

Н.А. Никифорова,  
О.В. Кузьменко,  
І. А. Громакова,  
М.О. Іваненко

ДУ Інститут медичної  
радіології ім. С.П. Григор'єва  
АМН України, Харків

## Індивідуальні особливості відновлення лейкопоезу щурів після загального одноразового рентгенівського опромінювання

Individual features of leucopoiesis restoration  
in rats after total single x-ray exposure

**Цель работы:** Изучение восстановления лейкопоза после однократного общего рентгеновского облучения крыс в дозе 6 Гр в утреннее и вечернее время, в зависимости от индивидуальной реакции животных на стрессорное тест-воздействие.

**Материалы и методы:** Эксперимент проведен на 68 крысах-самцах линии Вистар. За две недели до рентгеновского облучения животных подвергали 3-часовому иммобилизационному стрессу в положении лежа на животе. По соотношению числа лимфоцитов к уровню нейтрофилов крысы были разделены на гипо- и гиперреактивных. Животных облучали тотально одноразово в дозе 6 Гр в 8:00 и 20:00. Влияние облучения на лейкопоз изучали на 3, 7, 14, 21 и 30-е сутки после облучения.

**Результаты:** Показано, что индивидуальные различия в реакции животных на стресс определяются степенью пост-радиационных нарушений белого ростка периферической крови, начиная с 3-х суток после рентгеновского облучения. Динамика изменения количественных показателей крови крыс, облученных в 20:00, достоверно различалась между гипо- и гиперреактивными животными на все сроки наблюдения. Было установлено, что независимо от времени суток проведения рентгеновского облучения, как у гипо-, так и у гиперреактивных животных не наблюдалось полного восстановления общего числа лейкоцитов, относительного содержания лимфоцитов и нейтрофилов вплоть до конца наблюдения (30-е сутки).

**Выводы:** У гипореактивных животных, облученных в 20:00, выявлено минимальное повреждающее действие радиации на лейкопоз по сравнению с гиперреактивными, а также со всеми крысами, облученными в 8:00, независимо от реакции на стресс. Установлена более высокая выживаемость гипореактивных животных по сравнению с гиперреактивными.

**Ключевые слова:** иммобилизационный стресс, ионизирующая радиация, индивидуальная реакция, лейкопоз.

**Ключові слова:** іммобілізаційний стрес, іонізувальна радіація, індивідуальна реакція, лейкопоз.

Індивідуальний підхід до оцінки реакцій організму на дію як радіаційних, так і нерадіаційних чинників нині набув особливої актуальності. Важливість такого підходу визначається необхідністю прогнозування ускладнень, які виникають, зокрема з боку кровотворення, при застосуванні радіації в онкологічній практиці. Експериментальні дані дозволили дослідникам дійти висновку, що радіочутливість є окремим проявом особливостей загальної реактивності індивідуума [1].

**Objective:** To investigate leucopoiesis restoration in rats after total single x-ray exposure at a dose of 6 Gy in the morning and evening depending on individual reaction of the animals to stress test.

**Material and Methods:** The experiment was performed on Wistar 68 male rats. Two weeks prior to the exposure the animals were exposed to 3-hour immobilization stress in prone position. The rats were divided into hypo- and hyperreactive animals with the consideration of lymphocyte to neutrophil ratio. The animals were exposed to a single dose of 6 Gy at 8 a.m. and 8 p.m. The influence on leucopoiesis was investigated on days 3, 7, 14, 21, 30 after the exposure.

**Results:** Individual variation in the reaction of the animals to stress was determined by the degree of post-radiation disorders of the peripheral blood white sprout beginning from day 3 after the exposure. The changes in quantitative parameters of the blood of the rats irradiated at 8 p.m. significantly differed between hypo- and hyperreactive animals at all terms of the observation. It was established that irrespective of the time of the day x-ray exposure of both hypo- and hyperreactive animals, complete restoration of total amount of leukocytes, relative amount of lymphocytes and neutrophils were not observed until the end of the study (day 30).

**Conclusion:** Minimal damage of leucopoiesis was revealed in hyporeactive animals irradiated at 8 p.m. when compared with hyperreactive animals and all animals (irrespective of their reaction) irradiated at 8 a.m. Higher survival of hyporeactive animals vs hyperreactive ones was established.

**Key words:** immobilization stress, ionizing radiation, individual reaction, leucopoiesis.

Однією з класичних моделей оцінки загальної реактивності організму є відповідна реакція на стрес. На думку багатьох авторів, зміни, які характеризують реактивність організму на вплив стресового фактора і визначають ступінь його адаптації, мають певне відбиття в зміні морфологічного складу крові [2–4].

Раніше на моделі пролонгованої лейкопенії (опромінення щурів у дозі 4 Гр) було показано, що реакція лейкопоезу на іммобілізаційний стрес дозволяє розділити дослідних тварин на

гіпо- та гіперреактивних [5]. У гіпореактивних щурів, опромінених у дозі 4 Гр о 20:00, ушкоджувальна дія радіації з боку білої крові була мінімальною. Тому вважали доцільним вивчити відновлення лейкопоезу щурів за їх реакцією на стрес після опромінення у дозі, яка викликає практично 50 %-ву загибель тварин.

Метою даної роботи стало вивчення відновлення лейкопоезу після одноразового загального опромінення щурів у ранковий та вечірній час у дозі 6 Гр залежно від індивідуальної реакції тварин на стресорний тест-вплив.

### Методика дослідження

Експериментальні дослідження виконували на 68 щурах-самцях лінії Вістар тримісячного віку вагою 180–220 г, які перебували в умовах стандартного світлового та харчового режиму (вода та їжа *ad libitum*). Всі дослідження на тваринах проводили з дотриманням Міжнародних правил Європейської конвенції про захист хребетних тварин, використовуваних для експериментів, та з іншою науковою метою (Страсбург, 1985). За два тижні до опромінення тварин піддавали стрес-впливу 3-годинною іммобілізацією в положенні лежачи на животі (о 9-й годині ранку). Щурів опромінювали у двох опозитних точках о 8:00 (1-ша група — гіперреактивні, 3-тя — гіпореактивні тварини,  $n = 15$  для кожної групи) та о 20:00 (2-га група — гіперреактивні, 4-та — гіпореактивні тварини,  $n = 15$  для кожної групи) у дозі 6 Гр на рентген-апараті РУМ-17 при напрузі 190 кВ, силі струму 10 мА, фільтрах 0,5 мм Cu +1 мм Al. Потужність дози 0,216 Гр/хв.

Вплив рентгенівського опромінення на лейкопоез вивчали прижиттєво на 3, 7, 14, 21, 30-ту добу після променевої дії.

Кров відбирали з латеральної хвостової вени. Кількість лейкоцитів підраховували загальноприйнятим методом у камері Горяєва.

Відносний вміст лімфоцитів та нейтрофілів визначали морфологічним методом.

Отримані дані опрацьовували за допомогою пакета статистичних програм з використанням *t*-критерію Стьюдента.

### Результати та їх обговорення

Було проаналізовано особливості пострадіаційної депресії лейкопоезу щурів з різною реактивністю. Класичною моделлю оцінки реактивності є відповідна реакція на стресорний вплив. Деякі автори вважають що складні зміни, які характеризують реактивність організму на такий вплив, отримують відповідне відображення у змінах морфологічного складу крові (табл. 1). Ступінь вираженості змін клітин білої крові у кожного організму може характеризувати його реактивність по відношенню до подразника [6].

Як відомо, щури характеризуються лімфоїдним типом кровотворення і у нормі співвідношення лімфоцитів і нейтрофілів коливається від 2,5 до 3,3 %.

Після стресорного впливу за реакцією лейкопоезу тварин розділили: на гіперреактивних (1-ша, 2-га групи) — з різко вираженою порівняно з вихідним показником кожної тварини зміною відсоткового співвідношення вмісту лімфоцитів і вмісту нейтрофілів ( $\lambda/\eta$ )  $0,49 \pm 0,01$  %, і гіпореактивних (3-тя, 4-та групи) — з односпрямованою, але менш вираженою реакцією (співвідношення  $\lambda/\eta$ )  $0,92 \pm 0,08$  %, відразу після іммобілізації ( $p < 0,01$  між групами). Середнє значення даного коефіцієнта в нормі становило  $2,30 \pm 0,09$  % (1,84–2,37 %), ( $n = 8$ ).

Таблиця 1

*Зміна кількості лейкоцитів, нейтрофілів і лімфоцитів у периферичній крові гіпо- та гіперреактивних щурів після 3-годинної іммобілізації*

*The changes in the number of leukocytes, neutrophils and lymphocytes in peripheral blood of hypo- and hyperreactive rats after 3-hour immobilization*

Умови дослідження	Група	n	Лейкоцити $\times 10^9/\text{л}$	Нейтрофіли		Лімфоцити	
				%	$\times 10^9/\text{л}$	%	$\times 10^9/\text{л}$
Перед іммобілізацією	Разом	68	$14,55 \pm 0,40$	$29,60 \pm 0,07^*$	$4,30 \pm 0,10^*$	$60,50 \pm 0,80$	$8,80 \pm 0,40$
Одразу після іммобілізації	1	30	$15,76 \pm 1,10^*$	$60,75 \pm 1,00^{*,**}$	$9,60 \pm 0,60^{*,**}$	$28,25 \pm 0,90^{*,**}$	$4,45 \pm 0,06^*$
	2	30	$13,85 \pm 0,50$	$47,13 \pm 0,80$	$6,51 \pm 0,70$	$43,00 \pm 0,50$	$5,95 \pm 0,30$
Через 24 години після іммобілізації	1	30	$17,90 \pm 0,09^*$	$29,60 \pm 0,70^*$	$6,95 \pm 0,70^*$	$60,50 \pm 1,80^*$	$8,97 \pm 0,50^*$
	2	30	$18,60 \pm 1,30$	$25,00 \pm 0,90^*$	$5,77 \pm 0,08^*$	$65,40 \pm 1,10^*$	$11,00 \pm 0,70$

Примітка. Відмінності вірогідні у порівнянні: \* — з показниками до впливу факторів; \*\* — груп 1 (гіперреактивні) та 2 (гіпореактивні); n — кількість тварин,  $p \leq 0,05$ .

З даних літератури відомо, що найбільшу радіорезистентність мають нормореактивні тварини [7, 8]. Нами ж було досліджено особливості пострадіаційної депресії лейкопоезу у гіпер- та гіпореактивних тварин, опромінених у різний час доби у дозі 6 Гр, що забезпечує тривале пригнічення лейкопоезу.

Після рентгенівського опромінювання у гіперреактивних тварин розвивався нейтрофільний лейкоцитоз з одночасним зменшенням лімфоїдних елементів. Відносний вміст нейтрофілів до опромінювання складав  $29,6 \pm 0,7\%$ , а після нього підвищувався до  $75,4 \pm 1,5\%$  ( $p < 0,05$ ). Водночас відносний вміст лімфоцитів зменшувався від  $60,5 \pm 1,8$  до  $26,2 \pm 0,5\%$  ( $p < 0,05$ ). У групі гіпореактивних тварин у цей період спостереження нейтрофільна реакція була менш вираженою: відносний вміст нейтрофілів до променевої дії складав  $25,0 \pm 0,9\%$ , а після рентгенівського опромінювання зростав до  $49,8 \pm 1,1\%$  ( $p < 0,05$ ), а відносний вміст лімфоцитів зменшувався від  $65,4 \pm 1,1$  до  $40,9 \pm 2,0\%$  ( $p < 0,05$ ).

Аналіз співвідношення основних клітинних популяцій білої крові щурів при пострадіаційному відновленні показав, що незалежно від часу рентгенівського опромінювання у тварин усіх груп спостерігались аналогічні зміни величин досліджуваних показників.

Дані щодо кількісної зміни клітинного складу периферичної крові щурів після рентгенівського опромінювання наведені на рис. 1–3.

У досліджених групах тварин на 3-тю добу загальна кількість лейкоцитів (див. рис. 1) знижувалася майже вдвічі порівняно з вихідним рівнем. На 7-му добу спостерігали абортівне підвищення кількості цих клітин.

На 30-ту добу, яка була останньою досліджуваною точкою експерименту, не було зареєстровано повного відновлення рівня клітин. Виняток склали гіпореактивні тварини, опромінені о 20:00. Кількість лейкоцитів у них досягала вихідного рівня.

Відносний вміст лімфоцитів у тварин 1-ї та 2-ї груп (гіперреактивні щури, опромінені о 8:00 та о 20:00 год.) на 3-тю добу був нижчим ( $p = 0,02$ ) порівняно з величинами показників, зареєстрованими у щурів 3-ї та 4-ї груп

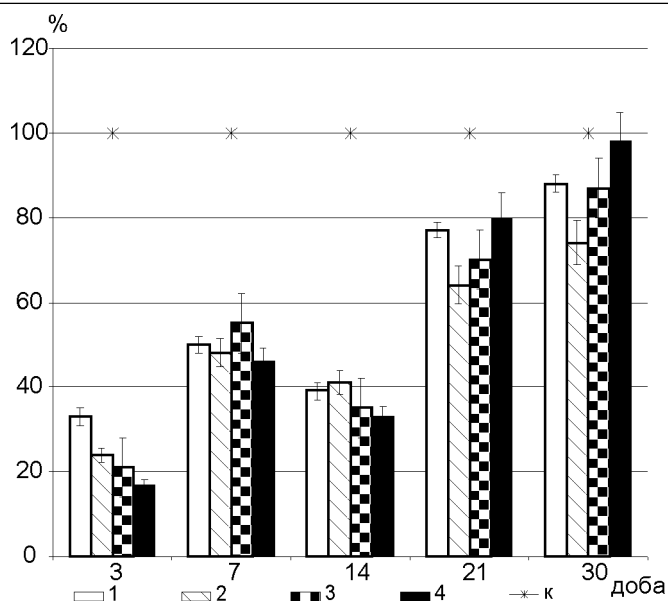


Рис. 1. Динаміка пострадіаційного відновлення рівня лейкоцитів периферичної крові гіпер- і гіпореактивних щурів, опромінених у різний час доби: 1-ша, 3-тя групи — 8:00; 2-га, 4-та групи — 20:00

Fig. 1. The changes in post-exposure restoration of peripheral blood leukocyte level in hyper- and hyporeactive rats exposed at various time of the day: groups 1 and 3 — 8 a.m., groups 2 and 4 — 8 p.m.

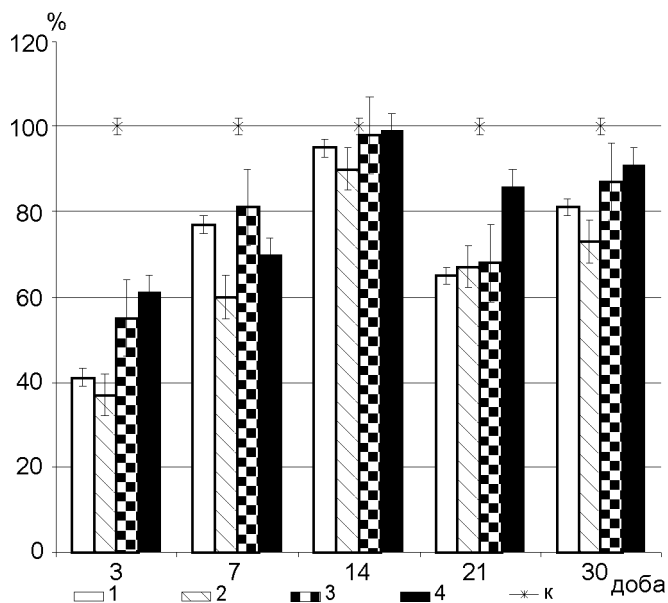


Рис. 2. Динаміка пострадіаційного відновлення рівня лімфоцитів периферичної крові гіпер- і гіпореактивних щурів, опромінених у різний час доби: 1-ша, 3-тя групи — 8:00; 2-га, 4-та групи — 20:00

Fig. 2. The changes in post-exposure restoration of peripheral blood lymphocyte level in hyper- and hyporeactive rats exposed at various time of the day: groups 1 and 3 — 8 a.m., groups 2 and 4 — 8 p.m.

(гіпореактивні щури, опромінені о 8:00 та о 20:00 год.) (див. рис. 2), а відносний вміст нейтрофілів у тварин 3-ї та 4-ї груп був вдвічі ( $p = 0,02$ ) вищим за вихідний у тварин 1-ї та 2-ї груп (рис. 3).

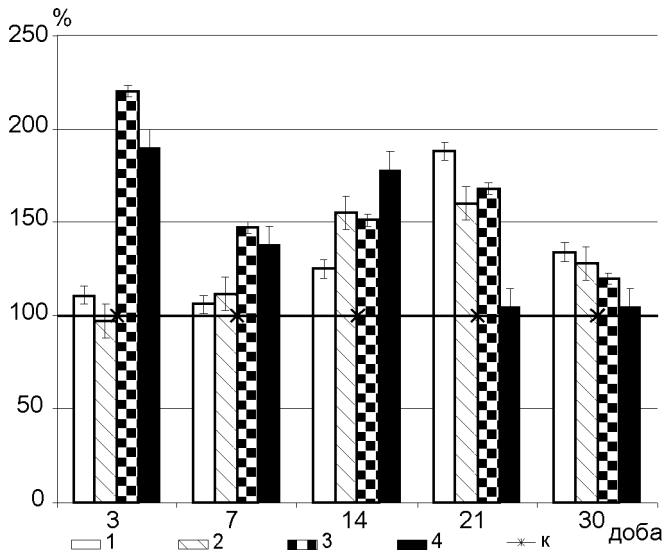


Рис. 3. Динаміка пострадіаційного відновлення рівня нейтрофілів периферичної крові гіпер- і гіпореактивних щурів, опромінених в різний час доби: 1-ша, 3-тя групи — 8:00; 2-га, 4-та групи — 20:00

Fig. 3. The changes in post-exposure restoration of peripheral blood neutrophil level in hyper- and hyporeactive rats exposed at various time of the day: groups 1 and 3 — 8 a.m., groups 2 and 4 — 8 p.m.

На 7-му добу в усіх групах відмічали подальше підвищення відносної кількості лімфоцитів і зниження відносної кількості нейтрофілів. На 14-ту добу відбувався абортивний підйом відносної кількості лімфоцитів, на 21-шу добу було зареєстровано зниження рівня цього показника без його відновлення до кінця спостереження (30-та доба).

Наявність абортивного піднесення клітин білої крові при загальному опромінюванні щурів є відображенням процесів постпроменевої регенерації різних ростків кісткового мозку.

При дозі 6 Гр у ньому відбувається повільне відновлення лімфоїдних клітин, але на 14-ту добу їх кількість тимчасово підноситься у вигляді лімфоїдного піку, що збігається з даними інших авторів [9, 10]. Деякі науковці вважають [11–13], що розвиток такого піку в опромінених щурів відбувається лише внаслідок посилення проліферації цих клітин у кістковому мозку.

Втім, малоймовірно, що даний процес може бути єдиною причиною збільшення кількості лімфоїдних клітин, оскільки в механізмі утворення лімфоїдного піку мають значення два процеси — розмноження та міграції клітин

[14,15]. Саме міграція може бути одним із механізмів подальшого зниження рівня лімфоцитів, оскільки периферична кров — основний мобільний резервуар, з якого клітини надходять до місць функціонування. Тому саме у крові тривало зберігається зниження кількості лімфоцитів.

Таким чином, незалежно від часу проведення одноразового загального рентгенівського опромінення у дозі 6 Гр і реактивності кровотворної системи тварин, не спостерігається повного відновлення відносного вмісту лімфоцитів до 30-ї доби. Лімфопенія у гіпореактивних тварин, опромінених о 20:00, не була такою глибокою впродовж усього періоду спостереження.

Проведені експериментальні дослідження дають можливість вважати, що гіперреактивні тварини мають більш високу радіоуразуваність порівняно з гіпореактивними.

Аналіз виживаності тварин з різною реактивністю кровотворної системи показав, що загибель щурів склала 80 % для гіперреактивних, опромінених о 8:00, а для гіпореактивних тварин, опромінених о 8:00 та гіпо- і гіперреактивних, опромінених о 20:00 — 60 % ( $p < 0,02$ ) на 30-ту добу спостереження, яка була останньою дослідною точкою. Це збігається з даними літератури щодо рівня летальності даного виду щурів при рентгенівському опроміненні в дозі 6 Гр [14, 15].

## Висновки

1. Інтенсивність пострадіаційної депресії лейкопоезу визначається індивідуальними особливостями організму.

2. Гіперреактивні тварини мають вищу радіочутливість порівняно з гіпореактивними тваринами.

3. У гіпореактивних щурів, опромінених о 20:00, ушкоджувальна дія радіації на лімфопоез є мінімальною.

4. Гіпореактивні щури мали більшу загальну виживаність, ніж гіперреактивні.

## Література

1. Даренская Н.Г., Короткевич А.О., Малютина Т.С., Насонова Т.А. // Рад. биол. Радиоэкол. — 2001. — Т. 41, № 2. — С. 165–170.

- 
2. Гаркави Л.Х., Квакин Е.Б., Уколова М.А. *Адаптационные реакции и резистентность организма.* — Ростов-на Дону: Изд-во Ростов. ун-та, 1990. — 224 с.
  3. Лозинская И.Н., Никифорова Н.А., Москаленко И.П. // *Радиобиол.* — 1992. — Т. 32, вып. 2. — С. 218–221.
  4. Михеев А.Н., Шилина Ю.В., Гуца Н.И. *Значение радиобиологических исследований в формировании общих представлений о механизмах биологической адаптации // Пардигм сучасної радіобіології. Радіаційний захист персоналу об'єктів атомної енергетики: Матер. наук.-практ. конф.* — Чорнобиль, 2004. — С. 44.
  5. Кузьменко О.В., Никифорова Н.А., Громакова І.А., Іваненко М.О. // *УРЖ.* — 2008. — Т. XVI, вип. 1. — С. 54–60.
  6. Поспишил М., Ваха И. *Индивидуальная радиочувствительность, ее механизмы и проявления* — М.: Энергоатомиздат, 1986. — 112 с.
  7. Toru Abo, Kawamura T. // *J. Therapeutic Apheresis.* — 2002. — Vol. 6, № 5. — P. 348–357.
  8. Белоусова О.И., Горизонтов П.Д., Федотова М.И. *Радияция и система крови.* — М.: Атомиздат, 1979. — 129 с.
  9. Хаитов Р.М., Лесков В.И. // *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* — 2001. — Т. 87, № 8. — С. 1060–1072.
  10. Haus E. // *Chronobiol.Int.* — 2002. — Vol.19, № 1. — P. 77–100.
  11. Chumak A., Bazyka D., Vyelyaeva N. et al. // *Int. J. Low Radiation.* — 2003. — Vol. 1, № 1. — P. 19–23.
  12. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Хлусов И.А. и др. // *Бюлл. эксп. биол. и мед.* — 1991. — № 7. — С. 15–17.
  13. Сох Т. *Стресс. М.: Медицина* — 1981. — 330 с.
  14. Кириличева Г.Б., Соловьева М.С., Пронин А.В. // *Мед. иммунол.* — 2004. — Т. 6, № 3, 5. — С. 232–233.
  15. Мороз Б.Б., Дешевой Ю.Б. // *Рад. биол. Радиоэкол.* — 2001. — Т. 41, № 1. — С. 5–9.

Надходження до редакції 12.06.2008.

Прийнято 18.06.2008.

Адреса для листування:

Никифорова Наталія Андріївна,  
ДУ Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва АМНУ,  
вул. Пушкінська, 82, Харків, 61024, Україна