

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ

ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛОГІЇ,
ОНКОЛОГІЇ ТА РАДІОБІОЛОГІЇ ім. Р. Є. КАВЕЦЬКОГО

На правах рукопису

МИХАЙЛОВСЬКА Елеонора Володимирівна

**КЛІТИННІ РЕАКЦІЇ СТРОМИ КРОВОТВОРНИХ
ОРГАНІВ ПРИ ДІЇ НА ОРГАНІЗМ ІОНІЗУЮЧОЇ
ТА НЕІОНІЗУЮЧОЇ РАДІАЦІЇ**

03.00.01 - радіобіологія

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора біологічних наук

Київ - 1994



Роботу виконано в Інституті експериментальної радіології Наукового Центру радіаційної медицини АМН України.

Наукові консультанти:

академік НАН України, доктор медичних наук,
професор **З. А. БУТЕНКО**;
доктор медичних наук, професор **М. І. РУДНІВ**.

Офіційні опоненти:

академік НАН України, доктор медичних наук,
професор **В. Г. ПІНЧУК**;
доктор біологічних наук, професор **Л. О. СТЕЧЕНКО**;
доктор біологічних наук, професор **М. Я. СПІВАК**.

Провідна організація:

Харківський науково-дослідний Інститут медичної радіології МОЗ України.

Захист відбудеться " 22 " грудня 1994 р.
о 14.30 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради
Д. 016.38.02 в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України
(252022, Київ-22, вул. Васильківська, 45).

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці ІЕПОР НАН України.

Автореферат розісланий " 19 " листопада 1994 р.

Вчений секретар спеціалізованої ради,
кандидат біологічних наук

Г. Я. ЛАВРЕНЧУК

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ.

Актуальність роботи. Зростаюче забруднення довкілля обумовлює особливу актуальність вивчення біологічних ефектів, індукованих в живому організмі різними енергетичними впливами, зокрема іонізуючою та неіонізуючою радіацією.

Важливе місце в таких дослідженнях посідає пізнання структурно-функціональних змін, які відбуваються в клітинах гемопоетичної системи, віднесеної до "критичних", особливо чутливих до впливу радіації практично при будь-яких дозах опромінення (Ю.Б. Кудряшов, 1987; А.М.Поверенный, 1990).

На сучасному етапі розвитку медицини та біології була сформована і науково обґрунтована точка зору щодо ролі кровотворення у реалізації біологічних ефектів дії радіації на живий організм (L.G. Laytha, 1961, 1975; М.О.Раушенбах, И.Л. Чертков, 1965; Г.П. Груадев, 1968; А.К. Гуськова, Г.Д. Байсоголов, 1971; С.П. Ярмоненко, 1972; Л.Б. Пинчук, П.В. Яралова, 1975; И.Г. Акоев, В.Г. Тяжелова, 1977; К.С. Терновой, Л.Б. Пинчук, В.Г. Николаев і співавт., 1983). Але залишається надзвичайно багато проблем, які вимагають серйозного та цілеспрямованого вивчення.

Зокрема, ще й досі залишаються маловивченими біологічні ефекти впливу на кровотворення доз іонізуючої радіації, які не викликають гострих реакцій (М.Інгрем, 1974; Н.Н. Rossi, 1977; Я.И. Серкиз, 1989; Л.Б.Пинчук, Я.И.Серкиз і співавт., 1989). Далі, в реальному житті іонізуюча радіація звичайно впливає на організм людини не самостійно, а в поєднанні з дією різноманітних чинників, завдяки чому практично неможливо виділити "чисту" радіаційну компоненту (Я.И. Серкиз, В.Г. Пинчук і співавт., 1993).

Тому центр уваги фундаментальних радіобіологічних до-

сліджень почав переміщуватися з добре вивчених ефектів гострого опромінення (різко виражених і відносно швидко текучих) на ймовірні наслідки, викликані відносно невеликими дозами опромінення, особливо в поєднанні з іншими екологічними факторами.

Відомо, що для вивчення ефектів дії факторів довкілля на систему крові людини основним біологічним матеріалом є периферична кров. Але будь-яке порушення фізіологічної рівноваги в системі гемопоезу формується в органах кровотворення задовго до появи змін, що потім рееструються безпосередньо в крові. З появою великого контингенту осіб, які постраждали внаслідок аварії на ЧАЕС, виявилася ймовірність виникнення не менш істотних змін в стромальних клітинах кровотворного мікрооточення, вивчення яких має велике значення (З.А.Бутенко і співавт., 1984; Л.А.Зотиков, 1990; Я.И.Серкиа, В.Г.Пинчук, Л.Б.Пинчук і співавт., 1992). Завдяки успіхам останніх десятиріч у вивченні клітинних основ гемопоезу та імунітету очевидно, що гемопоетичні клітини в органах кровотворення піддаються локальним регулюючим впливам з боку стромальних клітин, які формують кровотворне мікрооточення (А.Я.Фриденштейн, Е.А.Лурия, 1980; И.Л.Чертков, О.А.Гуревич, 1984).

Мікрооточення - це той плацдарм, на якому мігруючі кровотворні попередники проліферують та дозрівають, піддаючись послідовному впливу різних факторів диференціації. Саме тут визначається доля стовбурних кровотворних клітин та повноцінність їх подальшого розвитку. В численних дослідженнях доведено, що стромальні елементи становлять радіорезистентну популяцію клітин і зберігають свої специфічні функції під дією досить високих доз іонізуючої радіації. Разом з тим,

навіть під дією невеликих рівнів радіації, в стромальних клітинах рееструються такі зміни, як зниження клоногенних потенцій, здатності до колонізації кровотворними клітинами та порушення гемопоетичної регуляції при гетеротропній трансплантації (В. DeCowan, L.Lecois et al., 1976; Е.А. Жербин, А.Б. Чухловин, 1989; А.А. Ярилин і співавт., 1993).

В радіореізистентних клітинах, як і у радіочутливих, під впливом радіації виникають численні пошкодження на молекулярно-генетичному та структурно-функціональному рівнях, але їх виживання забезпечується більш активною репарацією виникаючих пошкоджень (А.Г. Коноплянников, 1984). Популяція продовжує проліферувати, і структурно-функціональні перетворення в клітинах, індуковані радіацією, зникають або залишаються непоміченими. Слід також мати на увазі, що в нормальному геномі існують ділянки, які під впливом різних (у тому числі, і радіаційних) факторів здатні до патологічної активації, з наступною злоякісною трансформацією клітин (К.П.Хансон, В.И.Евтушенко, 1986).

Отже, роль стромальних клітин в регуляції гемопоезу не викликає сумнівів (J.Byron, 1970,1972; T.Terasava et al., 1980 та інші). Припускається, що стромальні клітини продукують специфічні ростково-диференціюючі фактори і здійснюють свій вплив на кровотворення опосередковано, шляхом дистанційної або контактної взаємодії з гемопоетичними елементами (Е. Bentley, 1981; Е.Б. Владимирская, 1985 та інші).

Проте, такі форми взаємодії стромальних та гемопоетичних клітин, як періполезіс (зовнішні контакти гемопоетичних клітин з поверхнею стромальних елементів) та емперіполезіс ("блукання" клітин гемопоетичного ряду в цитоплазмі стромальних клітин) залишаються практично не вивченими (J.Humble,

N. Jayne, R. Pulvertaft, 1956; L. Vago, L. Berta, A. Boldorini et al, 1989; О.И. Науменко, 1993).

З'ясування цих проблем неможливо без експериментальних досліджень, які дозволяють моделювати на тваринах *in vivo*, або в культурах тканин і клітин *in vitro* морфологічні та функціональні зміни та розробляти критерії можливої екстраполяції отриманих даних на організм людини.

Мета і завдання дослідження. Метою роботи є вивчення дії іонізуючої (рентгенівське опромінення в дозах від 0,3 до 2,0 Гр) та неіонізуючої (НВЧ-опромінення при щільності потоку потужності 0,25 мВт/см²) радіації в роздільному та комбінованому варіантах на стромальні клітини кровотворних органів - їх морфо-функціональні характеристики, потенційні можливості та міжклітинні взаємодії в системі *in vitro* - для визначення діагностичних та прогностичних можливостей використання отриманих даних.

Для досягнення мети дослідження були поставлені такі завдання:

- вивчити в експерименті характер морфологічних реакцій клітин крові та кровотворних органів тварин на загальні радіаційні впливи та з'ясувати залежність виявлених змін від виду та дози радіації;

- провести *in vitro* прижиттєву хронометрію тривалості мітозу та його фаз в стромальних клітинах кровотворних органів опромінених експериментальних тварин для виявлення залежності цього процесу від дії радіації;

- вивчити особливості взаємодії стромальних клітин та лімфоцитів по типу емперіполевіса у стромі кровотворних органів інтактних та опромінених тварин;

- вивчити характер морфо-функціональних змін у центральній та периферичній ланках тромбоцитарного диферона експериментальних тварин в умовах дії іонізуючої та/або неіонізуючої радіації;

- оцінити особливості взаємодії лейкоцитів та мегакариоцитів в кістковому мозку експериментальних тварин в нормі та при радіаційних впливах.

Наукова новизна роботи. Отримані дані закладають основу для розшифрування механізмів роздільного і комбінованого впливу іонізуючої та неіонізуючої радіації на стромальний компонент кровотворного мікрооточення завдяки використанню, окрім традиційного описового, методу цейтраферної мікрокінозйомки живих клітин у фазовому контрасті. Це дозволило об'єктизувати уяву про механізм та спрямованість морфо-функціональних перетворень у клітинах. Вперше в порівняльному аспекті отримані кількісні характеристики тривалості мітозу в стромальних клітинах кровотворних органів під дією радіації в різних дозах. Встановлено, що після впливу на організм радіаційних факторів в дозах, які не викликають гострих променевих реакцій, в стромальних клітинах культур кровотворних органів *in vitro* реєструються порушення цитоплазматичних контактів та скорочення тривалості мітозу незалежно від виду і дози радіації.

Отримано нові дані про характер взаємодії стромальних клітин та лімфоцитів по типу емперіполезісу, зокрема під дією на систему крові радіаційних факторів. Вперше методом цейтраферної мікрокінозйомки живих клітин кісткового мозку вивчена взаємодія мегакаріоцитів з лейкоцитами, з'ясовано, що цей процес не має нічого спільного з феноменом емперіполезісу.

Вперше показано, що величина пулу тромбоцитів периферичної крові визначається не тільки інтенсивністю тромбоцитопоезу, але й взаємодією мегакаріоцитів з кістковомозковими лейкоцитами, які мають здатність викликати лізіс зрілих мегакаріоцитів з наступним вивільненням тромбоцитів. Відкрите явище дозволяє, зокрема, по-новому пояснити механізм пострадіаційних змін кількості тромбоцитів у периферичній крові.

Теоретичне і практичне значення. Отримані результати та їх теоретичне узагальнення істотно доповнюють і розширюють уявлення про дію іонізуючої радіації в дозах від 0,3 до 2,0 Гр, неіонізуючої радіації та їх комбінації на клітини строми кровотворних органів та характер їх взаємодії з гемопоетичними елементами. Отримані в роботі дані можуть бути використані для розробки нових методів біоіндикації дії радіації на організм. Для цього пропонується застосувати метод культури стромальних клітин кровотворних органів, а проліферативна активність клітин, міцність міжклітинних зв'язків та закінченість емперіоплезису пропонуються як критерії пострадіаційних змін.

Виявлені морфо-функціональні зміни стромальних елементів кровотворних органів вимагають розроблення шляхів їх корекції для більш ефективного відновлення кровотворення в опроміненому організмі в цілому. З іншого боку, при лікуванні радіаційно-індукованих порушень гемопоезу певні потенційні можливості стромальних елементів можуть бути використані для встановлення терапевтичної ефективності застосованих препаратів і служити також певним прогностичним тестом.

Для практичної медицини безперечно значення має відкрите нове явище участі сегментоядерних нейтрофільних лейко-

цитів кісткового мозку в процесі вивільнення тромбоцитів з мегакаріоцитів та можливість модуляції цього процесу при дії радіаційного фактору. Можливо, інгібіторний ефект високих доз іонізуючого опромінення на викид тромбоцитів може бути акорегований шляхом використання медикаментозних препаратів, здатних активізувати функції сегментоядерних лейкоцитів.

Матеріали цієї роботи використовуються в учбовому процесі у вищих навчальних закладах України та країн СНД.

Положення, які виносяться на захист.

1. На основі наших даних щодо поведінки стромальних клітин кровотворних органів в умовах наступного після опромінення культивування *in vitro*, ці клітини слід віднести до досить радіочутливої популяції. Виявлено стимулюючий та блокуючий ефекти радіації на фази мітозу клітинного циклу, зниження сили міжклітинних контактів, посилення екстраузі ядерного матеріалу, утворення багатоядерних та гігантських форм. Такі прояви дії радіації реєструються в клітинах строми кровотворних органів експериментальних тварин в діапазоні доз 0,3 - 2,0 Гр (іонізуюча) та при щільності потоку потужності 0,25 мВт/см²(неіонізуюча радіація) .

2. Іонізуюча радіація у дозах вище 1,0 Гр сприяє накопиченню *in vitro* стромальних клітин в стані емперіполеазису як особливої форми їх взаємодії з лімфоцитами, при одночасному інгибуванні виходу останніх із стромальних елементів, що оцінюється як "незавершений" емперіполеазис.

3. Розмір пулу тромбоцитів в периферичній крові обумовлений не тільки власне інтенсивністю тромбоцитопоезу, але й взаємодією мегакаріоцитів з кістковомозковими лейкоцитами. Останні здатні викликати лізіс зрілих мегакаріоцитів з наступним вивільненням тромбоцитів. Іонізуюча радіація

(0,3-0,5 Гр) стимулює цей процес, особливо в комбінації з неіонізуючим опроміненням. В дозах рентгенівського опромінення 1,0 и 2,0 Гр спостерігається зниження кількості мегакаріоцитів в кістковому мозку та інгібіція їх взаємодії з лейкоцитами. Відкрите явище дозволяє по-новому пояснити механізм пострадіаційних змін кількості тромбоцитів в периферичній крові.

Апробація роботи. Матеріали дисертаційної роботи доповідались та обговорювались на:

- підсумкових наукових конференціях Українського наукового центру радіаційної медицини АМН України (Київ, 1989-1993);

- всеукраїнських конференціях та з'їздах: "Актуальні питання радіаційної медицини" (Київ, 1989); "Актуальні проблеми ліквідації медичних наслідків аварії на ЧАЕС" (Київ, 1992); "Чорнобиль та здоров'я людей" (Київ, 1993); семінарах: "Прикладні та теоретичні аспекти радіаційної медицини: стан та прогноз" (Київ, 1991); "Багатофакторний аналіз впливу Чорнобильської катастрофи на систему кровотворення" (Київ, 1992);

- I и II школах-семінарах країн СНД "Тромбоцит як тест-система фізіологічних та патологічних станів людини" (Москва, 1990; Ташкент, 1991);

- з'їздах, конференціях, симпозиумах країн СНД "Ураження та відновлення кровотворення при гострій променевої хворобі" (Москва, 1990); "Активация кровотворення та радіореаистентність організму" (Обнінськ, 1990); "Ураження ДНК лейкоцитів крові" (Москва, 1988); "Морфологія та розвиток органів імунної системи" (Пермь, 1988); радіобіологічний з'їзд (Київ, 1993);

- міжнародних симпозиумах, конференціях та нарадах:

I італійсько-український симпозиум "Фундаментальні аспекти радіаційної медицини і радіології (Рим, 1991); "Проточна цитометрія як метод дослідження в медичній науці і практиці" (Київ, 1992); "Імунний моніторинг з використанням двокольорової флуориметрії" (Київ, 1993), II українсько-італійський симпозиум "Фундаментальні аспекти радіаційної медицини та радіології (Київ, 1993).

Публікації. По темі дисертації опубліковано 31 наукова робота.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на **220** сторінках машинописного тексту, складається з вступу, огляду літератури, розділу "Матеріал і методи дослідження", 6 глав власних досліджень, обговорення одержаних даних, заключення, висновків та покажчика літератури, який містить **235** джерел. Робота ілюстрована **74** мікрофото, **27** таблицями.

З М І С Т Р О Б О Т И

Матеріал та методи дослідження.

В основу роботи покладено результати вивчення 2500 препаратів культур лімфатичних вузлів, тимуса і кісткового мозку 150 інтактних та 167 експериментальних тварин, підданих роздільному та комбінованому впливу іонізуючої та неіонізуючої радіації. Експеримент проведено на статевозрілих самцях щурів лінії "Фішер" з масою 130 - 250 г, які знаходилися в умовах віварія ІЕР НЦРМ АМН України на раціоні за загальноприйнятими нормами (П.И. Западнюк і співавт., 1962).

Одноразове тотальне рентгенівське опромінення тварин проводили на апараті РУМ-17 в режимі відкритого поля через фільтр AL-3,0. Експозиційна доза в повітрі 7,74 мКл/кг (пог-

линенна доза 0,3 Гр), 12,9 мКл/кг (0,5 Гр), 25,8 мКл/кг (1,0 Гр), 51,6 мКл/кг (2,0 Гр) при потужності дози 0,13 мА/кг а напругою на трубіці 180 кВ, силою току 15 мА та шкіряно-фокусній відстані 50 см.

Мікрохвильове опромінення (НВЧ-0) проводили у "безехових" камерах з коефіцієнтом відбиття матеріалу не нижче 0,3 % (М.И. Руднев, В.В. Варецкий, 1992). Джерелом мікрохвиль був вітчизняний мегатрон безперервного випромінення частотою 2450 МГц при максимальній вихідній потужності порядку 600 Вт. Щільність потоку потужності 0,25 мВт/см².

Кожна серія дослідів включала групи тварин для роздільного та комбінованого опромінення, а також групи неопромінених (контрольних) тварин, підданих удаваному опроміненню.

Оцінка гематологічних показників кожної експериментальної тварини проводилася з використанням традиційних методів гематологічного аналізу, включаючи підрахунок лімфоцитогам.

* Для гістологічного вивчення шматочки тканин кровотворних органів інтактних та опромінених тварин фіксувалися в 10 % розчині формаліну. Для оглядових барвників (гематоксилін-еозин, гематоксилін-пікрофуксин) використовувалися зрізи, виготовлені з біоматеріалу, розміщеного в парафінових блоках.

Для вивчення морфо-функціональних реакцій клітин строми кровотворних органів експериментальних тварин використовувалася класична методика культивування фрагментів тканин в плазмовому згустку (А.А. Тимофеевский, 1947; Н.Т.Хлопин, 1947; Е.А.Лурия, 1977). Термін культивування від 24 годик до 10 діб. На третю добу після початку культивування проводилася перша аміна "рідкої фази" поживного середовища, яка

повторювалася кожні 3 доби. Всі маніпуляції проводилися в стерильних умовах.

Спостереження за ростом культур проводилося щоденно при малому збільшенні мікроскопа (ок. $\times 7$; об. $\times 10$) Для цитоморфологічного аналізу препарати забарвлювалися за методом Дженера-Гімза або гематоксилін-еозином (Д.Пол, 1968).

Вивчення проліферативної активності стромальних клітин проводилося шляхом підрахунку середньої кількості мітозів на 1000 клітин зони росту культур (И.А.Алов, 1973).

Проліферативний та метаболічний потенціал стромальних клітин досліджували авторадіографічним методом з використанням радіоактивних попередників ДНК (^3H -тимідін), РНК (^3H -урідін), білку (^{35}S -метіонін) (О.И.Епифанова і співавт., 1977; П.М. Мажуга, 1978; В.И.Малжк, 1980).

Площини профілей ядер стромальних клітин зон росту культур кровотворних органів вивчали на комп'ютерному аналізаторі зображень IBAS - 2000, фірми "Opton" (Німеччина) з використанням програмного забезпечення фірми, а також програм та алгоритмів, розроблених в лабораторії електронної мікроскопії Київського НДІ нейрохірургії (А.В. Булавко, 1992).

Матеріал для електронної мікроскопії готували за загально прийнятою методикою (В.І, Бирюєва і співавт.,1963). Напівтонкі зрізи готували на ультрамікротомі LKB - 8800 (Швеція), контрастували ураніацетатом і цитратом свинцю. Аналіз зрізів проводили на електронному мікроскопі LM -440 ("Philips" Нідерланди) або JEM - 7 (Японія).

Спостереження за живими клітинами проводили за допомогою вітчизняного мікроскопа МБІ-13 в фазовому контрасті. Цейтраферна мікрокінса'йомка здійснювалася кінокамерою "Кон-

вас" із швидкістю 1 кадр в 10 секунд (об'єktiv x 90) на 35 мм плівці КН-4 або А-2. Для зручності наукового аналізу та перегляду отриманих даних проводилося копіювання відзнятого матеріалу в кіно- на відеоплівку.

Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами використовували критерій Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.

Встановлено, що в діапазоні доз опромінення 0,3-0,5 Гр найменш чутливою компонентою крові є еритроцити, що повністю збігається з даними літератури (О.И. Белоусова, 1979; Я.И. Серкиа, В.Г. Пивчук, Л.Б. Пинчук і співавт., 1992). Але арілі клітини еритроїдного ряду чутливі до НВЧ-опромінення, особливо на протязі перших 7 діб після опромінення. При цьому відбувається істотне зниження кількості еритроцитів, вмісту гемоглобіну та прискорення швидкості асідання еритроцитів. Подібний стан змін виявився і при комбінованій дії обох типів радіації.

Найбільш виразним виявилось зменшення кількості лімфоцитів в периферичній крові з явно визначеною залежністю від дози рентгенівського опромінення. Проте лімфоцитопенія при дозах рентгенівського опромінення 0,3 - 1,0 Гр зберігається недовго і в межах місяця кількість цих клітин у периферичній крові повертається до нормативних значень. При дії рентгенівського опромінення 2,0 Гр та при комбінованій дії радіації лімфоцитопенія зберігається довше і кількість лімфоцитів через 1 місяць не досягає норми (табл.1).

Аналіз лімфоцитограм виявив певні зміни співвідношення різних за розміром лімфоцитів, що може мати істотне значення

Таблиця 1. Відносна (%) і абсолютна ($\times 10^9$ /л) кількість лімфоцитів в периферичній крові експериментальних тварин (М \pm м)

Дози опромінення!		Термін після опромінення		
		!_1 доба(n=10)!	!_7 діб_(n=10)!	!30 діб_(n=10)!
РО	0,3 Гр	%! 63,56 \pm 2,30!	67,70 \pm 2,45!	66,67 \pm 2,68!
	контроль	%! 69,50 \pm 1,76!	69,80 \pm 3,73!	65,40 \pm 1,16!
		абс.! 4,07 \pm 0,50!	7,05 \pm 0,85!	8,24 \pm 0,88!
	контроль	абс.! 7,58 \pm 0,73!	8,30 \pm 0,47!	8,30 \pm 0,48!
<hr/>				
РО	0,5 Гр	%! 58,75 \pm 1,25!	61,40 \pm 2,30!	70,88 \pm 2,42!
	контроль	%! 70,17 \pm 1,76!	68,50 \pm 0,87!	67,50 \pm 1,66!
		абс.! 4,20 \pm 0,40!	6,38 \pm 0,49!	7,22 \pm 0,96!
	контроль	абс.! 6,78 \pm 0,82!	6,93 \pm 0,32!	8,10 \pm 1,71!
<hr/>				
РО	1,0 Гр	%! 39,68 \pm 2,37!	58,53 \pm 4,12!	56,27 \pm 2,26!
	контроль	%! 69,20 \pm 0,81!	68,25 \pm 1,49!	61,83 \pm 3,39!
		абс.! 1,93 \pm 0,15!	4,34 \pm 0,96!	5,12 \pm 0,42!
	контроль	абс.! 7,86 \pm 0,75!	7,32 \pm 0,57!	6,21 \pm 0,55!
<hr/>				
РО	2,0 Гр	%! 22,00 \pm 2,07!	40,67 \pm 3,10!	52,29 \pm 4,08!
	контроль	%! 70,50 \pm 1,58!	69,25 \pm 0,82!	67,50 \pm 2,15!
		абс.! 0,91 \pm 0,09!	2,66 \pm 0,44!	6,89 \pm 1,31!
	контроль	абс.! 8,56 \pm 0,41!	7,55 \pm 0,41!	9,08 \pm 0,68!
<hr/>				
НВЧ-0 0,25 мВт/см ²				
		%! 53,80 \pm 3,09!	67,90 \pm 2,70!	65,00 \pm 2,24!
	контроль	%! 71,20 \pm 1,77!	70,88 \pm 1,60!	69,90 \pm 1,87!
		абс.! 6,15 \pm 0,44!	7,15 \pm 0,66!	7,03 \pm 0,78!
	контроль	абс.! 7,51 \pm 0,72!	8,80 \pm 0,53!	9,63 \pm 1,20!
<hr/>				
Комбіноване опромінення НВЧ-0 0,25мВт/см ² + РО 0,5 Гр				
		%! 54,00 \pm 3,43!	57,20 \pm 3,05!	69,00 \pm 1,46!
	контроль	%! 68,88 \pm 2,02!	68,00 \pm 1,22!	66,20 \pm 2,22!
		абс.! 2,54 \pm 0,25!	2,55 \pm 0,40!	3,00 \pm 0,19!
	контроль	абс.! 7,92 \pm 0,87!	7,13 \pm 0,90!	8,31 \pm 1,31!
<hr/>				

Примітки: РО-рентгенівське опромінення; НВЧ-0-НВЧ-опромінення.

виділений жирніт - достовірна відміна від контрольних показників, $p < 0,05$;

для вирішення питання про відносну радіочутливість різних форм цих клітин.

Привертають до себе увагу і дані про збільшення в периферичній крові кількості лімфо-ретикулярних клітин, особливо при дозах опромінення 0,3 та 0,5 Гр та сумісній дії з НВЧ-опроміненням.

Рентгенівське опромінення в діапазоні доз 0,3-0,5 Гр, як і НВЧ-радіація, не чинить вираженого впливу на кількість гранулоцитів, що супроводжується відносним збільшенням їх вмісту серед інших клітин білої крові.

Важливі результати отримані при підрахунках кількості тромбоцитів в периферичній крові. Вплив на організм іонізуючої радіації в дозі 0,5 Гр або НВЧ-опромінення призводить до значного збільшення їх кількості, а комбінована дія цих чинників викликала максимальне збільшення тромбоцитів в периферичній крові експериментальних тварин (табл. 2). При дії рентгенівського опромінення в дозах 1,0 та особливо 2,0 Гр, навпаки, розвивається тромбоцитопенія.

Для більш коректного аналізу дії радіації на стромальні елементи попередньо були проведені досліді по виявленню морфо-функціональних характеристик зон росту первинних культур кровотворних органів (кістковий мозок, тимус, лімфатичні вузли) інтактних тварин. Досконально проаналізовані клітинний склад цих культур, процеси міграції і взаємодії клітин, їх ультраструктурна організація та тривалість перебігу окремих фаз мітотичного циклу.

Встановлено, що як стромальні, так і гемопоетичні клітини зон росту культур кровотворних органів тварин, опромінені в дозах 0,3 та 0,5 Гр, НВЧ-опромінення та їх комбінації, морфологічно не відрізняються від клітин інтакт-

Таблиця 2. Кількість тромбоцитів ($\times 10^9 / \text{л}$) в периферичній крові експериментальних тварин ($M \pm m$)

Дози опромінення	Час після впливу	Кількість тромбоцитів опромінення	Кількість тромбоцитів контроль
	1 доба	$902,08 \pm 62,40/n=12$	$1807,86 \pm 29,27/n=7$
PO 0,5Гр	7 діб	$1211,08 \pm 116,97/n=10$	$1831,36 \pm 36,69/n=7$
	1 доба	$467,63 \pm 40,61/n=9$	$1881,00 \pm 50,20/n=7$
PO 1,0Гр	7 діб	$679,60 \pm 59,61/n=15$	$1801,86 \pm 28,16/n=7$
	1 доба	$328,46 \pm 26,70/n=13$	$1809,00 \pm 49,73/n=7$
PO 2,0Гр	7 діб	$448,08 \pm 60,53/n=12$	$1886,86 \pm 32,88/n=7$
НВЧ-0	1 доба	$990,40 \pm 52,50/n=10$	$1980,60 \pm 26,13/n=7$
0,25мВт/см ²	7 діб	$1206,80 \pm 180,30/n=9$	$1862,28 \pm 47,22/n=7$
Комбіноване опромінення: НВЧ-0 0,25 мВт/см + PO 0,5 Гр			
	1 доба	$1252,30 \pm 132,96/n=7$	$1782,50 \pm 38,67/n=7$
	7 діб	$1423,20 \pm 267,90/n=5$	$1923,00 \pm 37,53/n=7$

Примітки:

PO - рентгенівське опромінення,

НВЧ-0 - НВЧ-опромінення;

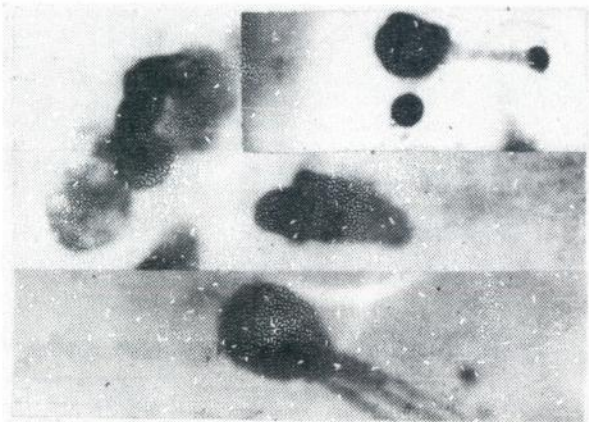
виділений шрифт - достовірна відміна від контрольних показників, $p < 0.05$.

ЛНБ ім. В. Стефаніка
АН України

них тварин. Але при дії цих чинників лімфоцити виявляють ознаки підвищеної рухливості, що реєструється за появою серед

них значної кількості клітин, які мають форму "ручної люстерки", "летючої комети" та інших дуже різноманітних фігур (мал. 1).

При дії іонізуючого опромінення в дозах 1,0 та 2,0 Гр навпаки, виявляються морфологічні ознаки перебудови структурної композиції зон росту культур. Значна кількість стромальних клітин втрачає зв'язок із сусідніми елементами, з'являються багатоядерні та гігантські клітини, клітини з ознаками патології мітозу, екструзії ядерного матеріалу та кламатозних "вибухів". Ці аномальні риси диференціювання стромальних клітин відображають ступінь їх радіаційного ураження.



Мал. 1. Різноманітна форма лімфоцитів в зонах росту культур кровотворних органів тварин, які були опромінені неіонізуючою радіацією у комбінації з рентгенівським опроміненням в дозі 0,5 Гр. Тотальні препарати, забарвлені за методом Дженера-Гімаа. Мікрофото, ок. $\times 10$, об. $\times 90$.

Методом прижиттєвої хронометрії встановлено, що загальна тривалість мітозу в стромальних клітинах кровотворних органів експериментальних тварин незалежно від виду та дози опромінення зменшена в основному за рахунок скорочення терміну профазі. При рентгенівському опроміненні тварин в дозах 0,3 та 0,5 Гр, НВЧ-опроміненні або їх комбінації, ефект стимуляції мітотичного поділу клітин пов'язаний також із скороченням терміну метафазі. Але при опроміненні в дозах 1,0 та 2,0 Гр нерідко має місце гальмування метафазі, а в деяких випадках навіть її блокування ("заморожені" метафазі). Показники тривалості ана- і телофазі в стромальних клітинах, які мітотично діляться, залишаються найбільш стабільними і в умовах проведених дослідів не відрізняються від показників інтактних тварин.

Таким чином, радіаційний фактор в дозах як 0,3 і 0,5 Гр спроможний індукувати процеси ділення стромальних клітин кровотворних органів, що є ознакою їх певної чутливості до дії радіації. Дози рентгенівського опромінення 1,0 та 2,0 Гр поряд із стимуляцією мітозу у профазі, інгібують поділ клітин в метафазі, що може спричинитися до загального блокування розмноження стромальних клітин.

Вплив радіації на ділення стромальних елементів тісно пов'язаний з іншим ефектом цього чинника, а саме з процесами взаємодії між клітинами. Встановлено, що радіація призводить до втрати міжклітинних контактів, що, на наш погляд, створює найкращі умови для реалізації програми поділу клітин. Але у разі опромінення тварин в дозах 1,0 та 2,0 Гр масова втрата міжклітинних контактів характеризується двома моментами. З одного боку, стимулюється вхід клітин до мітотичного циклу (зменшення терміну профазі), а з другого - по-

діл "блокується" на стадії метафази.

Описане явище збагачує наші знання щодо дії радіації на процеси розмноження клітин та пов'язані з ними механізми радіаційної клітинної смерті.

Радіація впливає й на інші типи взаємодії між клітинними елементами зон росту органних культур. Особливої уваги при цьому заслуговують такі форми взаємодії, як емпірополезіс між стромальними елементами та лімфоцитами і періполезіс між мегакаріоцитами та нейтрофільними лейкоцитами.

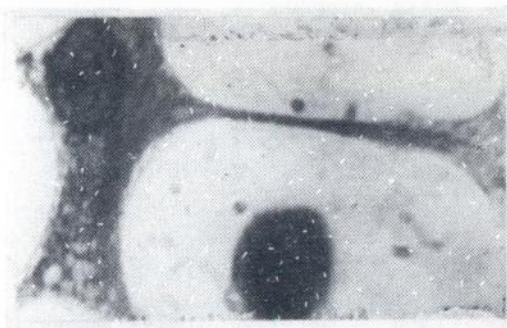
Явище емпірополезісу полягає у тимчасовому знаходженні лімфоцита в цитоплазматичній вакуолі стромальної клітини з подальшим виходом його в зовнішнє середовище без наявних морфологічних пошкоджень обох партнерів. За допомогою цейтраферної кінозйомки нами встановлено декілька стадій цього процесу. На першій з них реєструється зближення лімфоцита і його прикріплення до зовнішньої поверхні стромальної клітини (мал. 2 а). Друга стадія становить собою процес обтікання лімфоїдної клітини цитоплазматичними псевдоподіями стромальної клітини і утворення вакуолі, в якій лімфоцит занурюється в цитоплазму останньої (мал. 2 б, в). Час перебування лімфоїдної клітини у цитоплазмі може сягати кількох годин, на протязі яких може навіть здійснюватися її мітотичний поділ (мал. 2 г). Остання стадія емпірополезісу завершується виходом неушкоджених лімфоцитів у зовнішнє середовище через цитоплазматичний рукав, який формується стромальними елементами (мал. 2 д, е).

Явище емпірополезісу найчастіше виявляється в органних культурах тимуса та лімфатичних вузлів. В культурах кісткового мозку інтактних тварин виявити цей феномен не вдається.

Раніш нами сформульоване припущення, що стромальні



а) наближення лімфоцита і прикріплення його до зовнішньої поверхні стромальної клітини



б) обтікання лімфоцита цитоплазматичними псевдоподіями стромальної клітини



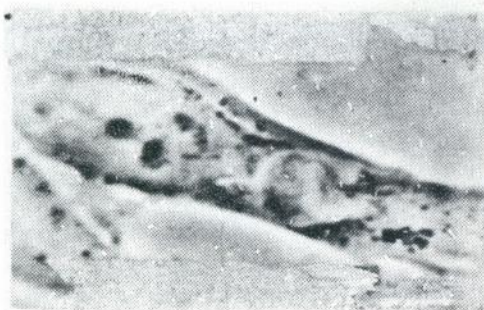
в) утворення вакуолеподібного простору, в якому опиняються кровотворні клітини

Мал. 2. Стадії взаємодії стромальних клітин та лімфоцитів по типу емперіпозису в зонах росту культур кровотворних органів. Тотальні препарати забарвлені за методом Дженера-Гімза (а-г), фазовий контраст (д,е). Мікрофото, ок. $\times 10$, об. $\times 90$.

Мал. 2 (продовження).



2г) мітотичний поділ лімфоцитів, які знаходяться в цитоплазмі стромальних клітин



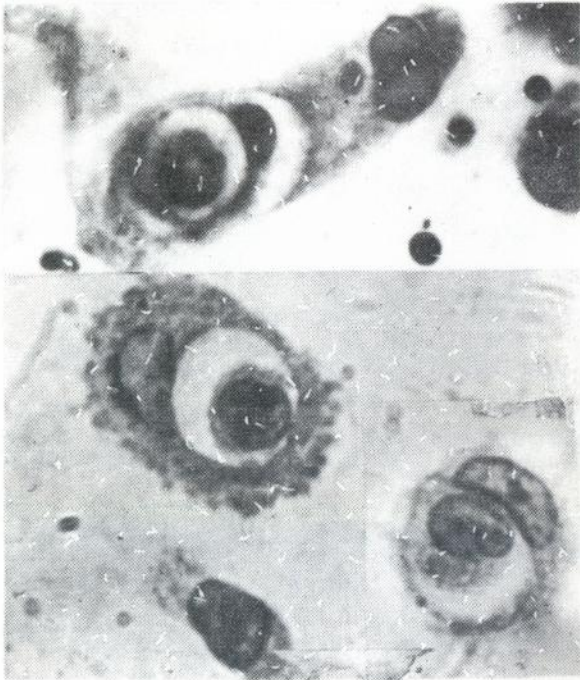
2д,е) вихід лімфоцитів в оточуючий простір через цитоплазматичний рукав, який утворюється стромальною клітиною.

елементи, які здатні таким чином взаємодіяти з лімфоцитами, можуть розглядатися як прототип клітин - "нянь", котрі у значній кількості виявляються в субкортикальній частині тимуса (Е.В.Михайловська, 1986). Якщо це так, то за аналогією можна припустити, що явище емперіоплезису функціонально пов'язано з процесами морфо-функціонального дозрівання деяких типів Т-лімфоцитів з придбанням останніми фенотипових характеристик геному клітини-"хааяіна".

В умовах опромінення тварин в дозах 0,3 та 0,5 Гр процес емперіоплезису в культурах кровотворних органів якісно не змінюється. Але при цьому клітини з ознаками емперіоплезису зустрічаються дещо частіше, ніж у нормі. Можливо це пов'язане з відомою цитолітичною дією радіації на лімфоїдні клітини і розрідненням первинних культур, що дає змогу демаскувати стромальні елементи з наявністю лімфоцитів у цитоплазмі.

У тварин, опромінених в дозах 1,0 та 2,0 Гр, значно збільшується кількість стромальних клітин з явищами емперіоплезису. Але останній протікає якісно інакше, ніж у нормі. В деяких стромальних елементах після завершення емперіоплезису в цитоплазмі залишається колоподібна вакуоль з одним або декількома лімфоцитами. Вакуоль зміщує ядро стромальної клітини на периферію; клітина набуває "персневидної" форми, але при цьому вихід лімфоцитів в середовище не здійснюється (мал. 3). Цікаво, що при таких дозах радіації "персневидні" клітини реєструються і серед елементів культур кісткового мозку.

Таким чином, при дії радіації в дозах вище 1,0 Гр відбувається блокування виходу внутріклітинних лімфоцитів, що дозволило нам оцінити цей феномен як незавершений ем-



Мал. 3. Взаємодія стромальних клітин з лімфоцитами по типу "незавершеного" емперіполезісу в зонах росту культур кровотворних органів тварин, підданих рентгенівському опроміненню в дозі 2,0 Гр. Тотальні препарати, забарвлені за методом Дженера-Гімаа. Мікрофото, ок. $\times 10$, об. $\times 90$.

періполезіс. Враховуючи істотно важливе значення емперіполезісу для формування Т-клітинного компартменту лімфоцитів, блокування його іонізуючою радіацією в дозах вище 1,0 Гр може становити ще один аспект розвитку пострадіаційного імунodefіцитного стану організму.

Щодо експериментів з клітинами тварин, які було опромінено НВЧ та його комбінацією з рентгенівським опроміненням в дозі 0,5 Гр, то одержані дані однозначно стверджують, що при цьому процес емперіполезісу не порушується і практично не відрізняється від норми.

В деяких наукових джерелах описане явище емперіоплезису у відношенні мегакаріоцитів та лейкоцитів кісткового мозку (A. Pasquale, P. Paterlini et al, 1985; M. Tavasoli, 1986; K.Lee, 1989). Тому одним із завдань дослідження було вивчення впливу радіаційних чинників на цей феномен.

Ретельне мікроцейтраферне дослідження, проте, показало хибність уявлення про так званий "мегакаріоцитарний" емперіоплезис. В жодному з дослідів ми не зареєстрували входження клітин білої крові в мегакаріоцити по типу емперіоплезису.

Але нами було зафіксовано інше важливе явище, яке слід розглядати як своєрідний періоплезис між мегакаріоцитами та нейтрофільними лейкоцитами. При цьому спостерігається зближення лейкоцитів з мегакаріоцитами з подальшим зануренням перших у цитоплазму останніх. Цей процес супроводжується фрагментацією цитоплазми мегакаріоцита і вивільненням з неї тромбоцитів. Можна припустити, що таке руйнування мегакаріоцитів обумовлено дією протеолітичних ферментів, які властиві нейтрофільним лейкоцитам. Характерно, що при такій взаємодії клітин кілерна функція лейкоцитів не завершується їх загибеллю, а навпаки, вони ніби-то обліплюються тромбоцитами, і тягнуть за собою шлейф останніх, який добре реєструється при відходженні нейтрофільних лейкоцитів від зруйнованого мегакаріоцита.

Принципова здатність лейкоцитів руйнувати мегакаріоцити була встановлена і іншими дослідниками (G. Ottolander, 1977; C. Rozman, J. Vives-Corrons, 1981, M. Shamoto, 1981). Проте, інтерпретація цього явища здебільше спрямована на його місце в патології. Оскільки ми реєстрували цей процес у нормі, ми

припускаємо, що цей тип взаємодії між клітинами має відношення до процесів фізіологічної регуляції механізмів забезпечення периферії тромбоцитами. В деякій мірі це стверджується дослідями, проведеними на опромінених тваринах.

Рентгенівське опромінення в дозі 0,5 Гр дещо активізує процеси руйнування мегакаріоцитів нейтрофільними лейкоцитами, а НВЧ-опромінення статистично значно підвищує кількість лейкоцитів, руйнуючих мегакаріоцити кісткового мозку. При комбінованій дії цих чинників процеси руйнування мегакаріоцитів лейкоцитами стимулюються ще більше. Характерно, що у тварин, які одержали комбіноване опромінення, реєструвалося істотне збільшення кількості тромбоцитів в периферичній крові. При співставленні цих даних стає зрозумілою природа тромбоцитозу у осіб, які зазнали впливу радіації внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС (В.Г.Бешко, і співавт., 1992).

При вивченні дії більш високих рівней радіації (1,0 та 2,0 Гр) спостерігається істотне пригнічення цитотоксичних потенцій нейтрофільних лейкоцитів кісткового мозку. Можливо, це одна з причин ранньої тромбоцитопенії при опроміненні тварин і людей у відповідних дозах.

Таким чином, згадане явище повинно враховуватися при оцінці механізмів модулюючого ефекту різних доз радіації на кількісний склад тромбоцитів на периферії. З іншого боку, не виключено, що термінове відновлення кількості тромбоцитів в крові при невеликих дозах опромінення може здійснюватися за рахунок стимуляції активності нейтрофільних лейкоцитів кісткового мозку.

Одержані дані в цілому загострюють увагу на деяких принципово важливих питаннях радіобіології клітини. Тра-

диційно вважається, що стромальні елементи кровотворних органів належать до відносно радіорезистентної популяції клітин. Цей висновок в основному робився на основі вивчення радіаційної загибелі цих елементів. Встановлено, що LD_{50} для неї дорівнює 12,0 Гр (С. Sado, M.Sakka, 1969; А.А.Ярилин, 1993).

Проте, виходячи з останніх досліджень радіобіології малих доз та рівнів опромінення, можна дійти висновку, що критерій радіаційної загибелі клітин не є єдиним чи навіть головним для визначення їх радіочутливості. Доведено, що навіть незначні рівні радіації можуть викликати різні реакції клітин від стимуляції їх функцій до пригнічення і загибелі (із збільшенням дози опромінення). У такому разі поняття радіочутливості очевидно не повинно замикатися на одному тільки критерії загибелі популяції клітин. Дійсно, як показано і в наших дослідках, дози рентгенівського опромінення 0,3 та 0,5 Гр стимулюють функціональні потенції стромальних елементів кровотворних органів, що насамперед проявляється в активації процесів проліферації та міжклітинних взаємодій по типу емперіполеаісу та періполеаісу. Про це ж свідчать зокрема дані І.І.Пелевіної та ін. (1992) про стимуляцію малими рівнями іонізуючого опромінення проліферації стовбурових кровотворних клітин кісткового мозку ссавців.

Дози опромінення 1,0 та 2,0 Гр також викликають істотні морфо-функціональні зміни в стромальних елементах: зниження сили міжклітинних контактів, посилення екструзії ядерного матеріалу, формування багатоядерних та гігантських форм та блокування мітозів. Ці ознаки треба розглядати як спосіб реагування клітин строми на радіаційне ураження, що не сприяє процесу кровотворення.

Отже є підстави для висновку про достатню радіочутливість стромальних елементів кровотворних органів, що слід враховувати при вивченні гемопоезу у цілому.

Певне загальне значення мають і досліді по вивченню явища емперіоплеазису. На нашу думку, особливої уваги заслуговує той факт, що при дозах опромінення 1,0 та 2,0 Гр виникає стан незавершеності емперіоплеазису, що може мати відношення до виникнення імунодефіцитного стану. Це явище може мати особливо негативне значення при більш високих рівнях радіації. З іншого боку, радіаційна блокада емперіоплеазису також підтверджує відносно високу чутливість стромальних елементів до дії радіаційного чинника.

Додаткову підставу для такого висновку дає вплив радіації на взаємодію мегакаріоцитів і нейтрофільних лейкоцитів у кістковому мозку. Встановлено, що нейтрофільні лейкоцити, здатні до цитолітичного впливу на мегакаріоцити, активуються низькими дозами радіації, тоді як дозам 1,0 та 2,0 Гр властивий супресорний вплив на механізм вивільнення тромбоцитів.

Привертає до себе увагу питання про специфічність дії іонізуючої радіації на стромальні елементи кровотворних органів. Експерименти з неіонізуючою радіацією - НВЧ-опроміненням, - свідчать про те, що в діапазоні застосованих доз відповідь строми на опромінення більш за все має неспецифічну природу і відображує здійснення генетичної програми клітин строми при дії шкідливих чинників взагалі. Проте, остаточний висновок у цьому відношенні може бути зроблено лише при проведенні подальших спеціальних експериментів.

ВИСНОВКИ

1. При одноразовій дії на експериментальних тварин (щури лінії "Фішер") іонізуючою радіацією в діапазоні доз 0,3 - 2,0 Гр на гемоцитограмі спостерігаються характерні ефекти, що відображають пострадіаційну загибель лімфоцитів з подальшим, починаючи з сьомої доби, процесом відновлювання показників крові до нормативних значень на тридцяті добу після дії опромінення. НВЧ потужністю $0,25 \text{ мВт/см}^2$ викликає зміни в лімфоцитах подібні дії рентгенівського опромінення в дозах 0,3 - 0,5 Гр.

2. Стромальні клітини кровотворних органів експериментальних тварин, опромінені іонізуючою радіацією в дозах до 0,5 Гр, за морфологічними критеріями і потенціями росту в культурі *in vitro* не відрізняються від клітин інтактних тварин. При більш високих дозах радіації (1,0 - 2,0 Гр) в культурі з'являються клітини з ознаками патологічного мітозу, багатоядерності та гігантизму, екструзії ядерного матеріалу, клазмотозних "вибухів" та наявними порушеннями міжклітинних контактів; це може мати важливе значення в патогенезі пострадіаційних порушень в системі гемопоезу.

3. Неіонізуюче опромінення (НВЧ - $0,25 \text{ мВт/см}^2$) самотійно або в комбінації з іонізуючою радіацією в дозі 0,5 Гр не впливає на характер росту стромальних елементів кровотворних органів в умовах їх культивування *in vitro*.

4. Іонізуюче та неіонізуюче опромінення стимулюють зниження сили міжклітинних контактів та проліферацію стромальних клітин. Скорочення тривалості профазі мітозу відбувається при будь-яких дозах опромінення. В той же час для дози 2,0 Гр характерним є блокування мітозу деяких клітин на стадії

метафази. Кількість таких стромальних клітин зростає зі збільшенням дози опромінення.

5. Стромальні клітини кровотворних органів інтактних тварин в культурах *in vitro* взаємодіють з лімфоцитами по типу емперіполезісу. У нормі це явище реєструється як поодинокі події. Іонізуюча радіація в дозах до 0,5 Гр чи неіонізуюча радіація, самотійно або в комбінації, не впливають на інтенсивність та прояви емперіполезісу. При рентгенівському опроміненні тварин в дозах 1,0 та 2,0 Гр експресія даного феномену збільшується, але з появою клітин з ознаками "незавершеності" емперіполезісу - тобто втратою лімфоцитами здатності залишати стромальну клітину.

6. Дія рентгенівського опромінення в дозах до 0,5 Гр або неіонізуючої радіації (потужність 0,25 мВт/см²) не викликає змін в кількості мегакаріоцитів в кістковому мозку та вмісту тромбоцитів в периферичній крові експериментальних тварин. Більш високі дози іонізуючого опромінення (1,0 та 2,0 Гр) призводять до зниження як числа мегакаріоцитів, так і кількості тромбоцитів в периферичній крові тварин.

7. Для культур гемопоетичних органів експериментальних тварин, опроміненних в невеликих дозах (рентгенівське опромінення 0,5 Гр, НВЧ-опромінення 0,25 мВт/см²) характерна активація рухомості та життєздатності клітин лейкоцитарного ряду. Спостерігається активація взаємодії кістковомозкових сегментоядерних нейтрофильних лейкоцитів з мегакаріоцитами, що обумовлює стимуляцію цитолітичного знищення останніх і вивільнення тромбоцитів. Цей процес найбільш характерний для комбінованого варіанту опромінення тварин і пригнічується при рентгенівському опроміненні в дозах 1,0 і 2,0 Гр.

8. Стромальні елементи кровотворних органів не можуть розглядатися як високорадіорезистентна популяція. Про це свідчать стимулююча дія радіації на їх проліферацію, зменшення сили міжклітинних контактів та певні зміни взаємодії стромальних елементів з клітинами гемопоетичного ряду, які стають істотними при рентгенівському опроміненні тварин в дозах 1,0 і 2,0 Гр.

9. Пострадіаційні зміни морфо-функціональних властивостей клітин строми гемопостичних тканин в органій культурі - зростання проліферативної активності та втрата стромальними клітинами міжклітинних зв'язків, "незакінченість" емпіриполезісу, цитолітична агресивність лейкоцитів кісткового мозку по відношенню до мегакариоцитів - можуть використовуватися як додаткові критерії в біоіндикації радіаційного впливу на організм.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ РОБІТ ПО ТЕМІ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Клеточные взаимодействия в культуре лимфатического узла // Цитология и генетика. - 1975. - N3. - С.201-204.
2. Образование многоядерных клеток в культурах лимфатических узлов // Цитология и генетика. - 1976. - N5. - С.394-396. - Совм. с П.М.Мажугой.
3. Трансформация внутриклеточных лимфоцитов в культурах лимфатических узлов // Врачебное дело. - 1977. - N4. - С.84-88.
4. Клеточные взаимодействия в культурах лимфатических узлов // Иммунология и аллергология. - 1978. - N 12. - С. 79-81.
5. О выходе ядрышек из карิโอплазмы в цитоплазму ретикуляр-

- ных клеток // Бюлл.экспер.биол.мед. - 1978.- №5.- С. 585-588.
6. Критерии оценки явления "эмпериполезис" в цитологических исследованиях // Докл. АН УССР.- 1986,- № 10. - С.79-81.
 7. Изменение структуры интерфазных ядер стромальных клеток лимфоузлов под действием ц-АМФ // Биол.науки. - 1987. - №1. - С.16-20. - Совм. с Н.А.Федоровым.
 8. К вопросу о целесообразности изучения нового биологического явления эмпериполезис // Гематология и трансформация . - 1989. - №3. - С.60-62.
 9. Prospects of emperipolesys-type cells interaction analysis in radiation biology research // Influence of the Low Doses of Radiation on the Living Matter: A review by the Ukrainian Scientists at the Symposium, Pisa, 1993. - P.39-41.
 10. Оценка механизма тромбоцитопоза с позиции явления эмпериполезис // Врачебное дело. - 1994. - № . - С.
 11. Вплив рoдильнoї та комбiнованої дiї iонiзувoчої та неiонiзувoчої рaдiацiї на тромбоцитопоз // Укр. рaдiобiол. журнал. - 1994. - №3. - С.132-134.
 12. Наблюдение за живыми клетками лимфатического узла методом цейтрафферной микрокиносъемки // Мезенхима и ее тканевые производные в эволюции и онтогенезе. - Пермь, 1973. - С.51-52.
 13. Поведение живых лимфоидных клеток в культуре // Дифференцировка клеток в гисто- и органогенезах: Матер. III Всесоюз. симпозиум. - Киев, 1975. - С.53-56.
 14. Сравнительная оценка клеточного состава культур лимфатического узла иммунизированных и интактных животных // Там же. - С.56-60.

15. Митохондрии живых клеток // Там же. - С.19-24. - Совм. с П.М.Мажугой.
16. Микрокиносъемка в цитологических исследованиях // Матер. науч. - практ. конф. - Вьентьян, 1982. - С.48-50.
17. Индукция выхода ядрышек и ядерного содержимого в стромальных клетках лимфатических узлов под воздействием ц-АМФ // Механизмы иммуностимуляции. - Киев, 1985. - С.232-233. - Совм. с Н.А.Федоровым.
18. Взаимодействие стромальных и гемопоэтических клеток как биологический фон для иммуностимуляции // Тез. докл. II Украинского съезда гематологов и трансфузиологов. - Киев, 1986. - С.67-68.
19. Явление эмпериполезис, как морфологический субстрат взаимодействия стромальных и гемопоэтических клеток // Принципы организации гематологической помощи. - Саратов, 1987. - С.238-239.
20. Эмпериполезис как форма взаимодействия лимфоцитов и ретикулярных клеток в лимфатических узлах // Морфология и развитие органов иммунной системы: Тез. Всесоюз. симпозиум. - Москва, 1988. - С. 72.
21. The influence of substance (I) on Hep-2 cancer cells // Anticancer substances : Abstr. intern. symp. - Warchava, 1988. - P. 98-99. - Совместно с А.А.Шалимовым, В.Н.Гириным, Л.В. Кейсевичем и др.
22. Оценка двигательной активности бластных клеток периферической крови // Сб. Гематология и переливание крови. - Киев, 1989. - №3. - С.12-16.
23. Клеточные взаимодействия между трофобластом зародыша и маточным эпителием (фагоцитоз или эмпериполезис?) // Иммунология репродукции: Матер. IV Всесоюз. симпозиум. - Киев,

1990. - С.177-178.
24. Анализ отдаленных последствий действия ионизирующей радиации на клеточный состав периферической крови // Республ. науч.-практ. конф. по радиобиологии и радиэкологии. - Минск, 1990. - С. 114. - Совм. с Л.Н.Юхимук, А.К.Калиновским.
 25. Радиометрические, гематологические и метаболические исследования при внутреннем облучении малыми дозами цезия-137 // Мол. клет. механизмы хр.действия иониз. излучений на биол. системы: Матер. I Всесоюз. симпоз. - Пушкино, 1990 - С. 80-81. - Совм. с Вл.И.Малюком, М.И.Рудневым та інш.
 26. Внутреннее облучение малыми дозами и метаболические показатели // Биол. и радиэкол. аспекты последствий аварии на ЧАЭС: Тез докл. 1 междунар. конф. - Зеленый мыс. 1990. - С. 228. - Совм. с Вл.И.Малюком, М.И.Рудневым та інш.
 27. Теоретическое и практическое значение изучения явления эмпериполезис в гематологии // Сб. Гематология и переливание крови. - 1991. - вып. 25. - С. 17-19.
 28. Система "стромальное микроокружение - гемопоэз" как морфо-функциональная мишень радиационного воздействия // Тез докл. радиобиол. съезда. - Киев, 1993. - С.674.
 29. Study of live hemopoietic cells by method of zeitraffer micro-cinema shooting in phase contrast // Immunology of reproduction: Abstracts international symposium. - Kiev, 1993. - P. 114-115.
 30. Жизнь клетки // Учебный фильм. - Москва, Вузфильм, 1974. - Совм. с П.М.Мажугой.
 31. Клетки крови // Науч.фильм. - Киев, 1978.

Mikhailovskaya E.V. "Cell Reactions in Haemopoietic Organs Stroma under Influence of Ionizing and Non-ionizing Radiation".

Thesis for seeking of scientific degree of Doctor of Biological Sciences on speciality 03.00.01 - radiobiology, Research Center for Radiation Medicine, Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kiev, 1994.

The author defended 31 scientific works containing experimental studies of influence of ionizing radiation exposure in doses 0.3 - 2.0 Gy and non-ionizing microwave irradiation (rate 0.25 mW/ cm²) on stromal elements of mammalian hemopoietic organs. It was discovered that stromal cells had undergone dose-dependent morpho-functional changes. These changes were characterized by stimulation of cell functions in dose diapason 0.3-0.5 Gy and inhibition in doses of 1.0 and 2.0 Gy. High-frequency irradiation of tested capacity had mostly stimulating effect, which is forced in combination with X-ray irradiation in dose of 0.5 Gy. Emperipolesis influence has been studied in details and inhibition effect on ionizing irradiation on this process has been revealed at doses above 1.0 Gy. Dose-dependent stimulation and inhibition interaction of megakaryocytes and neutrophile leucocytes of bone marrow by ionizing and non-ionizing irradiation was shown. New data obtained were used in course of lectures and practicum in higher educational establishments of Ukraine and CIS countries.

Михайловская Э.В. "Клеточные реакции стромы кроветворных органов при действии на организм ионизирующей и неионизирующей радиации".

Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.00.01 - Радиобиология, Научный Центр радиационной медицины АМН Украины, Киев, 1994 г.

Защищается 31 научная работа, которая содержит экспериментальные исследования состояния стромальных элементов кроветворных органов млекопитающих при действии на организм ионизирующей радиации в дозах 0,3 - 2,0 Гр и СВЧ-облучения (плотность потока мощности 0,25 мВт/см²). Установлено, что клетки стромы претерпевают морфо-функциональные изменения в зависимости от дозы рентгеновского облучения, которые характеризуются стимуляцией их функций в диапазоне доз 0,3 - 0,5 Гр и ингибицией последних при дозах 1,0 - 2,0 Гр. СВЧ-облучение испытанной мощности обладает преимущественно стимулирующим эффектом, который усиливается при комбинации с рентгеновским облучением в дозе 0,5 Гр. Детально изучено взаимодействие клеток по типу эмпериполезиса и установлено ингибирующее действие на этот процесс рентгеновского облучения в дозах свыше 1,0 Гр. Показано стимулирующее и ингибирующее действие ионизирующей и неионизирующей радиации на периполозное взаимодействие мегакариоцитов и нейтрофильных лейкоцитов костного мозга. Полученные новые знания применены в курсах лекций и практических занятий в высших учебных заведениях Украины и стран СНГ.

Ключові слова: іонізуюча радіація, неіонізуюча радіація, стромальні клітини кроветворних органів, лімфоцити, лейкоцити, емперіполезіс, мегакаріоцити, тромбоцитоутворення.

11540/1

Друк офсетний. Умовних друкарських аркушів 2.8.
Обліково-видавничьких аркушів 2.2. Тираж 120 прим.
Замовлення № 1680

253094 Київ, вул. Попудренка, 54
Укргеоінформ. 1994 рік.