

3. Жаворонок С.В., Калинин А.Л., Грибаум О.А. и др. Маркеры инфицирования вирусами гепатита В, С, D и G у пострадавшего от катастрофы на ЧАЭС населения // *Здравоохранение*. — 1998. — № 8. — С. 46–48.
4. Зборомирский В.В., Билецкий В.И., Дегтяренко О.М. Течение хронических заболеваний печени и желчевыводящих путей на фоне повышенного радиационного воздействия // *Радиобиологический съезд, Киев 20–25 сентября, 1993: Тез. докл.* — Пушино, 1993. — Т. 1. — С. 376.
5. Калинин А.Л., Жаворонок С.В., Антипова С.И. Особенности распространения хронических заболеваний печени среди населения, пострадавшего от катастрофы на ЧАЭС // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. — 2000. — Т. 10. — № 2. — С. 45–47.
6. Кошурникова Н.А., Шильникова Н.С., Окатенко П.В. и др. Характеристика когорты работников атомного предприятия ПО «Маяк» // *Медицинская радиология*. — 1998. — № 6. — С. 43–57.
7. Пальцев И.В. Циррозы печени и ионизирующее излучение // *Материалы Республиканской науч.-практ. конф. «Актуальные проблемы медицины» и 15-й науч.-практ. сессии Гомельского гос. мед. ун-та, посв. 60-летию Победы в Великой Отечественной войне (18–20 мая 2005 г, г. Гомель)*. Выпуск 6. В 5 т. — Гомель, 2005. — Т. 3. — С. 73–74.
8. Пальцев И.В., Калинин А.Л. Влияние ионизирующего излучения на развитие хронических гепатитов // *Материалы Республиканской науч.-практ. конф. «Актуальные проблемы медицины» и 15-й науч.-практ. сессии Гомельского гос. мед. ун-та, посв. 60-летию Победы в Великой Отечественной войне (18–20 мая 2005 г, г. Гомель)*. Выпуск 6. В 5 т. Гомель, 2005. — Т. 3. — С. 71–73.
9. Севаньяев А.В. Некоторые итоги цитогенетических исследований в связи с оценкой последствий Чернобыльской аварии // *Радиационная биология и радиозоология*. — 2000. — Т. 40. — № 5. — С. 589–596.
10. Силивончик Н.Н. Цирроз печени. — Мн., 2001. — 223 с.
11. Соринсон С.Н. Вирусные гепатиты. — СПб.: Теза, 1997. — 306 с.
12. Ставицкий Р.В., Лебедев Л.А., Мехеечев А.В. и др. Некоторые вопросы действия малых доз ионизирующего излучения // *Мед. радиология и радиац. безопасность*. — 2003. — № 1. — С. 30–39.
13. Токарская З.Б., Байсоголов Г.Д. Функциональное состояние печени у лиц, имеющих контакт с аэрозолями плутония. Сообщение I. Фракционный состав сывороточных белков и реакция Вельтмана // *Радиация и риск*. — 1995. — № 5. — С. 86–90.
14. Хазанов А.И. Современные проблемы вирусных и алкогольных болезней печени // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. — 2002. — № 2. — С. 6–14.
15. Ярилин А.Л. Радиация и иммунитет. Вмешательство ионизирующего излучения в ключевые иммунные процессы // *Радиац. биология и радиозоология*. — 1999. — Т. 39. — № 1. — С. 181–189.
16. Cologne J.B., Pawel D.J., Sharp G.B. et al. Uncertainty in estimating probability of causation in a cross sectional study: joint effects of radiation and hepatitis-C virus on chronic liver disease // *Radiat Res*. — 2004. — Vol. 24. — P. 131.
17. Cologne J.B., Sharp G.B., Iwamoto K.S. et al. Multidepartmental research on radiation and liver cancer // *RERF News Update*. — 1999. — Vol. 10. — № 1. — P. 13–15.
18. Fujiwara S., Sharp G.B., Cologne J.B. et al. Prevalence of hepatitis B virus infection among atomic bomb survivors // *Radiat Res*. — 2003. — Vol. 159. — P. 780.
19. Kato H., Mayumi M., Nishioka K. et al. The relationship of HBs antigen and antibody to radiation in the Adult Health Study sample // *RERF TR*. — 1975. — Vol. 77. — P. 13–80.
20. Russel W., Higashi Y., Fukuya T. et al. Abdominal ultrasonographic screening of adult health study participants // *RERF TR*. — 1989. — P. 10–89.
21. Thompson D.E., Mabuchi K., Ron E. et al. Cancer incidence in atomic bomb survivors. Part II: Solid tumors // *Radiat. Res*. — 1994. — Vol. 137. — P. 17–67.
22. Wong F.L., Yamada M., Sasaki H. et al. Non-cancer disease incidence in the atomic bomb survivors // *Radiat. Res*. — 1993. — Vol. 135. — P. 418–430.

Поступила 23.08.2005

УДК 599:539.1.047+612.112

УРОВЕНЬ КЛЕТОК ЛЕЙКОЦИТАРНОЙ СИСТЕМЫ И МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ КРЫС ПРИ АЛЛОКСАНОВОМ ДИАБЕТЕ, ОБЛУЧЕНИИ В МАЛОЙ ДОЗЕ И ПРИМЕНЕНИИ СЕЛЕНСОДЕРЖАЩЕГО ПРЕПАРАТА

Е.Ф. Конопля, Е.В. Андропова, Г.Г. Верещако

Институт радиобиологии НАН Беларуси

Изучалось состояние клеток лейкоцитарной системы и метаболической активности лимфоцитов крови крыс при аллоксановом диабете, облучении в дозе 1,0 Гр (раздельно и совместно) и на фоне применения селенсодержащего препарата. Показано, что в начальные сроки после введения аллоксана и облучения выявляется резкое снижение количества

лейкоцитов, обусловленное гибелью лимфоцитов крови. Более выраженные изменения изучаемых показателей наблюдаются при облучении диабетогенных животных. Цитохимическая активность лимфоцитов крови при указанных воздействиях повышается, достигая максимальных значений при сочетанном влиянии двух испытуемых факторов. Селексен в дозе 10 мкг/кг (по Se) оказывал положительное действие на состояние лейкоцитарной системы крови облученных диабетогенных крыс на 3 и 10 сут после воздействия.

Ключевые слова: малые дозы, аллоксановый диабет, лейкоцитарная система крови крыс, лимфоциты, ЛДГ, СДГ, селексен.

QUANTITY ANALYSIS OF RAT BLOOD LEUCOCYTE SYSTEM CELLS AND LYMPHOCYTES METABOLIC ACTIVITIES AT ALLOXANE DIABETE, LOW-DOSE IRRADIATION AND SELEXENE APPLICATION

E.F. Konoplya, G.G. Vereshchako, E.V. Andronova

Institute of Radiobiology, National Academy of Sciences of Belarus

It was investigated rat blood leucocytes system cells status and lymphocytes metabolic activity at diabetes induced by alloxane (80 mg/kg) in condition of irradiation at dose 1,0 Gy and selexene application. In initial period after irradiation and alloxane administration it was marked decreasing of leucocytes amount induced by death lymphocytes in rat blood. More changes of studied parameters it was remarked it irradiation on both non-diabetic and diabetic animals. Activities of blood lymphocytes dehydrogenases (LDH, SDH) was increased first of all in the first place at the combined action of alloxane and irradiation. Selexene aid positive effect on cells leucocyte system of diabetic rats at 3 and 10 day after irradiation.

Key words: low dose, alloxane diabeteses, rat blood leucocytes, lymphocytes, LDH, SDH, selexen.

В последние годы отмечен значительный рост эндокринной патологии, в том числе сахарного диабета. Одна из возможных причин этого явления — ухудшение экологической ситуации в ряде регионов Республики Беларусь после аварии на Чернобыльской АЭС, которая сопровождается воздействием на организм постоянного низкоинтенсивного облучения. Однако оценке роли радиационного фактора в развитии диабета до сих пор уделяется недостаточное внимание. В связи с этим представляет особую актуальность исследование влияния малых доз ионизирующей радиации на животных с вызванным экспериментально сахарным диабетом, на важнейшие системы жизнедеятельности организма, среди которых лейкоцитарная система является одной из наиболее чувствительных к действию повреждающих факторов [8, 9].

Для получения инсулиндефицитного состояния у лабораторных животных часто используется препарат аллоксан, действие которого вызывает специфическое поражение β -клеток островков Лангергарса поджелудочной железы [3].

Исходя из вышеизложенного, в задачу настоящей работы входил количественный анализ элементов лейкоцитарной системы и метаболической активности лимфоцитов крови крыс при экспериментальном диабете, вызванном введением аллоксана, и радиационном воздействии в малой дозе (1,0 Гр), а также при использовании селенсодержащего препарата — селексена.

Материал и методы исследований

Опыты проводили на белых крысах-самцах стадного разведения, которых содержали в стандартных условиях вивария (исходный возраст 4 мес, масса $225 \pm 5,43$ г). Все животные были разделены на 5 групп:

1. Контрольные крысы.
2. Животные, с экспериментально вызванным аллоксановым диабетом.
3. Крысы, подвергнутые внешнему облучению в дозе 1,0 Гр.
4. Животные, с экспериментально вызванным аллоксановым диабетом и облученные в дозе 1,0 Гр.
5. Диабетогенные крысы, облученные в дозе 1,0 Гр и получавшие селексен в дозе 10 мкг/кг (по селену).

Сахарный диабет вызывали путем подкожного однократного введения моногидрата аллоксана (мезоксалилмочевина) в физрастворе в дозе 80 мг/кг массы. Модель сахарного диабета оценивали по содержанию глюкозы в крови. В первые дни после введения препарата (1–3 сут) отмечали высокую летальность животных, в последующие дни погибали единичные крысы; выживаемость крыс спустя две недели после введения препарата составила 48,3%. Часть выживших животных на 14 день после инъекции аллоксана подвергали внешнему облучению в дозе 1,0 Гр (установка ИГУР-1, источник γ -лучей ^{137}Cs , мощность дозы 90 сГр/мин), оставшиеся диабетогенные животные до облучения получали селен (внутрибрюшинно) в дозе 10 мкг/кг (в расчете на селен). Контролем служили интактные крысы соответствующего возраста и пола.

Эксперименты ставили на 3, 10 и 30 сут после радиационного воздействия (соответственно, на 17, 24 и 44 сут после введения аллоксана). В крови животных определяли количество лейкоцитов и лейкограмму общепринятыми клиническими методами [4]. Для выявления цитохимической активности в лимфоцитах готовили мазки крови, которые высушивали на воздухе, фиксировали 30 с в 60% водном ацетоне, насыщенном ЭДТА. Активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ, КФ 1.1.1.27) и сукцинатдегидрогеназы (СДГ, КФ 1.3.99.1) определяли с использованием *p*-нитротетразолия фиолетового в качестве акцептора водорода. Подсчет гранул формазана (продукта реакции) проводили в 50 лимфоцитах, выявляемых в каждом препарате [6]. Полученные данные обрабатывали методами биологической статистики.

Результаты и обсуждение

Результаты исследований свидетельствуют, что введение аллоксана в дозе 80 мг/кг вызывает у животных диабетогенное состояние. Это подтверждается данными о содержании глюкозы в крови, которое в период взятия материала (на 17–44 сут после введения препарата) колебалось в пределах от 9,97 до 19,14 ммоль/л**. Развитие гипергликемии у крыс после инъекции аллоксана в используемой дозе связано с поражением β -клеток островков Лангергарса поджелудочной железы [7, 10].

После введения аллоксана на 17 сут в крови животных наблюдается снижение числа лейкоцитов (на 45%) на фоне выраженной нейтрофилии (185,7%) и уменьшения в три раза количества лимфоцитов по сравнению с контролем (табл. 1). Уровень нейтрофилов, по-видимому, отражает вовлечение этих клеток крови в развитие патологического процесса в организме [5]. Одновременно в лимфоцитах крови отмечается интенсификация энергетических процессов, более выраженная для активности ЛДГ (рис. 1).

Реакция лейкоцитарной системы крови на облучение в дозе 1,0 Гр в начальном периоде (3 сут) характеризуется типичной реакцией на радиационное воздействие, которая выражается в снижении количества всех форменных элементов белой крови, особенно значимое для лимфоцитов. Следует отметить, что в этих условиях уменьшение количества нейтрофилов было незначительное (15,72%) и не носило достоверного характера, в то время как уровень лимфоцитов и моноцитов в крови крыс, облученных в дозе 1,0 Гр, снижался до очень низких значений (до 7,88 и 20,0% соответственно). Активность лактат- и сукцинатдегидрогеназной реакции в лимфоцитах крови облученных животных повышалась более чем на 20%.

Сочетанное действие аллоксана и облучения в дозе 1,0 Гр усугубляет состояние лейкоцитарной системы животных не только по сравнению с крысами с экспериментально вызванным сахарным диабетом, но также и с облученными животными, т.е. можно вполне определенно говорить об аддитивном, суммирующем эффекте повреждающих факторов. В этом случае в крови выявляется уменьшение числа нейтрофилов (до 65,71%) и крайне низкий уровень лимфоцитов (7,16%). Цитохимическая активность лимфоцитов крови животных при действии этих двух факторов (аллоксан и облучение) заметно повышается и составляет для ЛДГ 143,86%, а для СДГ — 137,65%. Интенсификация энергетических процессов в лимфоцитах, видимо, обусловлена компенсаторной реакцией сохранившихся клеток крови в связи с их высокой гибелью.

На 3 сут после облучения у диабетогенных животных, получавших селеносодержащий препарат, наблюдается нормализация числа нейтрофилов и существен-

ное повышение количества лимфоцитов в крови по сравнению с облученными животными с экспериментально вызванным диабетом. Повышение радиорезистентно-

сти животных, снижение лейкемии, вызванной облучением у животных, получавших селен, основано на антиоксидантных свойствах микроэлемента [1, 2].

Таблица 1

Количество лейкоцитов и лейкоцитарных элементов крови крыс в различные сроки после введения аллоксана (Ал) в дозе 80 мг/кг, облучении в дозе 1,0 Гр и коррекции селексеном (Se) в дозе 10 мкг/кг (по селену)

Серии опытов	Лейкоциты, 10 ⁹ /л	Нейтрофилы, 10 ⁹ /л	Эозинофилы, 10 ⁹ /л	Базофилы, 10 ⁹ /л	Лимфоциты, 10 ⁹ /л	Моноциты, 10 ⁹ /л
3 сут после облучения						
Контроль	5,05±0,56	0,70±0,11	0,06±0,004	0,01±0,004	4,19±0,42	0,10±0,04
Ал	2,78±0,52*	1,30±0,20	0,02±0,008	0,01±0,008	1,39±0,30*	0,06±0,02
1,0 Гр	0,97±0,08*	0,59±0,04	0,06±0,008	0,002±0,00	0,33±0,03*	0,02±0,008
Ал+1,0 Гр	0,88±0,07*	0,46±0,03	0,04±0,013	—	0,30±0,04*	0,10±0,03
Ал+1,0 Гр+Se	1,40±0,13*	0,68±0,08	0,02±0,004	0,01±0,004	0,68±0,06*	0,02±0,013
10 сут после облучения						
Контроль	4,68±0,43	0,67±0,08	0,07±0,02	0,01±0,01	3,83±0,37	0,10±0,04
Ал	4,46±0,94	1,38±0,22*	0,16±0,07	—	2,86±0,70	0,06±0,04
1,0 Гр	1,82±0,30*	0,82±0,15	0,06±0,01	0,01±0,00	0,93±0,16*	0,04±0,01
Ал+1,0 Гр	1,15±0,11*	0,63±0,11	0,02±0,02	—	0,48±0,02*	0,01±0,00
Ал+1,0 Гр+Se	1,71±0,27*	0,73±0,16	0,02±0,0	—	0,95±0,10*	—
30 сут после облучения						
Контроль	3,28±0,48	0,57±0,09	0,04±0,01	0,03±0,02	2,64±0,46	0,03±0,02
Ал	3,64±0,61	0,58±0,19	0,03±0,01	0,01±0,01	2,87±0,55	0,07±0,02
1,0 Гр	1,96±0,39	0,60±0,13	0,03±0,02	0,03±0,02	1,25±0,26*	0,05±0,02
Ал+1,0 Гр	2,81±0,38	0,85±0,22	0,02±0,02	0,04±0,02	1,87±0,44	0,03±0,01
Ал+1,0 Гр+Se	2,24±,60	0,65±0,14	0,05±0,03	0,02±0,02	1,47±0,42	0,05±0,02

Примечание: * — достоверные изменения при P < 0,05; ** — определение содержания глюкозы в крови животных проводилось м.н.с. лаборатории биохимии О.В. Лукьяненко.

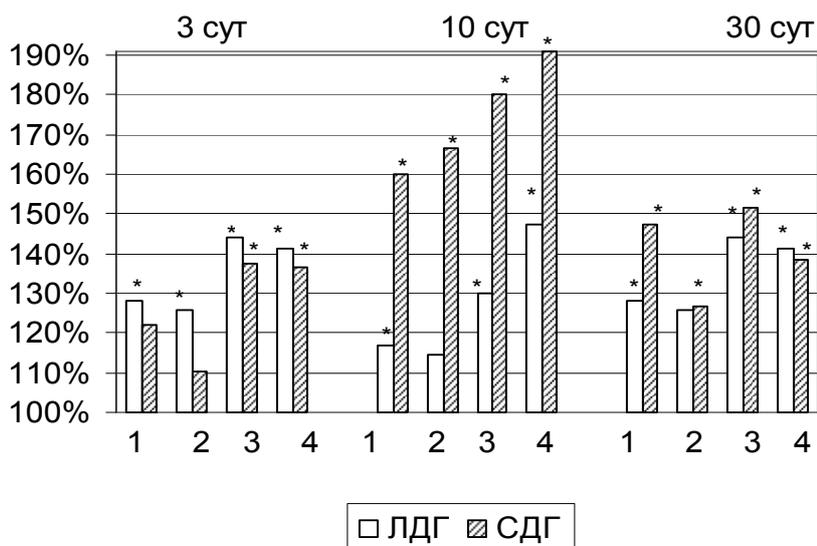


Рис. 1. Активность ЛДГ и СДГ в лимфоцитах крови крыс в различные сроки после облучения в дозе 1,0 Гр, введении аллоксана в дозе 80 мг/кг массы и селексена в дозе 10 мкг/кг по Se (в % по отношению к контролю):

1) облучение; 2) аллоксан; 3) аллоксан+облучение, 4) аллоксан+облучение+селексен.
* — достоверные изменения при P < 0,05 по отношению к контролю.

В следующих сериях опытов при всех указанных воздействиях выявляется тенденция к восстановлению в той или иной степени количества лейкоцитов в крови животных, что проявляется особенно выражено к 30 сут. В случае с диабетогенным состоянием количество лейкоцитов в крови крыс в последующие сроки нормализуется полностью, при этом, однако, на 24 сут после введения вещества сохраняется дисбаланс между числом нейтрофилов и лимфоцитов: количество первых в два раза превышает контрольные показатели, а вторых — снижено до 74,7%. Нормализация клеточного состава лейкоцитов в крови крыс после радиационного воздействия на 10 и 30 сут происходит наиболее медленно и лимитируется поступлением лимфоцитов из костного мозга и других лимфоидных органов и продолжительностью их жизни. Установлено, что наименее благоприятный вариант восстановления лейкоцитов и лейкограммы крови обнаруживается при совместном действии аллоксана и облучения в дозе 1,0 Гр. Селексен оказывал коррегирующее (положительное) действие на количественный состав клеток лейкоцитарной системы крови облученных крыс с аллоксановым диабетом только на 3 и 10 сут, что обусловлено проявлением антиоксидантных свойств используемого препарата в ограниченном временном периоде при однократном использовании.

Таким образом, анализ количества лейкоцитов и составляющих элементов лейкоцитарного пула показывает, что на протяжении всего периода наблюдений при всех вариантах воздействия (аллоксан, облучение отдельно и совместно, а также при использовании селенсодержащего препарата) отмечаются нарушения лейкограммы, более выраженные в начальный период наблюдения, и цитохимической активности лимфоцитов крови опытных животных. В наибольшей степени это проявляется в изменениях количества нейтрофилов и лимфоцитов, что можно объяснить реактивностью нейтрофилов в ответ на воздействия, а также крайне высокой радиочувствительностью лимфоцитов (по сравнению с клетками любого другого происхождения), которые погибают в большом количестве в первые часы после воздействия. Повышение активности ЛДГ

в лимфоцитах крови опытных животных на 3 сут несколько превышает таковую для СДГ, в последующие сроки, особенно на 10 сут, интенсивность сукцинатдегидрогеназной реакции, характеризующей преимущественно окислительный путь энергообеспечения, в клетках крови преобладает. Показана максимальная эффективность облучения на изучаемые показатели лейкоцитарной системы крови у животных с экспериментально вызванным диабетом. Отмечено также положительное действие селексена на изучаемые показатели крови диабетогенных крыс в начальном пострадиационном периоде.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барабой В.А. Биологические функции, метаболизм и механизмы действия селена // Успехи современной биологии. — 2004. — Т. 124. — № 2. — С. 157–169.
2. Книжников В.А., Шандала Н.К., Комлева В.А. и др. Снижение риска радиогенного рака и лейкемии путем обогащения диеты микроэлементом селеном и хлореллой момотаро-Е-25 // Мед. радиол. и радиац. безопасность. — 1998. — Т. 43. — № 5. — С. 6–13.
3. Кобак Я.М. Практикум по эндокринологии. — М.: МГУ, 1968. — 275 с.
4. Лабораторные методы в клинике: Справочник / Под ред. В.В. Меньшикова. — М.: Медицина, 1982. — С. 125–197.
5. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. — М.: Наука, 1989. — 343 с.
6. Нарциссов Р.П. Применение п-нитротетразолия фиолетового для количественной цитохимии дегидрогеназ лимфоцитов человека // Арх. анат. — 1969. — Т. 46. — № 5. — С. 85–91.
7. Прокопчук С.Н., Протасов М.В., Нагучева О.С., Рябчишкова В.В. Опыт моделирования сахарного диабета на мелких грызунах // Учен. зап. — СПб.: ГМУ, 2002. — Т. 9. — № 1. — С. 82–85.
8. Руководство по радиационной гематологии // Совместное издание МАГАТЭ и ВОЗ. — М.: Медицина, 1974. — 328 с.
9. Суворова Л.А., Нугис В.Ю., Гордеева А.А. Результаты динамического наблюдения периферической крови здоровых людей как основа диагностики воздействия облучения в малых дозах. 1. Уровень лейкоцитов и лейкограмма // Мед. радиол. и радиац. безопасность. — 2004. — Т. 49. — № 5. — С. 24–34.
10. Aurelho de Lima M., Biagioni de Lima L.M., Catanheira R.D. et al. Análise quantitativa das células das ilhotas pancreáticas em ratos sob efeito de aloxana // Fac. med. Ribeirão Preto. Hosp clin. — 2001. — Vol. 3. — № 3–4. — P. 308–314.