5 Гр, характеризується низкою різноспрямованих порушень. Підвищена активність синтезу клітин еритроїдного ряду, еозинофільних гранулоцитів у мієлоїдному паростку моноцитів і плазматичних клітин у лімфо-моноцитарному паростку супроводжується недостатністю утворення нейтрофільних гранулоцитів і В-лімфоцитів у кістковому мозку.

Вивчення клітинного складу кісткового антенатально опромінених тварин свідчить про виражений дисбаланс утворення, визрівання та диференціювання клітин усіх паростків гемопоезу.

У кістковому мозку антенатально опроміненого потомства всіх вивчених вікових груп 7, 14, 30 днів виявлено достовірне підвищення вмісту клітин з абераціями хромосом порівняно з неопроміненими новонародженими. Виявлені хромосомні аберації являли собою міжхромосомні обміни, делеції, одиничні фрагменти, поліплоїдні клітини.

Подальшою перспективою досліджень впливу малих доз радіації, отриманих в ранньому ембріогенезі, на розвиток новонароджених особин, вбачається вивчення їх імунного гомеостазу, що обумовлює повноцінність захисту та функціонування організму.

ЛІТЕРАТУРА

1. Котеров А.Н. // Мед. радиология и радиац. безопасность. - 2000. - № 5 - С. 5-19.
2. Gilman E.A., Knede G.W. Pregnancy X-rays and childhood cancers. Effects of exposure age embryos and radiations dose. -Birmingham: GERU-QEMC. - 1986. - 13 p.
3. Романова Е.А., Коляда Т.И., Сидоренко Т.А., и др // Таврический мед.-биол. вестник. - 2004. - Т. 7. - № 1. - С. 118-122.
4. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах. Перший національний конгрес з біоетики, Київ, 2001 р. // Ендокринологія. - 2003. - Т. 8. - № 1. - С. 142-145.
5. Иммунология. Практикум. Получение хромосомных препаратов костного мозга мышей. Производство анализа и учета метафазных пластинок. / Пастер Е.У., Овод В.В., Позур В.К., Вихоть Н.Е. - К.:Вища школа. - 1989. - С. 254-264.
6. Бычкова И.Б., Степанов Р.П., Федоровцева Р.Ф. // Радиационная биология. Радиационная экология. - 2002. - Т. 42. - № 1. - С. 20-35.

ГЕМОПОЭТИЧЕСКАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КРЫС К РАДИАЦИОННОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ В АНТЕНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ОНТОГЕНЕЗА

Е.А. Романова, Т.А. Сидоренко, Н.И. Игумнова, Л.Г. Гогодзе

Институт микробиологии и иммунологии имени И.И. Мечникова АМН Украины, г. Харьков

РЕЗЮМЕ

Проведено изучение морфологических и цитогенетических изменений гемопоэза новорожденных крыс под влиянием облучения в антенатальном периоде развития. Установлено, что клеточный состав костного мозга животных, антенатально облученных относительно малыми дозами, свидетельствует о выраженном дисбалансе продукции, созревания и дифференцировки гемопоэтических клеток всех кроветворных ростков. Среди миелокариоцитов облученного потомства наблюдается повышение доли клеток с хромосомными aberrациями.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ранний эмбриогенез, облучение, гемопоэз

HEMOPOIETIC SENSITIVITY OF THE RATS TO RADIATIVE EFFECT IN ANTENATAL ONTOGENESIS

E.A. Romanova, T.A. Sidorenko, N.I. Igumnova, L.G. Gogadze

I.I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of AMS of Ukraine, Kharkov

SUMMARY

Morphologic and cytogenetic variations of hemopoiesis of rats by influence antenatal radiation was studied. Cellular composition of bone marrow of antenataly irradiated animals testify about expressed disbalance of the production, maturation and differentiation of hemopoietic cells in the all hemopoetic sprouts. It was found the increase of cells with chromosomal aberrations among the irradiated posteritys myelocariocytes.

KEY WORDS: early embriogeny, irradiation, hemopoiesis