

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 20 (59). 2007. № 3. С. 107-114.

УДК 57.081:59.082:615.83:577.15

ОСОБЕННОСТИ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ ГИПОКИНЕТИЧЕСКОГО СТРЕССА И РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА НЕСПЕЦИФИЧЕСКУЮ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ КРЫС

Темурьянц Н. А., Костюк А. С., Ярмолюк Н. С., Туманянц К. Н.

Исследованы особенности комбинированного действия ограничения подвижности и ионизирующего излучения на неспецифическую резистентность крыс. Результаты исследования показали, что эффект комбинированного действия факторов отличается от таковых при их изолированном действии. Также отмечено, что ограничение подвижности потенцирует снижение активности бактерицидных систем нейтрофилов, но ограничивает интенсификацию анаэробных процессов в лимфоцитах крови крыс, подвергнутых действию ионизирующего излучения, а рентгеновское излучение лимитирует развитие стадий тревоги гипокинетического стресса.

Ключевые слова: гипокинезия, ионизирующее излучение, пероксидаза, средняя активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и α -глициерофосфатдегидрогеназы (α -ГФДГ).

ВВЕДЕНИЕ

Исследование действия разнообразных факторов среды на человека и животных является одной из актуальных проблем современной экологической биофизики и физиологии. В настоящее время достаточно полно изучен эффект биологического действия на организм факторов различной природы и интенсивности. Однако в реальных условиях на организм человека и животных действуют разнообразные факторы не изолировано, а в комбинации друг с другом. Известно, что при комбинированном действии разнообразных факторов развиваются эффекты, отличные от их изолированного действия. А именно: два фактора могут оказывать синергетическое, антагонистическое или адаптивное действие [10].

Комбинированное действие различных факторов изучено совершенно недостаточно. В частности, не изученными остаются неспецифические эффекты совместного действия столь распространенных факторов среды как ионизирующее излучение и гипокинезия (ГК). Между тем, знания особенностей комбинированного действия этих факторов позволило бы не только расширить представления об эффектах перекрестных адаптаций, но сформулировать некоторые практические рекомендации.

В связи с изложенным, целью исследования явилось изучение совместного действия ионизирующего излучения и ограничения двигательной активности на неспецифическую резистентность крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для решения поставленных задач были проведены исследования на 36 белых беспородных крысах-самцах массой 200-250 г, полученных из питомника научно-исследовательского института биологии Харьковского университета им. В.Н. Каразина. Для экспериментов отбирали животных со средним уровнем двигательной активности и низкой эмоциональностью, определяемых в teste «открытого поля», которые преобладают в популяции [3, 9].

Экспериментальные животные были разделены на четыре равноценные группы. Животные первой группы (контроль, К) находились в обычных условиях вивария. Вторую группу (ГК) составили крысы, находившиеся в виварии в условиях ограничения двигательной активности. Третью группу (Р) составили животные, подвергавшиеся воздействию ионизирующего излучения. К четвёртой группе (ГК+Р) относились крысы, которые подвергались комбинированному воздействию гипокинезии и ионизирующего излучения.

Для создания условий ограничения подвижности крысы помещались в специально сконструированные пеналы из оргстекла, конструкция которых описана ранее [12].

Однократное тотальное гамма-излучение проводили с использованием установки «АГАТ-Р-1» мощностью излучения 11,55 мЗв/сек в дозе 6 Гр (LD50 для грызунов; используется для комплексного лечения больных с распространёнными формами злокачественных лимфом) в течение 580 секунд. Воздействию ионизирующего излучения у животных четвертой группы предшествовало ограничение двигательной активности.

Материалом исследования служила периферическая кровь крыс. Забор крови проводили путём пункции хвостовой вены в одно и тоже время суток (9-10 часов).

Неспецифическая резистентность оценивалась по функциональному состоянию лимфоцитов и нейтрофилов. Функциональное состояние лимфоцитов оценивалось по содержанию в них окислительно-восстановительных ферментов – сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и α -глицерофосфатдегидрогеназы (α -ГФДГ). Для их выявления и вычисления средней активности использовался цитохимический метод Р.Н. Нарциссова (1969) [6]. Для суждения о доминировании аэробных или анаэробных процессов в клетке определяли отношение средней активности α -ГФДГ к средней активности СДГ –
$$\frac{\alpha - ГФДГ}{СДГ}$$
 [8].

Функциональное состояние нейтрофилов оценивалось по цитохимическому показателю содержания (ЦПС) пероксидазы (ПО), являющейся одной из бактерицидных систем клетки [7]. Содержание ПО определяли по Gracham, [4], а вычисление ЦПС производили согласно Kaplow (1955) [15].

Тип неспецифической адаптационной реакции организма (НАРО), развивающейся на действие различных факторов, определяли согласно Л.Х. Гаркави и др. (1998) по отношению лимфоциты/нейтрофины, для чего подсчитывали лейкоцитарную формулу [1].

ОСОБЕННОСТИ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ

Для изучения модифицирующих эффектов гипокинезии на воздействие радиации и наоборот для каждого изученного показателя изучали коэффициент модификации [13].

$$KM_P = ((GK + P) - GK) / GK,$$

$$KM_{GK} = ((GK + P) - P) / P,$$

где GK, P, GK+P – значения изученных показателей (средней активности СДГ, α -ГФДГ, ЦПС ПО) при воздействиях GK, P и их комбинации соответственно; KM_P – коэффициент модифицирующего влияния P на действие GK, KM_{GK} – коэффициент модифицирующего влияния GK на действие P.

В качестве критерия оценки достоверности наблюдаемых изменений использовали t-критерий Стьюдента. За достоверную принималась разность средних при $p < 0,05$.

Эксперименты проводились с соблюдением принципов «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986) [2] и Постановления первого национального конгресса по биоэтике (Киев, 2001).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали проведённые исследования ограничения двигательной активности приводят к снижению окислительно-восстановительного потенциала лимфоцитов крови. Об этом свидетельствует снижение средней активности СДГ на 23% и α -ГФДГ на 7% после односуточной гипокинезии. Увеличение сроков гипокинезии до 5-ти суток привело к более значительному снижению изученных показателей – на 40% и 28% соответственно ($p < 0,05$) (рис. 1).

Однако, при ограничении подвижности оставались доминирующими аэробные процессы в клетке, о чём свидетельствовала величина отношения $\frac{\alpha\text{-ГФДГ}}{СДГ}$ ниже 1 (0,84 – 0,96).

Результаты проведенного исследования свидетельствуют, что одно- и пятисуточное ограничение двигательной активности приводят к снижению ЦПС ПО относительно данных, полученных у контрольной группы животных на 4% и 21% соответственно ($p < 0,05$) (рис. 1).

Отношение л/н у крыс этой группы было ниже 1, что свидетельствует о развитии у них стресс-реакции на ограничение подвижности.

Полученные нами данные полностью согласуются с результатами других исследователей [5, 9].

Ионизирующее излучение в дозе 6 Гр также вызвало изменения дегидрогеназной активности в лимфоцитах, но противоположного знака. На 1-е сутки воздействия средняя активность СДГ в лимфоцитах возросла на 4% и оставалась на этом уровне и на 5-й день после облучения. Более существенно возрастала средняя активность α -ГФДГ: на 1-е сутки воздействия на 26% ($p < 0,05$), на 5-е сутки на 15% относительно контрольного уровня ($p < 0,05$).

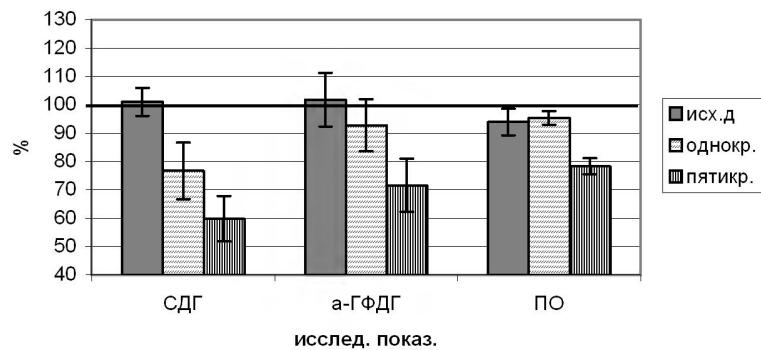


Рис. 1. Динамика средних активностей СДГ и α -ГФДГ в лимфоцитах и ЦПС ПО в нейтрофилах крови крыс при действии гипокинезии в процентах относительно контрольной группы в различные сроки наблюдения.

Таким образом, под влиянием ионизирующего излучения активировались анаэробные процессы в лимфоцитах, о чём свидетельствовало и возрастание коэффициента $\frac{\alpha - ГФДГ}{СДГ}$.

Влияние этого фактора на нейтрофилы проявилось в снижении ЦПС ПО после первых и пятых дней на 20% и 19% соответственно ($p<0,05$) (рис. 2).

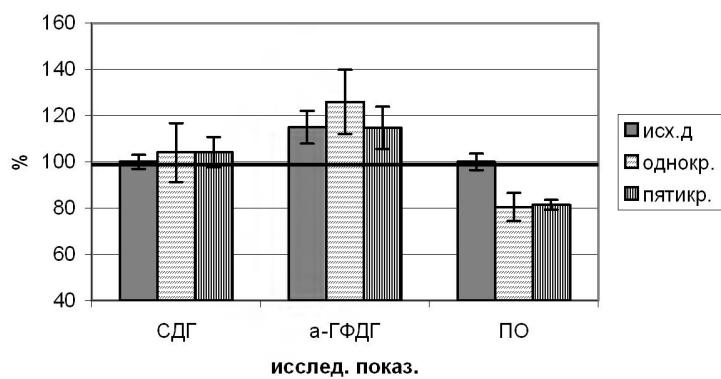


Рис. 2. Динамика средних активностей СДГ и α -ГФДГ в лимфоцитах и ЦПС ПО в нейтрофилах крови крыс при действии ионизирующего излучения в процентах относительно контрольной группы в различные сроки наблюдения.

ОСОБЕННОСТИ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ

Таким образом, ионизирующее излучение вызывает интенсификацию анаэробных процессов в лимфоцитах и снижение активности бактерицидных систем в нейтрофилах.

При рассмотрении коэффициента лимфоциты/сегментоядерные нейтрофилы у животных этой группы отмечено колебание данного показателя в пределах 1,44 – 1,68 усл.ед., что согласно Л.Х. Гаркави оценивается как развитие НАРО «тренировки» [1].

Комбинированное действие ограничения подвижности и ионизирующего излучения на крыс вызывало изменения, отличные от их изолированного действия. Так, на первые сутки эксперимента средняя активность СДГ снизилась на 7% относительно значений контрольной группы животных. При увеличении сроков эксперимента до 5 суток средняя активность СДГ в лимфоцитах у крыс имела тенденцию к увеличению относительно контрольного уровня.

При комбинированном действии ионизирующей радиации и ограничения подвижности активность α -ГФДГ незначительно увеличилась на первые (12%) и пятые (8%) сутки воздействия при сравнении со значениями группы интактных животных (рис. 3).

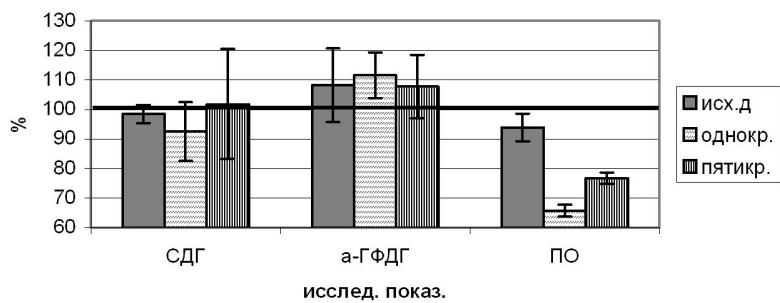


Рис. 3. Динамика средних активностей СДГ и α -ГФДГ в лимфоцитах и ЦПС ПО в нейтрофилах крови крыс при комбинированном действии рентгеновского излучения и гипокинезии (ГК+Р) в процентах относительно контрольной группы в различные сутки наблюдения.

Анализируя полученные данные активности пероксидазы было отмечено снижение показателя на 34% и 23% ($p<0,05$) при одно- и пятикратном воздействии рассматриваемых факторов соответственно относительно показателей животных контрольной группы.

Таким образом, эффекты комбинированного действия ионизирующего излучения и ограничения подвижности отличались от таковых при изолированном воздействии изучаемых факторов. Не наблюдалось снижения средней активности дегидрогеназ, характеризующих гипокинетический стресс, более того, эти

показатели имели тенденцию к увеличению, которое было выражено меньше, чем при изолированном действии ионизирующего излучения. КМ гипокинезии для этих показателей был больше нуля, что говорит о том, что рентгеновское излучение препятствует снижению неспецифической резистентности, характерного для гипокинетического стресса. Для различных показателей модифицирующий эффект был выражен неодинаково: наиболее ярко он проявлялся в отношении дегидрогеназ в лимфоцитах (рис. 4). Определение типа адаптационной реакции по коэффициенту л/н показало, что в этих условиях у животных стресс-реакция не развивалась ($л/н > 1$).

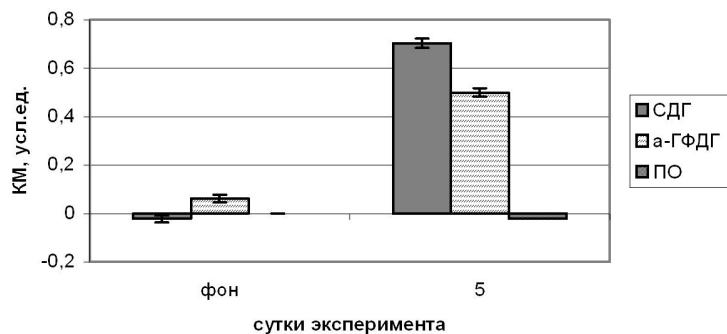


Рис. 4. Коэффициенты модификации (усл.ед.) средних активностей СДГ и α -ГФДГ и ЦПС ПО гипокинезии на действие ионизирующего излучения.

Ранее показано, что стресс-лимитирующими действиями обладают низкоинтенсивные электромагнитные излучения сверхнизкой [12] и крайневысокой частот [13]. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что и фактор другой природы и более высокой интенсивности может обладать стресс-протекторным действием. Для подтверждения этих данных необходимы дальнейшие исследования.

С другой стороны и стресс-факторы при их комбинированном действии модифицируют развитие адаптационных реакций на действие не только неионизирующих [11, 14], но и ионизирующих излучений.

Модификация реакций крыс на ионизирующее излучение ограничением подвижности проявлялась по-иному: гипокинезия несколько препятствовала интенсификации анаэробных процессов в лимфоцитах, но усиливала ЦПС ПО в нейтрофилах. Эти процессы выражались в отрицательных значениях KM_p . Кроме того, KM_p по модулю был ниже, чем $KM_{ГК}$, что свидетельствует о менее выраженном влиянии ограничения подвижности на реакции, вызываемые ионизирующим излучением, чем наоборот (рис. 4, 5).

ОСОБЕННОСТИ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ

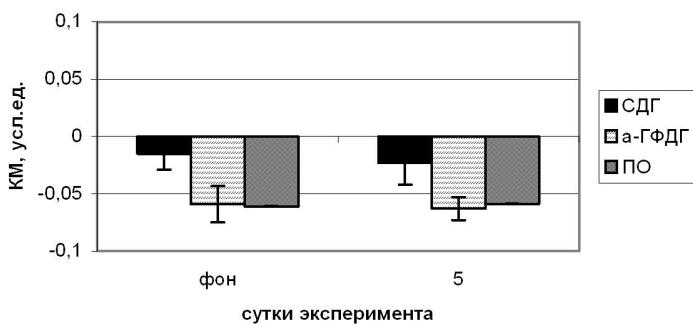


Рис. 5. Коэффициенты модификации (усл.ед.) средних активностей СДГ и α -ГФДГ и ЦПС ПО ионизирующего излучения на действие гипокинезии.

Таким образом, ионизирующее излучение препятствует развитию стадии тревоги гипокинетического стресса на ограничение подвижности, но с другой стороны ограничение подвижности лимитирует интенсификацию анаэробных процессов в лимфоцитах и способствует более выраженному снижению активности бактерицидных систем нейтрофилов у крыс с ограниченной подвижностью. Дальнейшие исследования позволят уточнить и расширить полученные данные.

ВЫВОДЫ

1. Эффект комбинированного действия ограничения подвижности и ионизирующего излучения отличается от таковых при их изолированном действии.
2. При кратковременном (1-5сутки) комбинированном действии ГК и ионизирующего излучения не наблюдается снижение активности бактерицидных систем нейтрофилов и энергетических процессов в лимфоцитах, характерных для стадии тревоги гипокинетического стресса.
3. Ограничение подвижности потенцирует снижение активности бактерицидных систем нейтрофилов, но ограничивает интенсификацию анаэробных процессов в лимфоцитах крови крыс, подвергнутых действию ионизирующего излучения в течение 1-5 суток.

Список литературы

1. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С. Антистрессорные реакции и активационная терапия. Реакция активации как путь к здоровью через процессы самоорганизации. – М.: «Имедин», 1998. – 656 с.
2. Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей / Страсбург, 18 марта 1986 г.: Сборник договоров Совета Европы. Украинская версия // Е.М. Вишневский (пер. та ред.) – К.: Парламентское издательство, 2000. – 654 с.
3. Кулагин Д.А., Болондинский В.Е. Нейрохимические аспекты эмоциональной реактивности и двигательной активности крыс в новой обстановке // Успехи физiol. наук. – 1986. – Т. 17, № 1. – С. 92.
4. Лилли Р. Патологическая техника и практика гистохимии. - М.: Мир, 1969. – 648 с.

5. Михайлов А.В. Функциональная морфология нейтрофилов крови крыс в процессе адаптации к гипокинезии: Автореф. дис... канд. биол. наук: 03.00.13 / СГУ. – Симферополь, 1985. – 25 с.
6. Нарциссов Р.Н. Применение N-нитротетразолия фиолетового для количественной цитохимии дегидрогеназ лимфоцитов человека / Р.П.Нарциссов // Арх. анат. – 1969. - № 5 – С. 55-91.
7. Пигаревский В.Е. Зернистые лейкоциты и их свойства. – М.: Медицина, 1978. – 128 С.
8. Робинсон М.В., Топоркова Л.Б., Труфакин В.А. Морфология и метаболизм лимфоцитов. – Новосибирск: Наука, 1986. – 125 с.
9. Сантьяна Вега Л. Роль индивидуальных особенностей двигательной активности в развитии гипокинетического стресса у крыс.: Автореф. дис.канд. биол. наук. - Симферополь.-1991.-21с.
10. Слоним А.Д. Учение о физиологической адаптации // Экологическая физиология животных. - Л.: Наука, 1979. - С. 79-183.
11. Темурьянц Н.А., Чуюн Е.Н. Реакция крыс с различными индивидуальными особенностями на действие микроволн // Сб. докл. XI междунар. симпоз. по гидромагнитной электродинамике. – Т. 1. – 1992. – С. 126-129.
12. Темурьянц Н.А., Михайлов А.В. Влияние слабого переменного магнитного поля сверхнизкой частоты на развитие гиперкоагуляционного синдрома при ограничении подвижности крыс // Биофизика. – Т.XXX, вып. 6. – Москва, 1985. – С. 1046-1049.
13. Чуюн Е.Н., Махонина М.М. Изменение функциональной активности лимфоцитов крови крыс как отражение модифицирующих эффектов низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ и гипокинетического стресса // Таврический медико-биологический вестник. – 2005. – Т. 8, № 3. – С. 142-145.
14. Чуюн Е.Н., Махонина М.М., Заячникова Т.В. Модифицирующее действие гипокинетического стресса на изменение показателя синтетической активности лимфоцитов крови крыс при воздействии низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ // Ученые записки таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т. 19 (58). – № 1. – С. 105-112.
15. Kaplow L.S. A Histochemical prosedure for localizing and evaluation leukocyte alkaline phosphatase activity in smears of blood and marrow // Blood. - 1955. - No. 10. - P. 1023-1029.

Темур'янц Н.А., Костюк О.С., Ярмолюк Н.С., Туманянц К.М. Особливості комбінованого дії обмеження рухливості й іонізуючого випромінювання на неспеціфічну резистентність пацоків // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського . Серія „Біологія, хімія”. – 2007. – Т. 20 (59). – № 3. – С. 107-114.

Дослідженні особливості комбінованої дії обмеження рухливості та іонізуючого випромінювання на неспеціфічну резистентність пацоків. Результати дослідження показали, що ефект комбінованої дії факторів відрізняється від таких при їхній ізольованій дії. Також відзначено, що обмеження рухливості потенційно зниження активності бактерицидних систем нейтрофілів, але обмежує інтенсифікацію анаеробних процесів у лімфоцитах крові пацоків, піддалих дії іонізуючого випромінювання, а рентгенівське випромінювання лімітує розвиток стадії тривоги гіпокінетичного стресу.

Ключові слова: гіпокінезія, іонізуюче випромінювання, пероксидаза, середня активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) та α -гліцерофосфатдегідрогенази (α -ГФДГ).

Temuryants N.A., Kostyuk A.S., Yarmolyuk N.S., Tumanyants K.N. Combined action of restriction of mobility of an ionizing radiation on nonspecific resistency of rats are investigated. // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2007. – V.20 (59). – № 3. – P. 107-114.

Features of the combined action of restriction of mobility of an ionizing radiation on nonspecific resistency of rats are investigated. Results of research have shown, that the effect of the combined action of factors differs from those at their isolated action. Also restriction of mobility potencial decrease in activity of bactericidal systems neutrophils is noted, that, but limits an intensification anaerobic processes in leucocytes blood of the rats treated to action of an ionizing radiation, and x-ray radiation limited development of a stage of alarm hypokinetic stress.

Key words: hypokinesia, an ionizing radiation, bactericiad and energetic systems

Поступило в редакцию 26.11.2007 г.