

КИЇВСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

На правах рукопису

АЛЕКСАНДРОВА ОЛЕНА ІГОРІВНА

**ДІЯ РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ НА
МОРФОМЕТРИЧНІ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНІ ПОКАЗНИКИ
ЛІМФОЦИТІВ**

03.00.11.ЕМБРІОЛОГІЯ, ГІСТОЛОГІЯ , ЦИТОЛОГІЯ

**АВТОРЕФЕРАТ
ДИСЕРТАЦІЇ НА ЗДОБУТТЯ НАУКОВОГО СТУПЕНЮ
КАНДИДАТА БІОЛОГІЧНИХ НАУК**

КИЇВ-1996

76



00340031 (B)

ДИСЕРТАЦІЄЮ Є РУКОПИС
РОБОТА ВИКОНАНА НА КАФЕДРІ
КИЇВСЬКОГО УНІВЕРСИТЕТУ

Науковий керівник:

доктор біологічних наук, професор

С.В.Демідов

Офіційні опоненти

доктор медичних наук

Л.А.Налескіна

доктор біологічних наук, професор

В.М.Войцицький

Провідна установа- Інститут фізіатрії та пульмонології імені Ф.Г. Яновського АМН України.

Захист дисертації відбудеться "22" жовтня 1996 року о 14 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д.01.01.13 при Київському університеті імені Тараса Шевченка

за адресою: Київ-28, Глушкова, 2 (НДІ фізіології університету).

З дисертацією можна ознайомитись в бібліотеці Київського університету імені Тараса Шевченка; адреса для відгуків: 252033, Київ-33, вул. Володимирська, 60.

Автореферат розісланий 23" вересня 1996 року

Вчений секретар

спеціалізованої Вченої ради

кандидат біологічних наук

Островська Г.В.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОБЛЕМИ.

АКТУАЛЬНІСТЬ. Інтерес до дії іонізуючої радіації в низьких дозах на організм ссавців нині загострюється ситуацією, що виникла внаслідок катастрофи на ЧАЕС. Досить актуальною залишається проблема радіочутливості різних органів та тканин.

Структурні зміни в тканинах після дії іонізуючого опромінення є об'єктивними критеріями оцінки чутливості тканин після дії іонізуючої радіації. Особливе значення при вивченні біологічної дії малих доз іонізуючої радіації набуває виявлення післяпроменевих структурних змін у випадку, коли може бути відсутнім загальноприйнятий критерій дозової ефективності - летальна відповідь об'єкту на опромінення.

Протягом останнього десятиліття дослідження постпроменевих змін гемопоетичних органів традиційно розвиваються за двома основними напрямками. Перший складають дослідження, що дозволяють визначити основні кількісні закономірності радіаційного ураження і наступної за нею регенерації (Невструева І.А., 1968; Беляков І.М., 1993). Ці експерименти виявили, що червоний кістковий мозок, тимус і селезінка грають важливу роль в гемопоезі і є найбільш чутливими органами до дії опромінення. Разом з цим, увага сучасних дослідників, які працюють в іншому напрямку, звертається на функціональні взаємодії між різними гемопоетичними попередниками та зрілими лімфоцитами під впливом променевого фактору (Чухловин А.Б., 1994; Легеза В.І., 1995). Ці зв'язки реалізуються завдяки впливу великої кількості медіаторів серед яких важливе місце займають гормони тимусу та інтерлейкіни (Goldstein А., 1984). Тому доцільно проаналізувати риси подібності і відмін у виявленні морфологічних та функціональних променевих реакцій в органах, що вивчаються при порівнянні результатів дії рентгенівського опромінення у низькій та летальній дозі опромінення.

МЕТА І ЗАДАЧІ ДОСЛІДЖЕНЬ. Мета роботи полягає у виявленні структурно-функціональних реакцій червоного кісткового мозку (ЧКМ), тимусу і селезінки на тотальне рентгенівське опромінення в дозах 2,6 мКл/кг і 180,6 мКл/кг.

Досягнення зазначеної мети передбачало вирішення таких задач:

1) Оцінити стан ЧКМ, тимусу та селезінки за допомогою обліку клітинності в динаміці променевого ураження після опромінення в дозі

2,6 та 180,6 мКл/кг; 2) Вивчити морфофункціональні показники органів гемопоєзу через 1 добу після опромінення в дозі 2,6 та 180,6 мКл/кг; 3) Дослідити функціональний стан лімфоцитів селезінки за здатністю до експресії рецепторів, цитотоксичності і проліферації в умовах опромінення; 4) Дослідити зміни активності синтезу інтерлейкінів через добу після дії променевого фактору; 5) Оцінити протипроменеву ефективність низькомолекулярного фактору тимусу - тимогену.

НАУКОВА НОВИЗНА. Вперше було запроваджено порівняльний аналіз та з'ясовано особливості постпроменевих змін морфометричних показників лімфоцитів морських свинок в умовах опромінення в дозах 2,6 мКл/кг та 180,6 мКл/кг. Виявлено, що через добу після дії променевого фактору ЧКМ, тимус і селезінка мають неоднакову чутливість до рентгенівського опромінення і за аналізом клітинного спустошення та даних морфометрії можуть скласти таку послідовність чутливості (в порядку зменшення) - ЧКМ, тимус, селезінка.

Вперше за допомогою кількісного аналізу даних світлооптичного дослідження та вивчення функціональної активності лімфоцитів встановлені ранні постпроменеві зміни в ЧКМ, тимусі та селезінці в порівняльному аспекті у тих самих тваринах у відповідь на тотальне рентгенівське опромінення в дозах 2,6 мКл/кг і 180,6 мКл/кг.

Встановлено, що пошкодження, які виникають внаслідок опромінення на клітинному рівні не залежать від дози опромінення і носять однотипний характер.

Дані регресійного аналізу післяпроменевих змін показали, що процес проліферації лімфоцитів морських свинок більш чутливий до опромінення у летальній дозі, а активність синтезу інтерлейкінів до опромінення у низькій дозі. Отже, ці процеси різнонаправлені.

ПРАКТИЧНА ЗНАЧИМІСТЬ РОБОТИ. На підставі даних досліджень низькомолекулярний фактор тимусу - тимоген можна рекомендувати для корекції радіаційноіндукованих в малих дозах імунодефіцитних станів.

НА ЗАХИСТ ВІНОСЯТЬСЯ ТАКІ ПОЛОЖЕННЯ:

1. Морфологічні зміни клітин через 1 добу після дії іонізуючого опромінення свідчать про порушення функціонування основних гемопоетичних органів - ЧКМ, тимусу, внаслідок чого до кровообігу потрапляють функціонально неповноцінні клітини.

2. Тимоген у значній мірі відновлює функціональний стан лімфоцитів, та їх здатність продукувати інтерлейкіни через 1 добу після опромінення в низькій дозі.

3. В результаті дії променевого фактору відбувається значне пригнічення функціональних показників лімфоцитів, в той час як синтез інтерлейкінів суттєво не змінюється.

АПРОБАЦІЯ РОБОТИ. Основні положення дисертаційної роботи доповідалися на науково практичній конференції "Структурно-функціональные еденицы и их компоненты в органах висцеральных систем в норме и патологии" (Харків, 1991 р.); на міжнародному симпозиумі "Пептидные биорегуляторы - цитомедины". (С-Петербург, 1992р.), та на 1-ій конференції імунологів України (Канів, 1993р.).

ПУБЛІКАЦІЇ. За матеріалами дисертації опубліковано 6 праць у формі наукових статей і тез доповідей.

СТРУКТУРА РОБОТИ. Робота складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів, результатів та їх обговорення, висновків та переліку цитованої літератури (166 назв) Дисертацію викладено на 128 сторінках друкованого тексту та ілюстровано 14 малюнками і 14 таблицями.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ. Дослідження проводились на морських свинках масою 250-300 г, яких одноразово опромінювали на рентгенівській установці РУМ-17 в дозі 2,6 мКл/кг (а) та 180,6 мКл/кг (б) в наступних умовах: фільтри - 0,5мм Си і 1 мм Al; напруга 200 кВ; сила струму - 5мА; шкіряно-фокусна відстань 97 см для опромінення в режимі (а) і 50 см для опромінення в режимі(б).

Із контрольних та опромінених тварин через добу по тому одержували зразки ЧКМ, тимусу та селезінки для використання в мікроскопічних дослідженнях. Після гістологічної обробки із парафінових блоків готували зрізи, та фарбували їх гематоксилін-еозином (Ліллі Р., 1969). Морфометричні дослідження, що склались з визначення периметру, площі, мінімального та максимального діаметрів та коефіцієнтів форми поверхні ядра та клітини в цілому, проводили на мікроскопі AXIOPOT фірми OPTON (Німеччина) за допомогою комп'ютерного аналізатора зображення IBAS-2000, тієї ж фірми з

використанням програмного забезпечення фірми (Kontron bildanalyse, 1986).

Для досліджень функціональної активності лімфоцитів через 1 добу після опромінення із селезінки виокремлювали кліткові суспензії лімфоцитів. Досліджували розеткоутворюючу (Головистиков М.Н., 1981), цитотоксичну (Зимин Ю.И., 1987), та проліферативну (Хоробрых В. В., 1983) активності лімфоцитів.

Активність синтезу інтерлейкіну-1 (ІЛ-1) та інтерлейкіну-2 (ІЛ-2) вивчалися за методом Дж. Клаус, 1980. Експериментальні дані статистично обробляли, проводили кореляційний аналіз за допомогою програмного забезпечення Ex El (Windows 3.1)

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ. Для того, щоб вибрати термін, в який досліджувати зміни функціональних показників, було проведено експерименти з вивчення спустошення ЧКМ, тимусу та селезінки протягом 14 діб (табл.1). Було встановлено, що через 1 добу після опромінення для досліджуваних органів характерне різке зменшення клітинності, як при опроміненні в дозі 2,6 мКл/кг - низькій дозі, так і опроміненні в дозі 180,6 мКл/кг - летальній дозі рентгенівського опромінення.

Встановлено, що органи кровоутворення відповідають різким

Табл.1. СПУСТОШЕННЯ ОРГАНІВ КРОВОУТВОРЕННЯ- ЧКМ, ТИМУСУ ТА СЕЛЕЗІНКИ У ДИНАМІЦІ ПРОМЕНЕВОГО УРАЖЕННЯ ($M \pm m$, $n=6$).

Час після опромінення	ЧКМ		ТИМУС		СЕЛЕЗІНКА	
	2,6 мКл/кг	180,6 мКл/кг	2,6 мКл/кг	180,6 мКл/кг	2,6 мКл/кг	180,6 мКл/кг
контроль	100,0 \pm 8,0		100,0 \pm 2,0		100,0 \pm 9,0	
1 доба	8,2 \pm 0,7*	6,6 \pm 0,8*	79,0 \pm 3,0*	10,0 \pm 1,0*	4,1 \pm 3,0*	9,0 \pm 1,0*
3 доба	24,0 \pm 2,0*	16,0 \pm 1,0*	53,0 \pm 4,0*	20,0 \pm 2,0*	36,0 \pm 5,0*	23,0 \pm 6,0*
5 доба	44,0 \pm 4,0*	11,4 \pm 0,8*	49,0 \pm 6,0*	22,0 \pm 3,0*	39,0 \pm 6,0*	25,0 \pm 7,0*
7 доба	68,0 \pm 6,0*	5,7 \pm 0,8*	62,0 \pm 5,0*	27,0 \pm 2,0*	38,0 \pm 6,0*	11,0 \pm 1,0*
14 доба	74,0 \pm 8,0*	12,6 \pm 1,1*	87,0 \pm 4,0	31,0 \pm 4,0*	35,0 \pm 7,0*	20,0 \pm 4,0*

*. $P < 0,05$; За 100% взяті дані кількості клітин в контролі.

падінням клітинності через 1 добу після опромінення як у дозі 2,6 мКл/кг, так і у дозі 180,6 мКл/кг. Для ЧКМ характерне зменшення (90%) клітинності через 1 добу після опромінення в низькій дозі і стабільна невелика кількість клітин, що зберігаються у тварин з летальною дозою опромінення. Для тимусу характерне різке падіння клітинності з найнижчим значенням через 5 днів з наступним незначним відтворенням кількості клітин. Селезінка також відповідає різким падінням клітинності при опроміненні в дозі 180,6 мКл/кг (91%) і дещо меншим за значенням, але теж суттєвим спустошенням вже через 1 добу після опромінення в дозі 2,6 мКл/кг з найменшим значенням на 2 добу.

Необхідно підкреслити, що картини клітинного спустошення відрізняються для клітин ЧКМ, тимусу та селезінки при опроміненні в низькій дозі. Так, клітини селезінки менш здатні до регенерації, більш здатні до відтворення клітинності тимус і ЧКМ. Для клітин ЧКМ характерний найвищий ступінь спустошення і наступна за ним регенерація. Треба зазначити, що повного відтворення клітинності через 14 днів після опромінення не спостерігається в жодному з досліджених органів.

Зміни кількості клітин через 1 добу після опромінення рентгенівськими променями організмі морських свинок, супроводжуються численними якісними та кількісними морфометричними змінами. Вакуолізація цитоплазми і ядра в клітинах ЧКМ чітко спостерігаються вже через 1 добу після опромінення в дозах 2,6 мКл/кг та 180,6 мКл/кг. При цьому ми спостерігали вакуолізовані мієлоцити, паличкоядерні та сигментоядерні нейтрофіли, плазматичні клітини та одиничні еритробласти і нормобласти, а також гіперсегментовані нейтрофіли.

Морфометричний аналіз клітинних структур показав, що під дією опромінення в дозі 2,6 мКл/кг спостерігається набухання клітин ЧКМ. Збільшується як площа ядра, так і площа клітин вцілому. На основі одержаних даних, можна зробити висновок що опромінення призводить до набрякання ядер та численних виростів клітинних мембран, що виникають у відповідь на опромінення ЧКМ.

Зміни морфометричних параметрів клітин ЧКМ при опроміненні в дозі 180,6 мКл/кг більш чітко виражені і мають дещо інший напрямок.

Площа ядра зменшується за рахунок фрагментації, в той час, як площа клітини залишається незмінною. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення змінюється в бік збільшення цитоплазми, а фактор форми змінюється за рахунок втрати виростів мембрани та округлення клітин внаслідок збільшення цитоплазми.

Відзначені зміни свідчать про дегенеративні процеси, що проходять в клітинах ЧКМ, які призводять до порушень нормального утворення в опромінену організм повноцінних не тільки Т-лімфоцитів, але і багатьох інших клітин крові (В-лімфоцитів, макрофагів, еритроцитів та ін.). Внаслідок цього спостерігається не лише недолік імунокомпетентних клітин крові, але і утворення клонів клітин, що не є функціонально повноцінними.

В тимусі та селезінці також мають місце деструктивні зміни під впливом загального опромінення, як в низьких, так і в летальних дозах, що розвиваються вже через 1 добу. В першу чергу гинуть тимоцити, потім настає процес звільнення від пошкоджених клітин. В цей час спостерігається сильна макрофагальна реакція в мозковому шарі, виявляються численні тільця Гасала. В ранні терміни, після опромінення в низькій дозі рентгенівських променів, спостерігається ущільнення хроматину з утворенням центрального просвітлення в ядрі, з наступним пікнозом та остаточною фрагментацією ядер.

При морфометрії клітин селезінки виявлено, що опромінення не викликає значних змін досліджуваних параметрів як при опроміненні в низькій так, і при опроміненні в летальній дозі рентгенівських променів через 1 добу після опромінення. Не зважаючи на це, ми спостерігали незначне збільшення лімфоцитів, а також дегенерацію та деструкцію хроматину, що свідчить про наявність інтенсивних метаболічних репараційних процесів.

Одержані дані дозволяють припустити наявність компенсаторно-приспосовних змін у відповідь на опромінення і різкої дистопії з пікнозом та подальшим каріорексисом при опроміненні у летальній дозі.

Для перевірки припущення про існування елементів подібності в механізмах розвитку післяпроменевих морфологічних змін гемопоетичних органів після опромінення, крім морфологічних характеристик була

досліджена функціональна реакція на опромінення лімфоцитів селезінки (Рис.1).

Дослідження основних функціональних характеристик лімфоцитів показало, що внаслідок опромінення має місце значне пригнічення досліджуваних властивостей лімфоцитів. Результати експериментів виявили, що через 1 добу після опромінення в низькій та летальній дозах відбувається зниження розеткоутворення на 60% при опроміненні в низькій дозі, та на 75% при опроміненні в летальній дозі. Введення *in vitro* тимогену частково поновлює розеткоутворюючу функцію Т-лімфоцитів при опроміненні в обох дозах в одному напрямку. При опроміненні морських свинок в низькій дозі відбувається значне (36%) поновлення розеткоутворюючої функції Т-лімфоцитів під впливом тимогену і децю меншій мірі відтворення розеткоутворюючої функції при

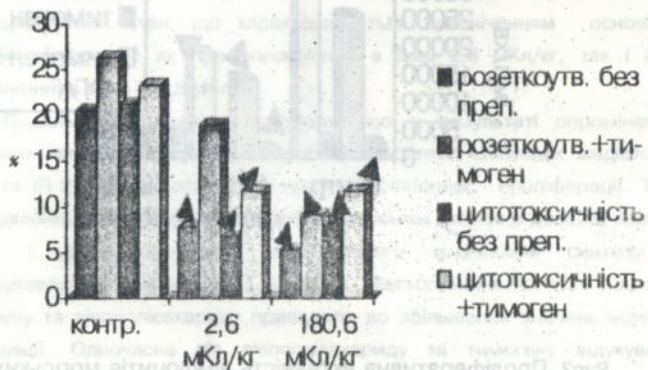


Рис. 1. Вплив опромінення на розеткоутворюючу та цитотоксичну активність лімфоцитів селезінки морських свинок через 1 добу після опромінення під дією тимогену (трикутниками виделені дані, де $p < 0.05$).

опроміненні у летальній дозі. Це свідчить про різну здатність цих клітин до поновлення функції під впливом тимогену: не зважаючи на те, що кількісно розеткоутворююча здатність Т-лімфоцитів при опроміненні в низькій і у летальній дозі аналогічна, ступінь їх ураження різна (Рис.1). Т-лімфоцити, отримані від тварин опромінених в низькій дозі рентгенівського опромінення мають більшу здатність до поновлення своєї функції під впливом тимогену. Активізація розеткоутворюючої здатності Т-лімфоцитів під дією тимогену відбувається в результаті відтворення рецепторів на мембрані Т-лімфоцитів (У. Пол,1981). Наші дослідження цитотоксичної активності показали, що через 1 добу після опромінення відбувається падіння цитотоксичної активності як при опроміненні в низькій, так і при опроміненні в летальній дозі (Рис.1).

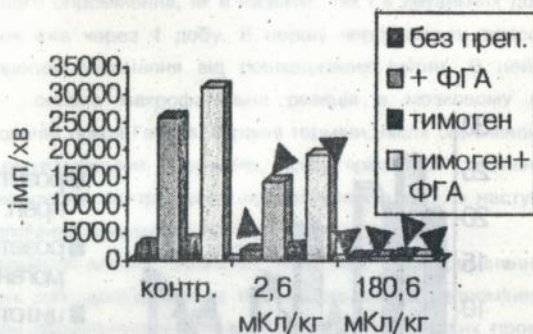


Рис2. Проліферативна активність лімфоцитів морських свинок через 1 добу після опромінення (трикутниками виделені дані, де $p < 0.05$).

В сукупності, дані досліджень розеткоутворення та цитотоксичної активності вказують на порушення рецепторного апарату спленоцитів. Внаслідок того, що тимоген являється сильним імуномодулятором, або фактор, здатний значно модифікувати фізіологічний стан лімфоцитів на

молекулярно-клітинному рівні, така активність проявляється в збільшенні кількості рецепторних та антигенних структур на поверхні лімфоцитів. Це призводить до суттєвого збільшення (15%) цитотоксичної активності при опроміненні в низькій та в летальній дозі опромінення в наших експериментах. Використання тимогену *in vitro* поліпшувало показники клітинного імунітету, що відповідає одержаним раніше результатам (Барабой В., 1993, Бойко В.Н., 1991).

Вивчення змін проліферативної активності лімфоцитів виявило значне пригнічення проліферації (Рис.2). При опроміненні в низькій дозі лімфоцити зберігають здатність відповідати на лімфоцитарний мітоген фітогемаглютинін (ФГА) та тимоген, а при опроміненні у летальній дозі ця здатність лімфоцитів не зберігається. Це узгоджується з даними спустошення органів кровоутворення, що були отримані при вивченні морфометричних показників (табл.1). В присутності тимогену (*in vitro*; 0,2 мкг/мл) здатність лімфоцитів до клонування поліпшувалась тільки у випадку опромінення в низькій дозі. Одержані дані свідчать про те, що через 1 добу після опромінення морських свинок розвивається імунодефіцитний стан, що характеризується пригніченням основних функцій лімфоцитів як при опроміненні в дозі 2,6 мКл/кг, так і при опроміненні в дозі 180,6 мКл/кг.

Подальші дослідження показали, що в результаті опромінення морських свинок порушується нормальний синтез клітинних медіаторів (ІЛ-1 та ІЛ-2), під впливом яких проходить процес проліферації. Так, встановлено, що тотальне опромінення морських свинок в дозі 2,6 мКл/кг через 1 добу, приводило до значного зменшення синтезу в мононуклеарних клітинах ІЛ-1 (Рис 3). Застосування *in vitro* окремо тимогену та ліпополісахариду приводило до збільшення значень індексу стимуляції. Одночасна дія ліпополісахариду та тимогену індукувала сильний комітогенний ефект, що свідчить про збереження у досліджуваних клітин здатності до антигенної активації.

Тотальне опромінення морських свинок рентгенівськими променями в дозі 180,6 мКл/кг через 1 добу приводило до відсутності в мононуклеарах морських свинок активності синтезу ІЛ-1. Додавання в середовище культивування тимогену призводило до появи вірогідної



Рис. 3. Активність синтезу ІЛ-1 під впливом ліпополісахариду та тимогену через 1 добу після опромінення морських свинок (а, а/2, а/4-розбавлення досліджуваних зразків, що містять інтерлейкіни; ІС- індекс стимуляції; за умовами методики визначення активності синтезу ІЛ-1 вірогідними можна вважати данні де ІС перевищує "3").

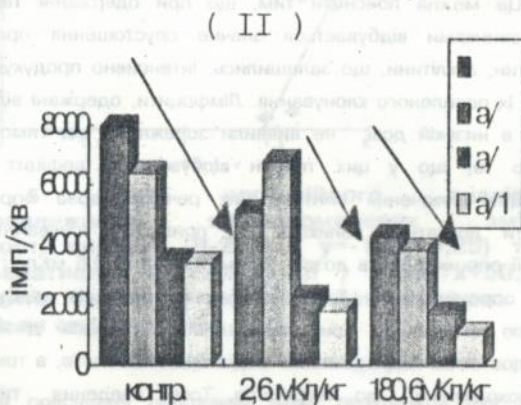
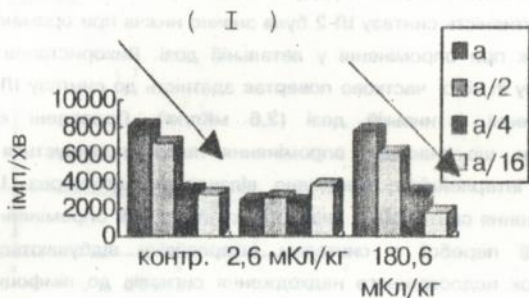


Рис.4.Активність синтезу ІЛ-2 мононуклеарними клітинами під впливом тільки мітогенів (I) та тимогену (II) через 1 добу після опромінення (а, а/2, а/4, а/16 - розбавлення досліджуваних зразків, що містять інтерлейкіни; за умовами методики визначення активності синтезу ІЛ-2, вірогідними можна вважати данні, де спостерігається залежність від степені розбавлення від кількості імп/хв зразків).

активності синтезу ІЛ-1. З'являвся також і комітогенний ефект від одночасної дії ліпополісахариду та тимогену.

Активність синтезу ІЛ-2 була значно нижча при опроміненні в низькій дозі, ніж при опроміненні у летальній дозі. Використання мітогенів та тимогену *in vitro* частково повертає здатність до синтезу ІЛ-1 тільки при опроміненні в низькій дозі (2,6 мКл/кг). Проведені експерименти показали, що внаслідок опромінення тварин порушується нормальний синтез інтерлейкінів. Необхідно відзначити, що через 1 добу після опромінення синтез ІЛ-1, значно нижчий ніж при опроміненні у летальній дозі. Ці перебої з синтезом інтерлейкіну відбуваються, можливо, внаслідок недостатнього надходження сигналів до лімфоцитів, оскільки додавання тимогену та мітогенів частково поновлює здатність цих клітин до синтезу інтерлейкінів. При опроміненні у летальній дозі рентгенівськими променями синтез ІЛ-2 залишається практично незмінним. Це можна пояснити тим, що при одержанні такої дози морськими свинками відбувається значне спустошення органів від змінених клітин, а клітини, що залишилися, інтенсивно продукують ІЛ-2, що веде до їх посиленого клонування. Лімфоцити, одержані від тварин, опроміnenних в низькій дозі, не виявили залежності від тимогену. Це свідчить про те, що у цих тварин відбувається дефіцит синтезу тимозинів. Для включення синтезу цих речовин доза опромінення повинна бути достатньо великою. Це припускає існування різних механізмів дії опромінення в дозах 2,6 мКл/кг та 180,6 мКл/кг через 1 добу після опромінення. Такий дисбаланс процесів пов'язаних з проліферацією лімфоцитів при опроміненні в низькій дозі, можна пояснити недостатнім надходженням медіаторних сигналів, в тому числі і тимусного походження, до лімфоцитів. Тому, введення тимогену і мітогенів, частково повертає здатність цих клітин до синтезу інтерлейкінів. Оскільки велика доза сама по собі є сигналом до активації процесу синтезу інтерлейкінів, вона не потребує додаткових медіаторів, що підтверджується даними, одержаними раніше (Girinsky T.A. et al, 1994).

Одержані дані свідчать про те, що через 1 добу після опромінення в дозах 2,6 мКл/кг та 180,6 мКл/кг у морських свинок приводить до розвитку імунодефіцитного стану, що характеризується пригніченням

основних функцій лімфоцитів, до яких залучена велика кількість метаболічних систем.

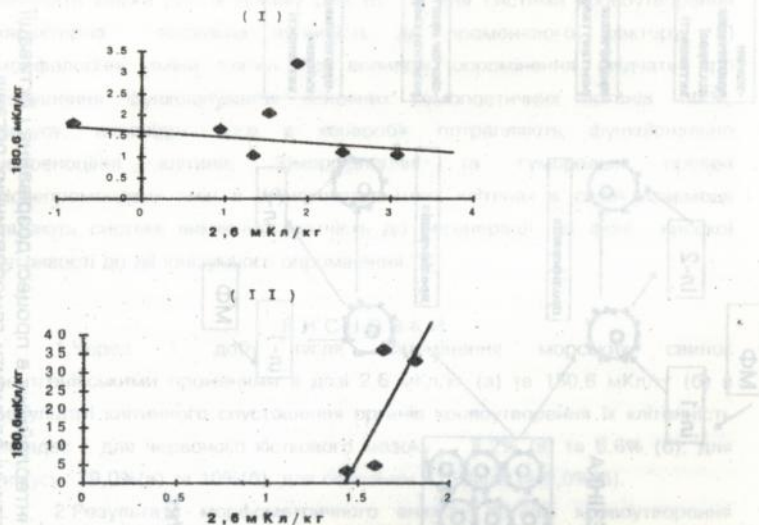
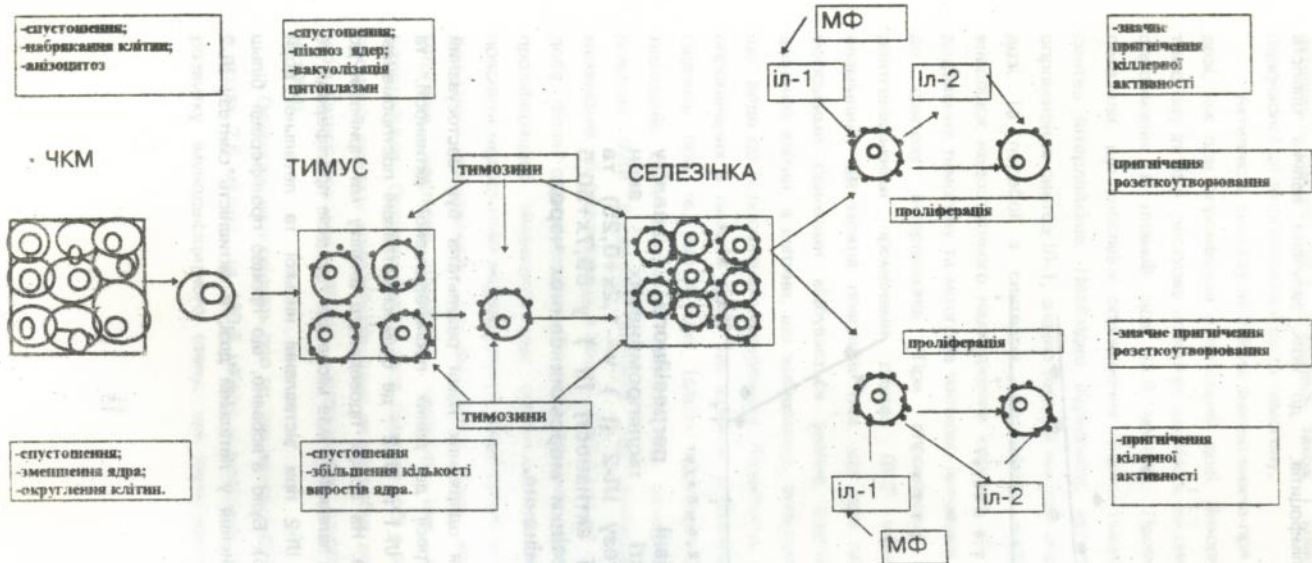


Рис. 5 Дані регресійного аналізу взаємозалежності післяпроменевої активності синтезу ІЛ-2 (I) $y = -1,2x + 0,25$ та проліферативної активності (II) $y = 89,7x + 50,5$ лімфоцитів селезінки морських свинок через 1 добу після опромінення.

Для пояснення одержаних нами результатів був застосований метод лінійної регресії до даних проліферативної активності, та активності синтезу ІЛ-1 та ІЛ-2, де були співставлені постпроменеві зміни цих процесів. На основі проведеного аналізу ми прийшли до висновку, що лінійна залежність має місце для процесів проліферації, та активності синтезу ІЛ-2 при зіставленні низької та летальної дози опромінення (Рис. 5). Було з'ясовано, що процес проліферації більш чутливий до опромінення у летальній дозі, а активність синтезу ІЛ-2

доза 2,6 МКл/кг



доза 180,6мКл/кг

Рис.6. Схематичне зображення участі тимозинів та інтерлейкінів в процесі дозрівання і активації лімфоцитів та дія рентгенівського опромінення на клітинні елементи гемопоетичних органів.

падає при опроміненні у низькій дозі. Це свідчить про різне спрямування цих процесів, індукованих опроміненням.

Таким чином, оцінюючи сукупність результатів досліджень, можна вилучити кілька рис їх прояву (Рис.6): 1) для системи кровоутворення характерна чисельна чутливість до променевого фактору; 2) морфологічні зміни клітин під впливом опромінення свідчать про порушення функціонування основних гемопоетичних органів - ЧКМ, тимусу, внаслідок чого в квовообіг потрапляють функціонально неповноцінні клітини; 3) морфологічні та гуморальні прояви післяпроменевиx змін в імунокомпетентних клітинах в своїй взаємодії надають системі виключну здатність до регенерації, на фоні високої чутливості до дії іонізуючого опромінення.

В И С Н О В К И

1. Через 1 добу після опромінення морських свинок рентгенівськими променями в дозі 2,6 мКл/кг (а) та 180,6 мКл/кг (б) в результаті клітинного спустошення органів кровоутворення їх клітинність складає - для червоного кісткового мозоку - 8,2% (а) та 6,6% (б); для тимусу - 79,0%(а) та 10%(б); для селезінки 41,0%(а) та 9,0%(б).

2. Результати морфометричного аналізу органів кровоутворення показали, що через 1 добу після рентгенівського опромінення морських свинок в дозах 2,6 мКл/кг(а) і 180,6 (б) в клітинах червоного кісткового мозку має місце:

а) збільшення площі ядра на 9%; зміна ядерно-цитоплазматичного співвідношення в бік збільшення цитоплазми на 15%; зміна фактору форми клітин на 15% за рахунок нерівності мембран;

б) зменшення площі ядра на 8%; зміна ядерно-цитоплазматичного співвідношення в бік збільшення цитоплазми на 17%; зміна фактору форми клітин на 1% за рахунок округлення клітин.

3. Через 1 добу після опромінення рентгенівськими променями в дозі 180,6 мКл/кг в тиусі спостерігається картина "інверсії дольок".

4. В досліджуваній післярадіаційний термін опромінення рентгенівськими променями в дозі 2,6 мКл/кг (а) та 180,6 мКл/кг(б)

встановлено пригнічення функціональної активності лімфоцитів селезінки морських свинок, а саме:

- розеткоутворення - на 60%(а) та 75%(б);
- цитотоксичності - на 65%(а) та 59%(б);
- проліферативної активності - на 37%(а) та 78%(б).

5.Тимоген (0,02мг/мл) *in vitro* поліпшує функціональні показники лімфоцитів селезінки, одержаних від морських свинок через 1 добу після опромінення рентгенівськими променями в дозі 2,6мКл/кг, а саме розеткоутворення на 36%; цитотоксичності на 15%; проліферації на 50%.

6.Встановлено, що через 1 добу після опромінення морських свинок рентгенівськими променями в дозі 2,6 мКл/кг(а) та 180,6 мКл/кг(б) активність синтезу ІЛ-1 мононуклеарними клітинами селезінки знижується на 38%(а) та на 56%(б), той час як вірогідна активність синтезу ІЛ-2 спостерігається тільки при опроміненні в низьких дозах.

ПЕРЕЛІК РОБІТ, ЩО ОПУБЛІКОВАНІ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1.Количественная оценка реактивности кроветворных органов на облучение с использованием системы анализа изображений// тез. докл. научно-практической конференции: "Структурно-функциональные единицы и компоненты в органах висцеральных систем в норме и патологии". Харьков 1-3 октября 1991 г. с.37 (в соавторстве с Булавкой А.В., Постарнак Н.Н, Васильевым А.Н.)

2.Цитотоксическая активность лимфоцитов при лучевом поражении// Врачебное дело, 1991, N12, с. 12-17 (в соавторстве с Демидовым С.В., Скрипкой Е.А., Васильевым А.Н.)

3.Синтез ДНК и содержание ДНК и РНК в лимфоцитах морских свинок при действии рентгеновского излучения // Радиобиология, Москва, 1993 т.33, вып. 2(5), с. 714-716 (в соавторстве с Демидовым С.В.и Васильевым А.Н.)

4.Влияние тимогена на интенсивность синтеза интерлейкина-1 при рентгеновском облучении //Тезисы Международного симпозиума "Пептидные биорегуляторы-цитомедины - 5-9 окт. 1992, ВМА им. С.М.Кирова, С-Петер., с.18-19 (в соавторстве с Герасименко Т.И. и Васильевым А.Н.).

5.Вивчення впливу різних доз опромінення на проліферативну активність лімфоцитів селезінки морських свинок // 1 конф. імунологів,

Канів, (13-18 травня): Тез. доп.- 1993, с. 49 (в співавторстві з Тхоржевським Б.Н. и Демідовим С.В.)

6. Вплив рентгенівського опромінення на рухливість лейкоцитів//Вісник університету, вип.6, 1991р, с. 35-39 (у співавторстві з Демідовим С.В. и Васильєвим А.М.)

Alexandrova E. I. Action of X-ray radiation on the morphomeasurement and functional levels of the lymphocytes (manuscript).

The dissertation work for degree candidate of biological sciences (speciality 03.00.11) embriology, histology, cytology. Taras Shevchanko University, Kiev, 1996.

There are six reasearch works that have been vindicated which contain the data about the influence of the X-ray in the dosages of 2,6 mKl/kg and 180,6 mKl/kg on the morphomeasurement and functional levels of the lymphocytes 24 hours after X-ray expousure. Quantative analise helped to define the early changess in the blood producing organs after X-ray exposure and its influence in comparision aspect. There is diference that is induced by X-ray exposure in the processes of proliferation and active synthesis of interleukins.

Александрова Е.И. Действие рентгеновского облучения на морфометрические и функциональные показатели лимфоцитов.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.11 эмбриология, гистология и цитология, Киевский университет имени Тараса Шевченко, Киев, 1996.

Защищается 6 научных работ, в которых содержатся данные о воздействии рентгеновского облучения в дозах 2,6 мКл/кг и 180,6 мКл/кг на морфометрические и функциональные показатели лимфоцитов через 1 сутки после лучевого воздействия. С помощью количественного анализа установлены ранние послучевые изменения в органах

кроветворення в порівняльному аспекті. Установлено різнонаправленість, яка індуктується облученням в процесах проліферації і активності синтезу інтерлейкінів.

Ключові слова: морфометричні показники ЧКМ, тимусу та селезінки, вплив іонізуючого опромінення в різних дозах, променеві реакції лімфоцитів.

Автор висловлює подяку: Світлані та Олегу Леонтьєвим за допомогу в оформленні та у видавництві дисертації.

Шлал. до друку 10.09.96. Формат 60×84¹/₁₆.
Папір друк. № 1. Спосіб друку офсетний. Умови друк. арк. 16.
Умови фарбо-відб. 1,27. Обл.-вид. арк. 10.
Тираж 100. Зам. № 6-5375.

Фірма «ВІПОЛ»
252151, Київ, вул. Волинська, 60.



AB 35.721