

На правах рукописи

ГРЕБНЕВ
ДМИТРИЙ ЮРЬЕВИЧ

ВЛИЯНИЕ ЦИТОПРОТЕКТИВНОЙ ТЕРАПИИ ТИЗОЛЕМ НА ПРОЦЕССЫ
РЕГЕНЕРАЦИИ МИЕЛОИДНОЙ ТКАНИ И ЭПИТЕЛИЯ ТОЩЕЙ КИШКИ
ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

14.00.16 – патологическая физиология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель: Заслуженный деятель науки РФ,
член - корр. РАМН, доктор медицинских наук, профессор
А.П. Ястребов

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
1.1. Современные представления о механизмах восстановления тканей после воздействия ионизирующего излучения.....	7
1.2. Основные аспекты терапии острой лучевой болезни.....	9
1.3. Молекулярные механизмы апоптоза, связанные с изменением мембранного потенциала митохондрий.....	11
1.4. Фармакологические свойства цитопротектора тизоль.....	14
1.5. Заключение и задачи исследования.....	15
ГЛАВА 2. МЕТОДИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	
2.1. Общая характеристика лабораторных животных использованных в исследованиях.....	17
2.2. Дозы и способы введения препаратов.....	17
2.3. Облучение лабораторных животных на гамма-терапевтической установке.....	19
2.4. Методы исследования кроветворной ткани	22
2.4.1. Морфологическое исследование крови и костного мозга.....	
2.4.2. Приготовление, окраска, микроскопия и подсчет микроядер в ретикулоцитах костного мозга крыс.....	24
2.5. Методы оценки регенераторных процессов в слизистой оболочке тощей кишки.....	27
2.6. Методы статистической обработки полученных результатов.....	29
ГЛАВА 3. Комплексная оценка состояния гемопоэтической ткани после воздействия ионизирующего излучения, а также на фоне проведения цитопротективной терапии	

4.1. Состояние костного мозга на 1 сутки у лабораторных животных, не подвергшихся радиационной нагрузке на фоне введения препаратов.....	31
4.2. Состояние костного мозга на 1 сутки у лабораторных животных подвергшихся радиационной нагрузке дозой 0,5 Гр на фоне проведения цитопротективной терапии.....	40
4.3. Состояние костного мозга на 1 сутки у лабораторных животных подвергшихся радиационной нагрузке дозой 3 Гр на фоне проведения цитопротективной терапии.....	54
4.4. Состояние костного мозга на 7 сутки у лабораторных животных, не подвергшихся радиационной нагрузке на фоне введения препаратов.....	68
4.5. Состояние костного мозга на 7 сутки у лабораторных животных подвергшихся радиационной нагрузке дозой 0,5 Гр на фоне проведения цитопротективной терапии.....	79
4.6. Состояние костного мозга на 7 сутки у лабораторных животных подвергшихся радиационной нагрузке дозой 3 Гр на фоне проведения цитопротективной терапии.....	93
4.7. Заключение.....	107

ГЛАВА 4. Морфологическая оценка динамики регенерации слизистой оболочки тощей кишки после воздействия ионизирующего излучения, а также на фоне проведения цитопротективной терапии

4.1. Морфология апоптоза.....	111
4.2. Регенерация слизистой оболочки тощей кишки на 1 сутки у лабораторных животных, не подвергшихся радиационной нагрузке на фоне введения препаратов.....	115
4.3. Регенерация слизистой оболочки тощей кишки на 1 сутки у лабораторных животных подвергшихся радиационной нагрузке дозой 0,5 Гр на фоне проведения цитопротективной терапии.....	118

4.4. Регенерация слизистой оболочки тощей кишки на 1 сутки у лабораторных животных подвергшихся лучевой нагрузке дозой 3 Гр на фоне проведения цитопротективной терапии.	124
4.5. Регенерация слизистой оболочки тощей кишки на 7 сутки у лабораторных животных, не подвергшихся радиационной нагрузке на фоне введения препаратов.....	130
4.6. Регенерация слизистой оболочки тощей кишки на 7 сутки у лабораторных животных подвергшихся радиационной нагрузке дозой 0,5 Гр на фоне проведения цитопротективной терапии.....	133
4.7. Регенерация слизистой оболочки тощей кишки на 7 сутки у лабораторных животных подвергшихся радиационной нагрузке дозой 3 Гр на фоне проведения цитопротективной терапии.....	137
4.8. Верификация апоптоза эпителия тощей кишки флуоресцентно-микроскопическим методом с целью оценки эффективности проводимой цитопротективной терапии.....	142
4.9. Заключение.....	144
ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	152
ВЫВОДЫ.....	164
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	166..
БЛАГОДАРНОСТЬ.....	181

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Миелоидная ткань костного мозга и эпителий тонкого кишечника считаются «критическими» при воздействии ионизирующего излучения на биосистему, так как относятся к быстропролиферирующим.

Пострадиационное восстановление популяции гемопоэтических клеток и эпителиоцитов осуществляется за счет сохранившихся стволовых клеток. В целом, стволовые клетки кишечника обладают большей радиорезистентностью по сравнению со стволовыми клетками костного мозга. Поэтому пострадиационные клеточно-кинетические процессы в кишечнике протекают быстрее, чем в костном мозге. Гибель клеток практически всегда происходит в интерфазе, но не только перед первым постлучевым делением, но в интерфазе после второго и последующих делений. Причем клетки погибают в интерфазе как по апоптотическому, так и по некротическому пути.

В радиационном поражении стволовых клеток костного мозга и эпителия кишечника большую роль играет апоптоз, в который они входят вскоре после облучения.

На сегодняшний день к средствам ранней патогенетической терапии относятся дезинтоксикационные средства и методы, препараты с преимущественным действием на иммунную систему (иммуномодуляторы), адаптогены и стимуляторы регенерации. При этом остается актуальной проблема поиска препаратов, действие которых направлено на сохранение активности радиочувствительных тканей. В этом плане представляется перспективным поиск цитопротекторов обладающих антиапоптогенным действием, таким образом, препятствующих гибели стволовых клеток путем апоптоза; а также комбинации цитопротектора обладающего антиапоптогенным действием и препарата вызывающего репарацию ДНК. Последнее представляется наиболее целесообразным.

Все изложенное выше и явилось основанием для постановки основной цели и задач настоящего исследования:

Цель. Поиск цитопротекторов, оказывающих терапевтическое действие на апоптоз после воздействия ионизирующего излучения.

Задачи.

1. Оценить при состоянии кроветворной ткани после воздействия ионизирующего излучения
2. Оценить состояние в тощей кишке системы крипта – ворсина после воздействия ионизирующего излучения
3. Исследовать терапевтическое действие цитопротектора тизоль на радиочувствительные ткани.
4. Изучить действие комплексной терапии тизолем и деринатом на радиочувствительные ткани.

Научная новизна. В настоящем эксперименте впервые при парентеральном введении выявлено выраженное антиапоптогенное действие цитопротектора тизоль на радиочувствительные ткани (миелоидная ткань, эпителий тощей кишки). Также впервые выявлено антиапоптогенное действие после комбинированного введения цитопротектора тизоль и препарата деринат. Было показано, что снижение апоптоза при монотерапии тизолем имеет дозозависимый характер, то есть с уменьшением дозы снижается антиапоптогенный эффект.

На фоне монотерапии тизолем и комплексной терапии тизолем и деринатом отмечено снижение количества патологических митозов. В последнем случае снижение мутагенной активности в эпителии тощей кишки было более выражено.

Теоретическая и практическая значимость работы. В эксперименте показано терапевтическое действие на радиочувствительные ткани (миелоидная ткань и эпителий тощей кишки) монотерапии цитопротектором тизоль и комплексной терапии тизолем и деринатом. При этом наиболее предпочтительным является использование комплексной терапии, поскольку

помимо антиапоптогенного действия здесь имело место более выраженное снижение мутагенной активности.

Обоснована возможность комбинированного введения цитопротектора обладающего антиапоптогенным действием и препарата стимулирующего регенерацию для терапии постлучевого синдрома, предшествующей интенсивной химиотерапии.

Апробация работы и публикации.

По теме диссертации опубликовано 12 работ.

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на:

1. Научно – практической конференции «Человек и здоровье: применение биокорректоров», г. Москва, 2005 г.
2. Научной конференции молодых ученых «Актуальные вопросы клинической и экспериментальной медицины», г. Санкт – Петербург, 2006 г.
3. 61 научной конференции студентов и молодых ученых «Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения», г. Екатеринбург, 2006 г.
4. IX Всероссийская научно – практическая конференция «Человек и его здоровье», г. Санкт – Петербург, 2006 г.

На защиту выносятся следующие положения:

1. После воздействия ионизирующего излучения на фоне повышенного уровня апоптоза в миелоидной ткани и в эпителии тощей кишки, цитопротектор тизоль оказывает антиапоптогенное действие.
2. Цитопротектор тизоль оказывает стимулирующее действие на эритропоэз.
3. После воздействия ионизирующего излучения на фоне повышенного уровня апоптоза в миелоидной ткани и в эпителии тощей кишки, комбинированное введение цитопротектора тизоль и препарата деринат оказывает антиапоптогенное действие и снижает уровень патологических митозов.

ГЛАВА 1. МАКРОС

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

методический
на материале

1.1. Современные представления о механизмах восстановления тканей после воздействия ионизирующего излучения.

Проблема клеточного восстановления после воздействия повреждающего фактора продолжает оставаться актуальным вопросом современной биологии и медицины.

Регенерация (regeneratio – возрождение, возобновление) – универсальный процесс восстановления утраченных или поврежденных структур организма, являющийся структурной основой адаптации и компенсации нарушенных функций и обеспечивающий сохранение гомеостаза в изменяющихся условиях среды.

Регенерация признана универсальной формой обеспечения компенсаторно – приспособительных процессов жизнедеятельности в организме. Она протекает на всех уровнях организации живого и в обычных условиях (физиологическая регенерация) обеспечивает функционирование всех систем органов.

Под влиянием действия на организм экстремальных факторов могут возникать изменения двоякого рода. В тех случаях, когда интенсивность действия повреждающего фактора превалирует над процессами восстановления развиваются дистрофические, а затем и некротические изменения в тканях, которые, соответственно, приводят к нарушению специфических функций выполняемых данной тканью; можно говорить об угнетении процессов регенерации.

После воздействия повреждающего фактора (ионизирующее излучение) имеет место две формы гибели клеток: апоптоз и некроз.

Гибель клеток по некротическому пути начинается с увеличения объема клетки и разрыва клеточной мембраны. Наступающее нарушение целостности клеточной мембраны приводит к выходу цитоплазматического

материала во внеклеточное пространство, из-за которого в организме развивается воспалительная реакция (апоптотическая гибель клеток не сопровождается воспалением).

Еще в 1972 году исследователи Kerr J.F., и Searle J., обратили внимание на *несоответствие парадоксально медленной скорости клеточного обновления и значительной митотической активности клеток* поврежденных тканей.

Причину этого несоответствия авторы связали со своеобразной гибелью клеток. Исследователи предположили, что эта форма гибели клеток является важным фактором в определении скорости клеточного обновления.

На сегодняшний день известно, что выявленная исследователями «особая» форма гибели клеток – апоптоз.

Апоптоз – это регулируемая гибель клеток, одна из сторон клеточного гомеостаза (вторая – деление клеток) в различных тканях млекопитающих при многих условиях в нормальном онтогенезе, тератогенезе, канцерогенезе, при терапевтически обусловленной регрессии новообразований, атрофии и инволюции тканей и органов.

Апоптоз – следствие действия на клетку различных факторов эндогенной и экзогенной природы. Установлено, что апоптоз осуществляется и контролируется генетическими, иммунными, гормональными и другими механизмами.

Таким образом, *успех регенерации определяется соотношением двух разнонаправленных процессов - пролиферации клеток (митоз) и программируемой клеточной гибели (апоптоз).*

Восстановление организма после острого лучевого поражения в первом приближении можно свести к пролиферации клеток, сохранивших жизнеспособность, благодаря чему восполняется убыль популяции клеток критических органов и систем, а, следовательно, восстанавливается их функциональная полноценность.

Источником пострadiaционного восстановления критических тканей и органов могут быть не только неповрежденные клетки, но и клетки, поврежденные обратимо и восстановившие жизнеспособность.

В любой облученной клеточной популяции следует различать два типа пострadiaционного восстановления: репарацию на клеточном уровне и восстановление субклеточных структур. Процессы восстановления в организме после облучения протекают с различной скоростью: наивысшей в активно пролиферирующих тканях и минимальной в тканях с низким уровнем пролиферации.

Полное восстановление численности клеточной популяции после воздействия ионизирующего излучения возможно при условии восстановления численности стволовых клеток. Гибель последних осуществляется в том числе и путем апоптоза.

Целесообразно остановиться на современных аспектах терапии лучевой болезни.

1.2. Основные аспекты терапии острой лучевой болезни.

Восстановление организма после общего острого облучения можно свести к необходимости замены пораженных клеток здоровыми. Применение терапевтических средств должно способствовать такому процессу, его ускорению или стимуляции.

Первый принцип лечения лучевой болезни заключается в *патогенетической терапии* наиболее значимых проявлений заболевания. Наряду с этим следует учитывать также нарушения, возникающие и в других (некритических) системах организма, воздействие на которые составляет второй принцип лечения – *симптоматическую терапию*.

Критическими системами клеточного обновления млекопитающих при облучении являются системы кроветворения и желудочно – кишечного тракта. Восполнение клеточной убыли составляет первостепенную задачу

заместительной терапии, способствующей ослаблению первичных и вторичных нарушений, непосредственно угрожающих жизни. При этом под первичными нарушениями понимают аплазию костного мозга и связанное с ней обеднение периферической крови форменными элементами; в тонком кишечнике это клеточное опустошение ворсинок и крипт. Под вторичными – инфекционные осложнения и кровоточивость.

Помимо проводимой по показаниям заместительной терапии (костного мозга, периферической крови), выделяют функциональную терапию.

Раннее лечение острой лучевой болезни проводится по двум направлениям: купирование проявлений первичной реакции на облучение (ПРО)-симптоматическая терапия и активация процессов пострadiационной репарации и восстановления костномозгового кроветворения - ранняя патогенетическая терапия.

Средства ранней патогенетической терапии назначаются в первые часы-сутки после облучения. Их действие направлено на активацию процессов постлучевой репарации в системе костномозгового кровообращения и стимуляцию пролиферативной активности стволовых кроветворных клеток, в результате чего и происходит более быстрое восстановление костномозгового кровообращения и, как следствие повышается выживаемость облученных организмов. К средствам ранней патогенетической терапии относятся дезинтоксикационные средства и методы, препараты с преимущественным действием на иммунную систему (иммуномодуляторы), адаптогены и стимуляторы регенерации.

Несомненный успех получен при лечении облученных животных препаратами ДНК, причем для нуклеиновых кислот не имеет значения генетическая близость. По данным Б. Паневича, эффективными оказались препараты изологичных ДНК и РНК, а Д. Мэзен (1965) и Н. Лучник (1966) наблюдали повышение выживаемости мышей, получавших даже дрожжевую РНК. Механизм действия этих биополимеров пока не выяснен, хотя и продолжает изучаться. Предположение об их заместительной роли (взамен

или как компенсация ДНК, поврежденной при облучении) вряд ли обосновано, так как они эффективны не только для лечения, но и при профилактике лучевых поражений. Последнее позволяет характеризовать проводимую терапию подобными препаратами, как *цитопротективную*.

Типичным представителем препаратов, оказывающих стимулирующее действие на процессы регенерации является деринат (водный раствор дезоксирибонуклеата натрия). Деринат представляет собой натриевую соль ДНК, полученную из молок осетровых рыб. В качестве средства ранней терапии острой лучевой болезни деринат применяется не позднее 24 ч после облучения, вводится внутримышечно.

Как указывалось выше, восстановление численности клеточной популяции возможно только после восстановления численности стволовых клеток. Гибель стволовых клеток осуществляется как путем некроза, так и путем апоптоза. И здесь представляется резерв в плане воздействия не только на процессы репарации ДНК, но и на апоптоз.

Известно, что апоптоз до момента включения эффекторных каспаз есть процесс обратимый. Поэтому перспективным является поиск цитопротекторов, блокирующих обратимую фазу апоптоза, на стадии работы иницирующих каспаз.

Вследствие временного торможения обратимой фазы апоптоза, клетка получает «дополнительное время» на репарацию тех повреждений, которые были вызваны воздействием повреждающего фактора (ионизирующее излучение).

1.3. Молекулярные механизмы апоптоза, связанные с изменением мембранного потенциала митохондрий.

Поскольку наиболее чувствительной структурой клетки к действию ионизирующего излучения является ДНК, то в этом случае развитие апоптоза вызвано преимущественно трансформацией «латентного» белка p53 в

«стрессовый» белок p53. Последний способствует образованию гигантских пор на внутренней мембране митохондрий, следствием чего является набухание митохондриального матрикса, резкое снижение мембранного потенциала и разрыв наружной мембраны митохондрий; высвобождение в цитоплазму клетки растворимых белков межмембранного объема. Среди этих белков – ряд апоптогенных факторов: цитохром с, прокаспазы 2,3 и 9, белок AIF, термолабильный белок. Помимо «стрессового» белка p53, выходу из митохондрий апоптогенных факторов способствует и образование активных форм кислорода после воздействия ионизирующего излучения.

Среди митохондриальных апоптогенных факторов, основную роль в развитии апоптоза играет цитохром с.

С этой позиции представляется важным учет современных данных молекулярных механизмов апоптоза, на которые возможно воздействовать и, в итоге, управлять данным процессом.

Высвобождаемый из митохондрий цитохром с вместе с цитоплазматическим фактором APAF-1 (apoptosis protease activating factor-1) участвует в активации каспазы-9. APAF-1 – белок с молекулярной массой 130 кДа, содержащий CARD-домен (caspase activation and recruitment domain) на N-конце и 12 повторяющихся аминокислотных последовательностей на C-конце, образует комплекс с прокаспазой-9 в присутствии цитохрома с и АТФ.

APAF-1 играет роль арматуры, на которой происходит аутокаталитический процессинг каспазы-9. Предполагается, что в результате зависимо от гидролиза АТФ конформационного изменения APAF-1 приобретает способность связывать цитохром с (рис. 1). Связав цитохром с, APAF-1 претерпевает дальнейшее конформационное изменение, способствующее его олигомеризации и открывающее доступ CARD-домена APAF-1 для прокаспазы-9, которая тоже содержит CARD-домен. Так образуется конструкция, называемая тоже апоптосомой, в составе которой – не менее 8 субъединиц APAF-1. Благодаря гомофильному CARD-CARD-

взаимодействию с APAF-1 в эквимольном соотношении связывается прокаспаза-9, а затем прокаспаза-9 связывает прокаспазу-3. Пространственное сближение молекул прокаспазы-9 на мультимерной арматуре из APAF-1-цитохром-с-комплексов, по-видимому, приводит к межмолекулярному протеолитическому процессингу прокаспазы-9 с образованием активной каспазы-9 (инициирующая каспаза).

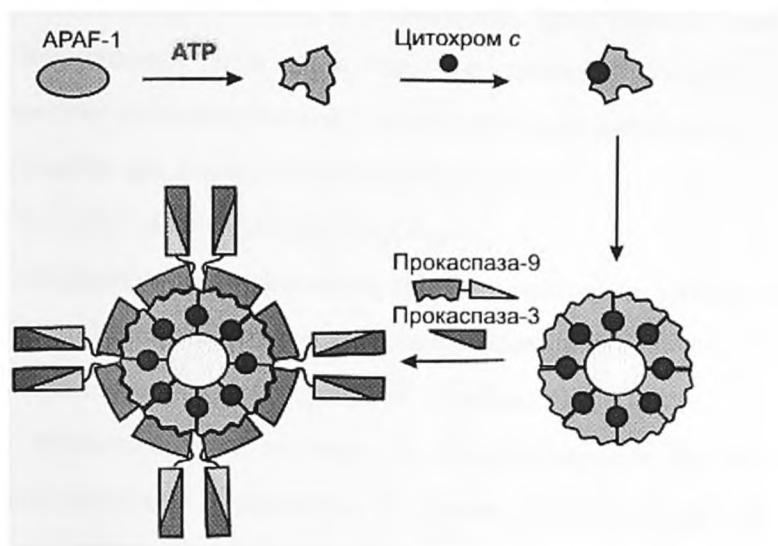


Рис. 1. Модель образования апоптосомы и активации прокаспазы-9

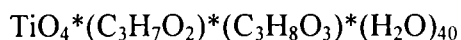
Зрелая каспаза – 9 активирует каспазу второго эшелона (эффекторную каспазу): путем протеолиза из прокаспазы – 3 образуется каспаза –3, после чего процесс, запущенный программой смерти, оказывается необратимым.

Поиск цитопротекторов, обладающих антиапоптогенным действием, целесообразно искать среди препаратов, способных препятствовать образованию эффекторных каспаз и здесь перспективным является изучение антиапоптогенного действия цитопротектора тизоль. Поскольку этот цитопротектор содержит в своей химической структуре микроэлемент титан, способный образовывать те же координационные связи, что и содержащийся в цитохроме с микроэлемент железо.

1.4. Фармакологические свойства цитопротектора тизоль.

Тизоль - аквакомплекс глицеросольвата титана является органическим титансодержащим соединением. Атом титана, химически связанный с молекулами глицерина, является комплексообразующим центром для составляющих молекулу препарата фрагментов: глицерина и воды. На сегодняшний день доказано, что препарат обладает радиопротекторным, противовоспалительным, противоотечным действием.

Химическая формула препарата тизоль:



Содержание микроэлемента титана в препарате тизоль составляет 2 %.

Титан как биохимический микроэлемент.

Титан был открыт Gregor R.W. (England, 1791).

В периодической системе Д. И. Менделеева химический элемент титан расположен в 4 периоде, 4 группе, побочной подгруппе, относится к d-элементам, переходным металлам.

Ядро атома титана содержит 22 протона и 26 нейтронов, вокруг ядра расположено 22 электрона, причем электронная формула имеет следующий вид: $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 3d^2 4s^2$

Валентными орбиталями являются орбитали внешней электронной оболочки, находящиеся в самом нестабильном энергетическом состоянии (максимальная валентность титана равна 9, то есть числу валентных орбиталей 4s-, 4p- и 3d- подуровней, причем 4 связи могут образовываться по обменному, а 5- по донорно-акцепторному механизму).

Степень окисления титана определяется его возможностью принимать или отдавать электроны на/с валентных орбиталей (максимальная степень окисления + 4).

Исследования различных авторов свидетельствуют о наличии титана в органах и тканях людей - приблизительно 10 мг/ кг золы, поступление

составляет 0,8 мг/сут. Значительное количество титана в органах и тканях животных и, особенно растительных организмах, свидетельствует о том, что титан принимает активное участие в их жизнедеятельности, что объясняется его переменной валентностью и способностью к комплексообразованию с органическими соединениями в виде хелатов. В целом, необходимо отметить, что данные об абсолютной необходимости титана для жизнедеятельности человека и животных отсутствуют.

Однако некоторые исследователи говорят о предполагаемой роли титана *in vivo*:

1. участие в регенерации эпителиальных тканей.
2. участие в регенерации костной ткани.
3. стимуляции гемопоэза.

Биологическая доступность и фармакокинетика препарата тизоль при внутрибрюшинном введении белым лабораторным крысам.

При внутрибрюшинном введении максимальная концентрация тизоля (оценка по содержанию титана) в крови наблюдалась через 4 часа. Через 24 часа в организме определялось около 48% тизоля, причем он депонировался в следующих органах: желудок, тонкий кишечник, легкие, печень, почки, костный мозг.

Во всех группах животных в моче титан не был обнаружен. Выводится из крови с желчью, через слизистые оболочки дыхательных путей и пищеварительного тракта.

Через 2 недели содержание титана в крови, желудке, тонком кишечнике, легких, печени, почках, костном мозге приближается к контрольным цифрам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

Таким образом, данные, приведенные в обзоре литературы, свидетельствуют, что в восстановлении клеточной популяции после воздействия повреждающего фактора (ионизирующее излучение) важную роль играет не

только уровень пролиферативной активности, но и выраженность апоптоза. При этом терапевтические действия направлены либо на проведение заместительной терапии, либо на стимуляцию репарации повреждений вызванных воздействием ионизирующего излучения.

Не изучена возможность использования цитопротекторов, обладающих антиапоптогенным действием с целью увеличения скорости клеточного обновления. Поиск подобных цитопротекторов представляется перспективным, поскольку у клеток появляется «дополнительное время» на репарацию повреждений.

Также не изучено действие комбинированного введения цитопротектора обладающего антиапоптогенным действием и препаратом вызывающим репарацию повреждений.

Выше изложенное послужило основанием для определения цели и основных задач нашего исследования:

Цель. Поиск цитопротекторов, оказывающих терапевтическое действие на апоптоз после воздействия ионизирующего излучения.

Задачи.

1. Оценить состояние кроветворной ткани после воздействия ионизирующего излучения
2. Оценить состояние системы крипта – ворсина в тонком кишечнике после воздействия ионизирующего излучения
3. Исследовать терапевтическое действие цитопротектора тизоль на радиочувствительные ткани.
4. Изучить действие комплексной терапии тизолем и деринатом на радиочувствительные ткани.

ГЛАВА 2.

МЕТОДИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

2.1. Общая характеристика лабораторных животных использованных в исследованиях.

Эксперименты выполнены на 234 белых лабораторных крысах-самцах (возраста 6-8 месяцев, массой 200-220 г). Животные содержались в стандартных условиях лабораторного вивария при естественном освещении и сбалансированном рационе. Изучалось воздействие ионизирующего излучения дозами 0,5 и 3 Гр. Тотальное облучение крыс осуществлялось однократно γ - излучением. В качестве источника γ - квантов был использован ^{60}Co . Контрольную группу составили животные, не подвергшиеся облучению. В каждой группе насчитывалось 72 крысы. Внутри группы было выделено 4 подгруппы по 18 животных в каждой в зависимости от используемого препарата.

В эксперименте, проведенном на 1 сутки после облучения дозой ИИ 3 Гр, с целью изучения апоптоза после введения различных доз цитопротектора тизоль, дополнительно было задействовано 18 подопытных крыс.

2.2. Дозы и способы введения препаратов.

Крысам парентерально вводились препараты:

- Животным первой подгруппы вводился цитопротектор тизоль (50% водный раствор аквакомплекса глицеросольвата титана) внутривенно 2,5 г/кг;
- Животным второй подгруппы вводился деринат (1,5% водный раствор дезоксирибонуклеата натрия) внутримышечно 7 мкг/кг;
- Животным третьей подгруппы вводились вышеуказанные цитопротекторы в половинных дозах тизоль внутривенно 1,25 г/кг и деринат внутримышечно 3,5мкг/кг совместно.

- Четвертая подгруппа крыс являлась контролем в каждой из групп, животным вводили физиологический раствор - 1мл внутривенно.

Соответствующие препараты вводились через 1 час после облучения. Крысам, аутопсия участка тонкой кишки (тощая кишка) и костного мозга у которых осуществлялась через 24 часа после облучения, препараты вводились однократно. Крысам, аутопсия участка тонкой кишки (тощая кишка) и костного мозга у которых осуществлялась на 7 сутки после облучения, препараты вводились ежедневно в течение 5 суток в указанных выше дозах.

Таблица 2.2.1.

Распределение животных по сериям экспериментов

Доза ИИ	Препарат	Путь введения	Доза препарата	Время проведения аутопсии органов	
				24 часа	7 сутки
0 Гр	Тизоль	в/бр.	2,5 г/кг	9	9
	Деринат	в/м.	7 мкг/кг	9	9
	Тизоль и Деринат	в/бр и в/м.	2,5 г/кг и 7 мкг/кг	9	9
	Контроль	в/бр.	1 мл	9	9
0,5 Гр	Тизоль	в/бр.	2,5 г/кг	9	9
	Деринат	в/м.	7 мкг/кг	9	9
	Тизоль и Деринат	в/бр. и в/м.	2,5 г/кг и 7 мкг/кг	9	9
	Контроль	в/бр.	1 мл	9	9
3 Гр	Тизоль	в/бр.	2,5 г/кг	9	9
	Деринат	в/м.	7 мкг/кг	9	9
	Тизоль и Деринат	в/бр. и в/м.	2,5 г/кг и 7 мкг/кг	9	9
	Контроль	в/бр.	1 мл	9	9

С целью получения более полной информации об активности апоптоза и изучения на предмет антиапоптогенного действия различных доз цитопротектора тизоль были проведены дополнительные исследования.

В этом случае внутрибрюшинно вводилось 0,8 мл 25 % водного раствора аквакомплекса глицеросольвата титана (1,0 г/кг) и 0,4 мл 5 % водного раствора аквакомплекса глицеросольвата титана (0,1 г/кг);

Таблица 2.2.2.

Распределение животных осуществилось следующим образом:

Доза ИИ	Препарат	Путь введения	Доза препарата	Количество животных, шт.
3 Гр	Тизоль – 1	Внутрибрюшинно	2,5 г/кг	9
	Тизоль – 2	Внутрибрюшинно	1, 0 г/кг	9
	Тизоль – 3	Внутрибрюшинно	0,1 г/кг	9
	Деринат	Внутримышечно	7 мкг/кг	9
	Тизоль - 1 и Деринат	Внутрибрюшинно и внутримышечно (соответственно)	2,5 г/кг и 7 мкг/кг	9
	Контроль(физ. р-р)	Внутрибрюшинно	1 мл	9

2.3. Облучение лабораторных животных на гамма-терапевтической установке.

Для организации заданной дозы ионизирующего излучения (ИИ) в организме подопытных животных используются различные экспериментальные установки, например, как ИГУР –1 с источником на основе Cs-137. Для создания равномерно распределенной дозы по объему применяется одновременное облучение четырьмя источниками, расположенными по углам четырехугольника.

Поставленная задача по облучению лабораторных животных в заданной дозе могла быть решена с помощью других источников ионизирующего излучения. Для создания необходимой дозы и выполнения условий

равномерности распределения дозы подходят гамма - терапевтические установки, используемые в медицинской радиологии.

В данном эксперименте облучение животных проводилось на гамма – терапевтическая установка типа АГАТ – С с радионуклидным источником ^{60}Co – 60 типа ГИК –8 – 4.

Радионуклид ^{60}Co на основе, которого изготовлен источник ионизирующего излучения имеет следующие радиационно – физические характеристики:

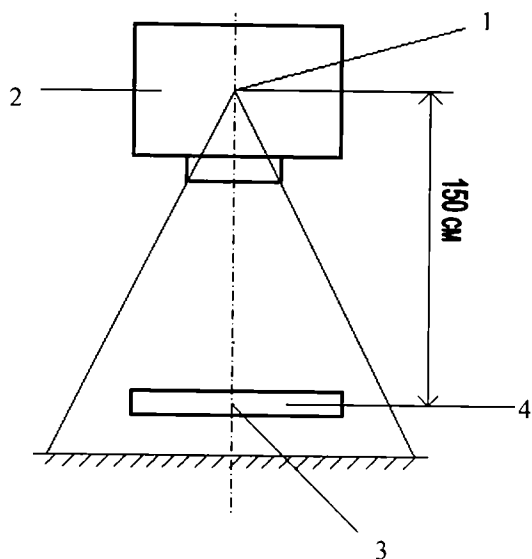
- период полураспада $T_{1/2} = 5,2709$ года
- энергия гамма квантов: $E_{\gamma_1} = 1,25\text{МэВ}$ (100 %).

Установка АГАТ – С имеет возможность формировать радиационные поля различной площади за счет двух пар ортогональных диафрагм из тяжелого металла. Размер радиационного поля облучения будет зависеть от расстояния источник – объект облучения, так как пучок ионизирующего излучения имеет угол расхождения. Вследствие этого, можно сформировать относительно большие поля облучения на расстоянии от источника больше, чем опорное.

Схема эксперимента и расчет поглощенных доз.

В настоящем эксперименте крысы располагались в фиксирующем их передвижение «домике» с высотой в крысу стоящую на четырех лапах. Облучение животных производилось по отдельности.

Соответствующая схема эксперимента приведена на рис 1.



- 1.Источник
- 2.Радиационная головка
- 3.Детектор
- 4.Экспериментальное животное

Рис. 1 Схема облучения подопытных крыс на гамма – терапевтическая установке типа АГАТ – С.

Расчет поглощенной дозы в месте расположения животного проводился на основании проведенной дозиметрии с помощью клинического дозиметра UNIDOS и ионизационной камеры (детектор) типа Farmer, стандартно применяемых в медицинской радиологии. Ионизационная камера располагалась на уровне $\frac{1}{2}$ высоты крысы, с камеры информация считывается на дозиметр UNIDOS, сеанс облучения останавливался при наборе необходимой дозы. В данном случае используется величина поглощенной дозы в воде, измеренная в середине объема крысы. Величина поглощенной дозы в воде (так калибрована ионизационная камера типа Farmer) отражает величину поглощенной дозы в любых биологических объектах.

Например: 29.08.2005г. измеренная мощность поглощенной дозы в опорной точке (место расположения детектора) составила 2,5 мГр/сек., следовательно, для получения заданной дозы на крысу в 3 Гр необходимо выдерживать в открытом радиационном поле в течение 1200 секунд.

Расстояние источник – крыса было выбрано достаточно большим (150 см). Это расстояние определялось для создания меньшего градиента поглощенной дозы в месте расположения крысы. Так как облучение производилось с одного прямо падающего поля облучения, то в связи с законом ослабления излучения с расстоянием (интенсивность излучения обратно пропорциональна квадрату расстояния от источника излучения $I \sim 1/R^2$) и рассеянием в тканях крысы с глубиной, ожидаемо, что на верхней части крысы (спинка) и на нижней части (брюшко) поглощенные дозы будут отличаться. Учитывая большое расстояние источник – крыса и небольшую длину животного оцененная разность «верхней» и «нижней» поглощенной дозы составляет менее 1%.

Также существует погрешность измерительной аппаратуры – она составляет примерно 3 %.

2.4. Методы исследования кроветворной ткани

2.4.1. Морфологическое исследование крови и костного мозга.

Кровь для исследования брали у крыс из хвостовой вены.

Подсчет количества лейкоцитов проводили в счетной камере Горяева (Кост Е.А. 1968).

При определении числа ретикулоцитов их подсчитывали в окрашенных бриллиант – крезил – блау мазках крови на 2000 эритроцитов.

Мазки периферической крови окрашивали по Романовскому. Подсчет лейкоцитарной формулы проводили на 200 клеток.

Для исследования морфологии костного мозга его извлекали из бедренной кости. Мазки костного мозга окрашивали по Нохту (Кост Е.А., 1968). Подсчет миелограммы производили на 500 клеток.

Определяли общее количество миелокариоцитов в костном мозге бедренной кости (Груздев Г. П., 1965). Для этого костный мозг бедренной кости с помощью резинового баллона выдували на часовое стекло, где его осторожно растирали стеклянной палочкой и быстро насасывали в смеситель для эритроцитов до метки «0,5», а затем до отметки «101» набирали 3 % раствор уксусной кислоты. После этого поступали так же, как при подсчете лейкоцитов крови.

Оценка апоптоза и пролиферативной активности элементов гранулоцитарного и эритроидного ростков производилась в цитологических мазках костного мозга при окраске гематоксилин – эозином.

- *Прролиферативную активность* эритроидного и гранулоцитарного ростков оценивали с помощью определения митотического индекса (МИ) соответствующих дифферонов. Подсчитывали элементы с четырьмя морфологически выделяемыми стадиями митоза встречаемых на 1000 клеток, полученный результат выражали в процентах.

Количество митотически делящихся элементов изучаемого
ростка

$$\text{МИ} = \frac{\text{-----}}{1000 \text{ подсчитанных клеток костного мозга}} * 100\%$$

- Оценивали выраженность апоптоза эритроидного и гранулоцитарного ростков с помощью определения апоптотического индекса (АИ). Подсчитывали элементы изучаемого ростка с морфологически выявляемой картиной апоптоза встречаемых на 1000 клеток, полученный результат выражали в процентах.

- Производили подсчет патологических митозов эритроидного и гранулоцитарного ростков, после чего, выражали их в процентном отношении к количеству нормальных митозов.

Количество элементов в состоянии апоптоза изучаемого
ростка

$$AI = \frac{\text{-----}}{1000 \text{ подсчитанных клеток костного мозга}} * 100\%$$

2.4.2. Приготовление, окраска, микроскопия и подсчет микроядер в ретикулоцитах костного мозга крыс.

1.Забой животных осуществляли методом цервикальной дислокации, после чего извлекали бедренная кость.

2.Кожа над коленом задней конечности была собрана в складку, после чего производился надрез ножницами. Стянутую под коленом кожа и мышечная масса протыкали вблизи сустава одной браншей ножниц и, в дальнейшем разрезали их. Задние конечности были отделены от тела вместе с частью тазовых костей. Растягивая коленный сустав и осторожно вывертывая его, производилось вычленение дистальной части бедренной кости из коленного сустава. Скальпелем производилось удаление мягких тканей бедра. Вывертывая из вертлужной впадины тазобедренного сустава проксимальный конец осуществлялось окончательное отделение бедренной кости. Марлевой салфеткой удалялись остатки мягких тканей, сгустки крови. 3.На обезжиренное оптическое стеклышко наносилась сыворотки АВ₀ (IV) группы крови человека.

4.Срезая эпифизы бедренной кости производили открытие костно-мозгового канала. На проксимальный конец бедренной кости натягивали резиновую трубочку (длина 15 см), другой конец которой сообщался с резиновой грушей. Резкое сжатие груши приводило к выбросу костного мозга из костно-мозгового канала на оптическое стеклышко.

5. Далее стеклянной палочкой, круговыми движениями готовили суспензию клеток костного мозга, она должна быть определенной плотности - иметь беловатую опалесцирующую окраску.

6. После приготовления, каплю этой суспензии наносили на край обезжиренного предметного стекла. Распределение материала по стеклу осуществляли перемещением позади шлифованного стекла под углом 45° . Оптимальная длина мазка 2-3 см.

7. Мазок высушивался на воздухе в течение суток.

8. Окрашивание мазков по Паппенгейму (производилось на следующий день).

* Фиксация в метаноле 1 минуту.

* Краситель Май-Грюнвальд (спиртовой раствор): смешивался с фосфатным буфером 1:1. Время покраски 1,5 минут.

* После того, как краску слили, без промывания, залили раствором красителя Романовского-Гимзы. Время покраски 10 минут.

* Раствор Романовского-Гимзы готовили на водопроводной воде 1:6 (10 мл Романовского + 60 мл воды). Краску готовили непосредственно перед окрашиванием.

* Затем промывание в гистологических стаканчиках под струей воды (струя не на стекла!).

Приготовление фосфатного буфера: для получения фосфатного буфера в один (1) литр дистиллированной воды добавляют 2,85 мл раствора А и 2,15 мл раствора Б.

Раствор А - KH_2PO_4 - 9,07 г/л

Раствор Б – $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$

Обезжиривание стекол.

зачем это?

1. Стекла моют губкой с порошком под проточной водой.
2. Вымачивают в хромовом растворе сутки.
3. Достают пинцетом и укладывают в глубокий эксикатор.
4. Промывают в проточной воде в течение 20-40 минут.

5. Промывают дистиллированной водой.
6. Высушивают на воздухе между листами фильтровальной бумаги или в сушильном шкафу.
7. Хранят в растворе эфира и спирта (смесь Никифорова).

Приготовление смеси Никифорова. ?

Смесь представляет собой смесь спирта и эфира в пропорции 1:1. Сначала в емкость выливают спирт, а за тем добавляют эфир. Приготовление идет под вытяжкой. Емкость для смеси предварительно моют по всем правилам приготовления посуды. Оптимальный объем смеси составляет 1 см³ на 1 стекло (с учетом испарения).

8. Микроскопия осуществлялась в проходящем свете под объективом с масляной иммерсией с матовым фильтром. Анализировались отдельно лежащие ретикулоциты и ретикулоциты с микроядрами.

Показателем качества мазка является отсутствие поврежденных ядерных клеток. Эритроциты хорошо расправлены. Зрелые эритроциты оранжево-красные, ретикулоциты серовато-голубые.

Микроядра - в абсолютном большинстве случаев округлой формы, реже овальной или кольцевой. Расположены центрально или эксцентрично; представляют собой гомогенно окрашенные в красно-фиолетовый цвет - хроматиновые тельца. Не преломляют свет, размером не более $\frac{1}{4}$ диаметра эритроцита. В одной клетке крайне редко встречаются два и более микроядер.

Микроядра следует дифференцировать от следующих артефактов:

- * Гранулы дегранулировавшей тучной клетки;
- * Кокковые бактерии;
- * Пылевые частицы;
- * Сгустки красителя;

Образование микроядер (МЯ) происходит на стадии созревания оксифильного нормобласта в ретикулоцит. Созревание оксифильного нормобласта представляет собой особую форму апоптоза. При этом ядро

становится пикнотичным и выталкивается, а отставшие фрагменты хроматина формируют микроядра.

Число ретикулоцитов с микроядрами

$$\text{МЯТ} = \frac{\text{Число ретикулоцитов с микроядрами}}{1000 \text{ ретикулоцитов}} * 100\%$$

2.5. Методы оценки регенераторных процессов в слизистой оболочке тощей кишки.

Для изучения обзорной гистологической картины и морфометрического анализа во всех сериях экспериментов для исследования производилась аутопсия тощей кишки.

Операция производилась под эфирным наркозом. По средней линии живота делался разрез длиной 4 – 5 см, извлекались петли тонкой кишки. Резекции подвергалась верхняя треть тощей кишки.

Учитывая наличие суточных ритмов животные забивались путем декапитации в одно и то же время суток (9 – 10 часов утра). Операции проводились в первой половине дня.

Материал фиксировали в 10 % нейтральном формалине. Заливку проводили в парафин и готовили срезы с соблюдением строгой ориентации ворсин и крипт толщиной 5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином и по Ван – Гизону.

- Оценивали *пролиферативную активность* кишечного эпителия с помощью определения митотического индекса (МИ) на гистологических срезах продольной ориентации. Подсчитывали эпителиоциты с четырьмя морфологически выделяемыми стадиями митоза встречаемых на 3000 – 3500 клеток, полученный результат выражали в процентах.

Количество митотически делящихся эпителиоцитов

7
1

$$\text{МИ} = \frac{\text{3000 – 3500 подсчитанных эпителиоцитов крипт}}{\text{3000 – 3500 подсчитанных эпителиоцитов}} \cdot 100\%$$

3000 – 3500 подсчитанных эпителиоцитов крипт

• Оценивали уровень запрограммированной гибели эпителиоцитов с помощью определения апоптотического индекса (АИ) на гистологических срезах продольной ориентации. Подсчитывали эпителиоциты с морфологически выявляемой картиной апоптоза встречаемых на 3000 - 3500 клеток, полученный результат выражали в процентах.

Количество эпителиоцитов в состоянии апоптоза

$$\text{АИ} = \frac{\text{3000 – 3500 подсчитанных эпителиоцитов}}{\text{3000 – 3500 подсчитанных эпителиоцитов}} \cdot 100\%$$

3000 – 3500 подсчитанных эпителиоцитов

• Среднюю клеточность в одной крипте определяли, как отношение общего числа подсчитанных криптальных клеток к количеству анализированных крипт, выраженное в процентах.

• Производили подсчет патологических митозов в крипте, после чего, выражали их в процентном отношении к количеству нормальных митозов.

Морфологическая верификация и количественная оценка апоптоза осуществлялась:

1. при рутинно свето – микроскопическом исследовании с использованием обычных методов фиксации и окрашивания (гематоксилином и эозином).
2. при флуоресцентной микроскопии с использованием двух флуорохромов: акридин оранжевым (производство Финляндия) и Annexin V – FITC fluorescence microscopy (производство Бельгия).

Состав набора Аннексин V – FITC для флуоресцентной микроскопии.

Реагент Аннексин V – FITC 5 мл.

(реагент разведен в буфере 50 мМ Tris (pH 8.0) с 80 мМ NaCl, 0,2 % BSA

Первоначально окраска гистологических срезов тощей кишки осуществлялась акридин оранжевым. Для этого гистологический препарат:

- А) Погружали в 1 % раствор акридина оранжевого на фосфатном буфере рН 6,0 на 3 минуты.
- Б) Промывали в фосфатном буфере рН 6,0 1 минуту.
- В) Погружали в 0,1 М раствор хлорида кальция на 40 с – 2 минуты.
- Г) Промывали препарат дважды в 1 x PBS (10 мл на промывку одного стекла).
- Д) Промывали препарат один раз в 1 x Annexin V связывающем буфере (8 мл на промывку одного стекла).
- Е) После разведения реагента Annexin V – FITC в 1 x Annexin V связывающем буфере в пропорции 1: 10 наносили на каждый препарат по 2 мл раствора. Инкубировали в темноте при комнатной температуре (20⁰С) в течение 15 минут.
- Ж) Промывали препарат 1 x Annexin V связывающим буфером.
- З) Наносили на препарат каплю 1 x Annexin V связывающего буфера (чтобы избежать высыхания) и анализировали с помощью флуоресцентного микроскопа.
- С целью количественной оценки *интенсивности процессов регенерации* рассчитывали индекс клеточного обновления (ИКО), равный отношению митотического индекса к апоптотическому.

Митотический индекс

ИКО = -----

Апоптотический индекс

2.6. Методы статистической обработки полученных результатов.

Для каждого ряда значений показателя вычисляли среднюю арифметическую, стандартную ошибку среднего. Достоверность отличий между подгруппами оценивали с помощью t – критерия Стьюдента. Различия считались достоверными при $P < 0,05$.

Сравнение изучаемых показателей лабораторных животных, которым вводились цитопротекторы, проводилось с контролем и контрольной подгруппой. *Контроль* – подгруппа лабораторных животных, не подвергшихся воздействию ИИ, которым вводился физиологический раствор. *Контрольная подгруппа* – подгруппа лабораторных животных подвергшихся воздействию ИИ в той же дозе, что и анализируемая опытная подгруппа. Животным контрольной подгруппы вводился физиологический раствор.

ГЛАВА 3. Комплексная оценка состояния гемопоэтической ткани после воздействия ионизирующего излучения, а также на фоне введения препаратов.

Комплексная оценка состояния гемопоэтической ткани при воздействии ионизирующего излучения, а также при введении препаратов основывалась на определении активности эритропоэза и гранулоцитопоэза, оценке уровня мутационного процесса, определении скорости клеточного обновления.

4.1. Состояние костного мозга на 1 сутки у лабораторных животных, не подвергшихся радиационной нагрузке на фоне введения препаратов.

Таблица 3.1.1.

Показатели регенераторной и мутагенной активности гемопоэтических клеток костного мозга интактных лабораторных животных на 1 сутки, $M \pm m$, $n = 8$

Параметры	Значения
Митотический индекс эритроидного дифферона, ‰	$5,93 \pm 1,43$
Митотический индекс гранулоцитарного дифферона, ‰	$1,55 \pm 0,69$
Апоптотический индекс эритроидного дифферона, ‰	$2,42 \pm 0,65$
Апоптотический индекс гранулоцитарного дифферона, ‰	$2,70 \pm 0,51$
Индекс клеточного обновления эритроидного дифферона	$2,68 \pm 1,12$
Индекс клеточного обновления гранулоцитарного дифферона	$0,55 \pm 0,25$
Микроядерный тест, % 	$5,00 \pm 1,12$
Патологические митозы эритроидного дифферона, %	$3,82 \pm 0,81$
Патологические митозы гранулоцитарного дифферона, %	$3,54 \pm 0,49$

Таблица 3.1.2.

Показатели миелограммы лабораторных животных на 1 сутки, $M \pm m$, $n = 8$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток в %
Нейтрофильные клетки	миелобласты	$1,03 \pm 0,25$
	промиелоциты	$2,92 \pm 0,55$
	миелоциты	$11,48 \pm 1,77$
	метамиелоциты	$13,05 \pm 1,83$
	палочкоядерные и сегментоядерные	$34,16 \pm 2,60$
Эозинофилы (всех генераций)		$3,87 \pm 1,18$
Все гранулоцитарные элементы		$65,85 \pm 3,67$
Эритробласты		$0,98 \pm 0,24$
Нормобласты	базофильные	$4,07 \pm 0,92$
	полихроматофильные	$13,13 \pm 2,02$
	оксифильные	$4,07 \pm 1,40$
Все эритроидные элементы		$21,92 \pm 2,65$
Лимфоциты		$8,66 \pm 1,01$
Прочие		$3,02 \pm 1,73$
Индекс созревания нейтрофилов		$0,84 \pm 0,09$
Индекс созревания эритронормобластов		$0,79 \pm 0,06$
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		$3,09 \pm 0,49$

Таблица 3.1.3.

Показатели периферической крови лабораторных животных на 1 сутки, $M \pm m$, $n = 8$

<u>Ретикулоциты, ‰</u>	Гранулоциты, %	Лимфоциты, %
$3,58 \pm 0,47$	$26,14 \pm 1,13$	$64,37 \pm 1,05$

- В подгруппе лабораторных животных, которым вводился цитопротектор тизоль:

При подсчете числа митозов в клетках эритроидного дифферона, подсчете числа митозов в клетках гранулоцитарного дифферона не установлено значимого влияния на пролиферативную активность.

При подсчете клеток в состоянии апоптоза эритроидного и гранулоцитарного ростков, отмечено, что данный препарат не изменяет СУА.

Как следствие отсутствия изменений в митотической активности, уровне апоптоза в изучаемых ростках, скорость клеточного обновления достоверно не отличалась от контроля.

При подсчете микроядер в ретикулоцитах не выявлено мутагенного действия у препарата тизоль, так как количество микроядер соответствовало СУМ.

При подсчете числа патологических митозов в эритроидном и гранулоцитарном ростках, не отмечено значимого изменения их количества относительно нормы.

Таблица 3.1.4.

Показатели регенераторной и мутагенной активности гемопоэтических клеток костного мозга у лабораторных животных на 1 сутки после введения цитопротектора тизоль, $M \pm m$, $n = 8$

Параметры	Значения
Митотический индекс эритроидного дифферона, ‰	$5,38 \pm 2,19$
Митотический индекс гранулоцитарного дифферона, ‰	$4,84 \pm 0,42$
Апоптотический индекс эритроидного дифферона, ‰	$2,66 \pm 0,44$
Апоптотический индекс гранулоцитарного дифферона, ‰	$2,46 \pm 0,26$
Индекс клеточного обновления эритроидного дифферона	$2,22 \pm 1,19$
Индекс клеточного обновления гранулоцитарного дифферона	$1,99 \pm 0,29$
Микроядерный тест, %	$3,83 \pm 0,51$

Патологические митозы эритроидного дифферона, %	$4,71 \pm 0,77$
Патологические митозы гранулоцитарного дифферона, %	$3,38 \pm 0,61$

При подсчете миелограммы выявлено: активность эритропоэза и гранулоцитопоэза статистически не отличалась от контроля. Индексы, характеризующие процессы созревания эритронормобластов и гранулоцитов, соответствовали контрольным значениям.

Таблица 3.1.5.

Показатели миелограммы лабораторных животных на 1 сутки после введения цитопротектора тизоль, $M \pm m$, $n = 8$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток в %
Нейтрофильные клетки	миелобласты	$1,31 \pm 0,24$
	промиелоциты	$2,71 \pm 0,32$
	миелоциты	$12,11 \pm 2,97$
	метамиелоциты	$12,60 \pm 1,65$
	палочкоядерные и сегментоядерные	$34,66 \pm 3,41$
Эозинофилы (всех генераций)		$2,91 \pm 0,74$
Все гранулоцитарные элементы		$66,31 \pm 5,64$
Эритробласты		$0,57 \pm 0,14$
Нормобласты	базофильные	$3,14 \pm 0,85$
	полихроматофильные	$17,80 \pm 3,30$
	оксифильные	$5,14 \pm 1,29$
Все эритроидные элементы		$26,64 \pm 3,90$
Лимфоциты		$7,64 \pm 1,02$
Прочие		$1,04 \pm 0,28$
Индекс созревания нейтрофилов		$0,84 \pm 0,11$
Индекс созревания эритронормобластов		$0,86 \pm 0,04$
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		$2,57 \pm 0,40$

При подсчете ретикулоцитов ПК, подсчете лейкоцитарной формулы, установлено содержание клеток соответствующее значениям нормы.

Таблица 3.1.6.

Показатели периферической крови лабораторных животных на 1 сутки после введения цитопротектора тизоль, $M \pm m$, $n = 8$

<i>Ретикулоциты, %</i>	<i>Гранулоциты, %</i>	<i>Лимфоциты, %</i>
3,50 ± 0,54	25,28 ± 1,04	65,75 ± 1,10

• ***В подгруппе лабораторных животных, которым вводился препарат деринат:***

При подсчете числа митозов в клетках эритроидного дифферона, установлено увеличение митотической активности (МИ $7,17 \pm 0,81$, $P < 0,05$).

При подсчете числа митозов в клетках гранулоцитарного дифферона, не выявлено стимулирующего действия на пролиферативную активность.

При подсчете клеток в состоянии апоптоза эритроидного дифферона, а также при подсчете клеток в состоянии апоптоза гранулоцитарного дифферонов, отмечено, что данный препарат не изменяет СУА.

Анализ интенсивности регенерации в эритроидном и гранулоцитарном диффероне показал, что, скорость клеточного обновления соответствовала значениям нормы.

При подсчете микроядер в ретикулоцитах, не выявлено мутагенного действия у препарата деринат, так как количество микроядер соответствовало СУМ.

При подсчете числа патологических митозов в эритроидном и гранулоцитарном ростках, не отмечено значимого изменения их количества относительно нормы.

Таблица 3.1.7.

Показатели регенераторной и мутагенной активности гемопоэтических клеток костного мозга лабораторных животных на 1 сутки после введения препарата деринат, $M \pm m$, $n = 8$

Параметры	Значения
Митотический индекс эритроидного дифферона	$7,17 \pm 0,81^*$

Митотический индекс гранулоцитарного дифферона	$4,31 \pm 0,77$
Апоптотический индекс эритроидного дифферона	$2,32 \pm 0,49$
Апоптотический индекс гранулоцитарного дифферона	$2,31 \pm 0,32$
Индекс клеточного обновления эритроидного дифферона	$3,22 \pm 0,81$
Индекс клеточного обновления гранулоцитарного дифферона	$1,92 \pm 0,39$
Микроядерный тест	$5,75 \pm 0,48$
Патологические митозы эритроидного дифферона, %	$4,52 \pm 0,58$
Патологические митозы гранулоцитарного дифферона, %	$2,88 \pm 0,55$

Примечание; * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$;

При подсчете миелограммы выявлено: отсутствие изменений в активности эритропоэза и гранулоцитопоэза по сравнению с контролем. Показатели, характеризующие процессы гемоглобинизации элементов красного ростка, созревание гранулоцитов соответствовали контрольным значениям.

Таблица 3.1.8.

Показатели миелограммы лабораторных животных на 1 сутки после введения препарата деринат, $M \pm m$, $n = 8$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток в %
Нейтрофильные клетки	миелобласты	$1,37 \pm 0,17$
	промиелоциты	$2,56 \pm 0,31$
	миелоциты	$10,52 \pm 1,84$
	метамиелоциты	$13,02 \pm 1,33$
	палочкоядерные и сегментоядерные	$35,27 \pm 3,44$
Эозинофилы (всех генераций)		$2,85 \pm 0,92$
Все гранулоцитарные элементы		$64,15 \pm 3,73$

Эритробласты		0,54 ± 0,15
Нормобласты	базофильные	4,30 ± 0,84
	полихроматофильные	19,02 ± 3,26
	оксифильные	3,67 ± 1,04
Все эритроидные элементы		27,53 ± 3,63
Лимфоциты		8,45 ± 1,30
Прочие		2,12 ± 0,43
Индекс созреваия нейтрофилов		0,76 ± 0,12
Индекс созреваия эритронормобластов		0,82 ± 0,03
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		2,40 ± 0,35

При подсчете ретикулоцитов ПК, подсчете лейкоцитарной формулы, установлено содержание клеток соответствующее значениям нормы.

Таблица 3.1.9.

Показатели периферической крови лабораторных животных на 1 сутки после введения препарата тизоль, $M \pm m$, $n = 8$

Ретикулоциты, %	Гранулоциты, %	Лимфоциты, %
3,80 ± 0,67	26,50 ± 1,11	64,04 ± 1,46

• В подгруппе лабораторных животных, которым проводилось комбинированное введение тизоля и дерината:

При подсчете числа митозов в клетках эритроидного и гранулоцитарного дифферонов не обнаружено значимых изменений митотического индекса.

При подсчете клеток в состоянии апоптоза эритроидного дифферона, а также при подсчете клеток в состоянии апоптоза гранулоцитарного дифферона отмечено отсутствие достоверного изменения уровня апоптоза относительно СУА.

При анализе интенсивности регенерации в эритроидном и гранулоцитарном диффероне, выявлено отсутствие статистически значимого изменения скорости клеточного обновления.

При подсчете микроядер в ретикулоцитах, не обнаружено мутагенного действия после комплексного использования препаратов, уровень микроядер соответствовал СУМ.

При подсчете числа патологических митозов в эритроидном и гранулоцитарном ростках, не установлено статистически значимого нарушения нормального течения митоза в указанных дифферонах.

Таблица 3.1.10.

Показатели регенераторной и мутагенной активности гемопоэтических клеток костного мозга лабораторных животных на 1 сутки после комбинированного введения тизоля и дерината, $M \pm m$, $n = 8$

Параметры	Значения
Митотический индекс эритроидного дифферона	$4,39 \pm 0,61$
Митотический индекс гранулоцитарного дифферона	$4,75 \pm 0,64$
Апоптотический индекс эритроидного дифферона	$2,61 \pm 0,65$
Апоптотический индекс гранулоцитарного дифферона	$2,64 \pm 0,22$
Индекс клеточного обновления эритроидного дифферона	$1,98 \pm 0,75$
Индекс клеточного обновления гранулоцитарного дифферона	$1,82 \pm 0,31$
Микроядерный тест	$5,57 \pm 0,75$
Патологические митозы эритроидного дифферона, %	$5,86 \pm 0,51$
Патологические митозы гранулоцитарного дифферона, %	$3,09 \pm 0,40$

При подсчете миелограммы выявлено: отсутствие изменений в активности эритропоэза и гранулоцитопоэза по сравнению с контролем, а также, не

установлено нарушений в процессах созревания элементов красного и белого ростков.

Таблица 3.1.11.

Показатели миелограммы лабораторных животных на 1 сутки после комбинированного введения тизоля и дерината, $M \pm m$, $n = 8$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток в %
Нейтрофильные клетки	миелобласты	$1,15 \pm 0,40$
	промиелоциты	$2,20 \pm 0,70$
	миелоциты	$10,99 \pm 2,03$
	метамиелоциты	$10,8 \pm 2,08$
	палочкоядерные и сегментоядерные	$34,75 \pm 3,56$
Эозинофилы (всех генераций)		$4,24 \pm 0,61$
Все гранулоцитарные элементы		$64,13 \pm 5,63$
Эритробласты		$0,74 \pm 0,28$
Нормобласты	базофильные	$4,20 \pm 0,78$
	полихроматофильные	$12,51 \pm 2,99$
	оксифильные	$4,56 \pm 0,96$
Все эритроидные элементы		$22,02 \pm 3,14$
Лимфоциты		$7,31 \pm 1,52$
Прочие		$1,06 \pm 0,17$
Индекс созревания нейтрофилов		$0,73 \pm 0,13$
Индекс созревания эритронормобластов		$0,76 \pm 0,07$
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		$3,02 \pm 0,59$

Таблица 3.1.12.

При подсчете ретикулоцитов ПК, подсчете лейкоцитарной формулы, установлено содержание клеток соответствующее значениям нормы.

Показатели периферической крови лабораторных животных на 1сутки, $M \pm m$, $n = 8$

Ретикулоциты, ‰	Гранулоциты, %	Лимфоциты, %
$3,97 \pm 0,77$	$24,54 \pm 2,58$	$65,39 \pm 2,59$

Таким образом, следует подчеркнуть, что на 1 сутки в отсутствии действия экстремального фактора (ИИ), деринат проявил выраженное митотическое действие на гранулоцитарный росток. В остальных случаях не было отмечено значимого влияния на пролиферативную активность, апоптоз, регенерацию, содержание гемопоэтических элементов в костном мозге, уровень образования микроядер, уровень патологических митозов.

4.2. Состояние костного мозга на 1 сутки у лабораторных животных подвергшихся радиационной нагрузке дозой 0,5 Гр на фоне проведения цитопротективной терапии.

- ***В подгруппе лабораторных животных, которым вводился цитопротектор тизоль:***

При подсчете числа митозов в клетках эритроидного дифферона, не обнаружено значимого влияния изучаемого препарата на пролиферативную активность, при этом значение митотического индекса было ниже, чем в норме (МИ $2,66 \pm 0,71$, $P < 0,05$).

При подсчете числа митозов в клетках гранулоцитарного дифферона, не выявлено изменения митотической активности по сравнению с контрольной подгруппой, в то же время, имело место угнетение пролиферативной активности по сравнению с животными контрольной группы (МИ $2,79 \pm 0,29$, $P < 0,05$).

При подсчете клеток в состоянии апоптоза эритроидного дифферона установлено выраженное снижение уровня апоптоза по сравнению с контрольной подгруппой (АИ $3,89 \pm 0,66$, $P < 0,05$), однако уровень апоптоза превышал СУА.

При подсчете клеток в состоянии апоптоза гранулоцитарного дифферона отмечен антиапоптогенный эффект, который проявлялся в снижении уровня апоптоза (АИ $4,18 \pm 0,38$, $P < 0,05$), но, несмотря на снижение апоптоза его уровень достоверно был выше СУА.

Анализируя интенсивность регенерации в эритроидном и гранулоцитарном дифферонах, следует отметить, что скорость клеточного обновления была

достоверно ниже нормы и, статистически не отличалась от значений ИКО в контрольной подгруппе.

При подсчете микроядер в ретикулоцитах, обнаружено снижение уровня микроядер (МЯТ $8,17 \pm 1,49$, $P < 0,05$ по сравнению с контрольной подгруппой) и данный уровень образования цитогенетически измененных клеток статистически не отличался от СУМ. Повышенное образование микроядер после воздействия ИИ есть результат хромосомных aberrаций. Снижение значения МЯТ, свидетельствует о том, что тизоль способен репарировать повреждения ДНК.

При подсчете числа патологических митозов в эритроидном и гранулоцитарном ростках, не выявлено изменений изучаемого показателя относительно контрольной подгруппы.

Таблица 3.2.1.

Показатели регенераторной и мутагенной активности гемопоэтических клеток костного мозга лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр на фоне введения цитопротектора тизоль, $M \pm m$, $n = 8$

Параметры	Значения
Митотический индекс эритроидного дифферона	$2,66 \pm 0,71^*$
Митотический индекс гранулоцитарного дифферона	$2,79 \pm 0,29^*$
Апоптотический индекс эритроидного дифферона	$3,89 \pm 0,66^* **$
Апоптотический индекс гранулоцитарного дифферона	$4,18 \pm 0,38^* **$
Индекс клеточного обновления эритроидного дифферона	$0,62 \pm 0,22^*$
Индекс клеточного обновления гранулоцитарного дифферона	$0,68 \pm 0,10^*$
Микроядерный тест	

	$8,17 \pm 1,49^{**}$
Патологические митозы эритроидного дифферона, %	$13,38 \pm 1,09^*$
Патологические митозы гранулоцитарного дифферона, %	$7,64 \pm 0,85^*$

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 0,5 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.*

При подсчете миелограммы, установлено угнетение эритропоэза и гранулоцитопоза, процентное содержание эритроидных и гранулоцитарных элементов было достоверно ниже, чем в норме и статистически не отличалось от контрольной подгруппы. Показатель ГЭС не отличался от значений нормы, поскольку угнетение дифферонов было выражено в равной степени. Отмечалось выраженное увеличение содержания лимфоцитов, то есть наблюдался лимфоцитарный пик в костном мозге.

Процесс гемоглобинизации эритроидного ростка был не нарушен, так как ИСЭНбл достоверно не отличался от нормы. В то же время, по сравнению с контрольной группой, выявлено угнетение процесса созревания нейтрофилов (ИСН $0,56 \pm 0,06$, $P < 0,05$).

Таблица 3.2.2.

Показатели миелограммы лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр на фоне введения цитопротектора тизоль, $M \pm m$, $n = 8$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток в %
Нейтрофильные клетки	миелобласты	$0,70 \pm 0,23^*$
	промиелоциты	$1,36 \pm 0,46^*$
	миелоциты	$6,93 \pm 0,51^*$
	метамиелоциты	$8,10 \pm 1,00^*$
	палочкоядерные и сегментоядерные	$28,78 \pm 3,04^*$

Эозинофилы (всех генераций)		1,32 ± 0,56
Все гранулоцитарные элементы		46,18 ± 3,75*
Эритробласты		0,19 ± 0,08*
Нормобласты	базофильные	1,46 ± 0,37*
	полихроматофильные	9,70 ± 1,62*
	оксифильные	2,32 ± 0,76*
Все эритроидные элементы		13,64 ± 2,23*
Лимфоциты		15,32 ± 0,94*
Прочие		0,94 ± 0,06*
Индекс созревания нейтрофилов		0,56 ± 0,06*
Индекс созревания эритронормобластов		0,88 ± 0,03
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		3,50 ± 0,56

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$;*

При подсчете ретикулоцитов ПК, наблюдалось увеличение содержания последних в ПК, что характерно для развития стресс-реакции системы крови и согласуется с уменьшением количества эритроидных элементов в костном мозге.

При подсчете лейкоцитарной формулы, наблюдалась лимфопения и увеличение числа нейтрофильных гранулоцитов в ПК. Сопоставляя эти данные с данными клеточности в костном мозге (уменьшение содержания нейтрофильных гранулоцитов и лимфоцитарный пик) следует сделать вывод, что здесь также имеет место стрессовая, неспецифическая реакция системы крови на раздражитель (ИИ).

Таким образом, имеет место перераспределительный характер: выброс из костного мозга ретикулоцитов, гранулоцитов и миграция лимфоцитов из периферической крови в костный мозг.

Цитопротектор тизоль на 1 сутки не оказывал значимого влияния на процесс перераспределения клеток в ответ на действие экстремального фактора и, содержание клеток в костном мозге и периферической крови достоверно не отличались от данных в контрольной подгруппе.

Таблица 3.2.3.

Показатели периферической крови лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ, дозой 0,5 Гр на фоне введения цитопротектора тизоль, $M \pm m$, $n = 8$

<u>Ретикулоциты, ‰</u>	<u>Гранулоциты, %</u>	<u>Лимфоциты, %</u>
6,41 ± 0,88*	31,58 ± 2,08*	56,41 ± 3,66*

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$*

• ***В подгруппе лабораторных животных, которым вводился препарат деринат:***

При подсчете числа митозов в клетках эритроидного дифферона отмечено отсутствие значимого влияния данного препарата на пролиферативную активность и значения митотического индекса были достоверно ниже нормы.

При подсчете числа митозов в клетках гранулоцитарного дифферона выявлено значительное повышение митотической активности (МИ 4,23 ± 0,38, $P < 0,05$) и данный показатель соответствовал значению нормы.

При подсчете клеток в состоянии апоптоза эритроидного дифферона установлено отсутствие значимого изменения в уровне апоптоза по сравнению с контрольной подгруппой.

При подсчете клеток в состоянии апоптоза гранулоцитарного дифферона, отмечено снижение уровня апоптоза (АИ 4,06 ± 0,42, $P < 0,05$), в этом случае, АИ статистически не отличался от СУА.

Интенсивность регенерации в эритроидном диффероне достоверно не отличалась от скорости клеточного обновления в контрольной подгруппе.

Интенсивность регенерации в гранулоцитарном диффероне была выше, чем в контрольной подгруппе (ИКО 1,05 ± 0,08, $P < 0,05$), что связано с вызываемой препаратом повышением митотической активности клеток гранулоцитарного ростка.

При подсчете микроядер в ретикулоцитах обнаружено снижение уровня образования микроядер (МЯТ 9,20 ± 1,24, $P < 0,05$ по сравнению с

контрольной подгруппой), тем не менее, уровень цитогенетически измененных клеток был достоверно выше СУМ.

При подсчете числа патологических митозов в эритроидном диффероне, установлено значимое снижение уровня подобных митозов ($12,59 \pm 1,42$, $P < 0,05$) по сравнению с контрольной подгруппой, что свидетельствует о выраженном репаративном действии дерината. В то же время количество патологических митозов превышало значения нормы.

При подсчете числа патологических митозов в гранулоцитарном диффероне, не отмечено значимого их изменения относительно контрольной подгруппы.

Таблица 3.2.4.

Показатели регенераторной и мутагенной активности гемопоэтических клеток костного мозга лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр на фоне введения препарата деринат, $M \pm m$, $n = 8$

Параметры	Значения
Митотический индекс эритроидного дифферона	$2,50 \pm 0,63^*$
Митотический индекс гранулоцитарного дифферона	$4,23 \pm 0,38^{**}$
Апоптотический индекс эритроидного дифферона	$4,85 \pm 0,94^*$
Апоптотический индекс гранулоцитарного дифферона	$4,06 \pm 0,42^* **$
Индекс клеточного обновления эритроидного дифферона	$0,56 \pm 0,17^*$
Индекс клеточного обновления гранулоцитарного дифферона	$1,05 \pm 0,08^{**}$
Микроядерный тест	$9,20 \pm 1,24^* **$
Патологические митозы эритроидного дифферона, %	$12,59 \pm 1,42^* **$

Патологические митозы гранулоцитарного дифферона, %	6,69 ± 0,84*
--	--------------

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 0,5 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.*

При подсчете миелограммы, установлено снижение активности эритропоэза, тем не менее, отмечено увеличение отдельных элементов этого ростка (эритробластов $0,43 \pm 0,10$, $P < 0,05$).

Общее количество гранулоцитов было ниже границы нормы, но здесь также имеет место увеличение содержания отдельных элементов (промиелоцитов $1,81 \pm 0,17$, $P < 0,05$ и миелоцитов $8,30 \pm 0,83$, $P < 0,05$).

Выявлено нарушение процесса созревания гранулоцитов относительно значений контрольной группы, в то же время, скорость созревания эритронормобластов осталась неизменной.

Таблица 3.2.5.

Показатели миелограммы лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр на фоне введения препарата деринат, $M \pm m$, $n = 8$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток в %
Нейтрофильные клетки	миелобласты	$0,74 \pm 0,17^*$
	промиелоциты	$1,81 \pm 0,17^* **$
	миелоциты	$8,30 \pm 0,83^* **$
	метамиелоциты	$8,28 \pm 0,76^*$
	палочкоядерные и сегментоядерные	$28,11 \pm 3,02$
Эозинофилы (всех генераций)		$1,40 \pm 0,35$
Все гранулоцитарные элементы		$46,56 \pm 4,90^*$
Эритробласты		$0,43 \pm 0,10^* **$
Нормобласты	базофильные	$1,29 \pm 0,33^*$
	полихроматофильные	$9,39 \pm 1,64^*$
	оксифильные	$2,64 \pm 0,66^*$
Все эритроидные элементы		$13,74 \pm 1,26^*$

Лимфоциты	16,07 ± 1,39*
Прочие	0,82 ± 0,04*
Индекс созревания нейтрофилов	0,61 ± 0,13*
Индекс созревания эритронормобластов	0,87 ± 0,02
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение	3,44 ± 0,46

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 0,5 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.

При подсчете ретикулоцитов ПК, лейкоцитарной формулы, вновь отмечаются изменения характерные для стресс - реакции системы крови с классическим перераспределением клеток. При этом содержание клеток в периферической крови опытной подгруппы статистически не отличается от данных в контрольной подгруппе.

Таблица 3.2.6.

Показатели периферической крови лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр на фоне введения препарата деринат, $M \pm m$, $n = 8$

Ретикулоциты, ‰	Гранулоциты, ‰	Лимфоциты, ‰
5,81 ± 0,72*	32,03 ± 1,79*	56,76 ± 4,59*

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$.

• В подгруппе лабораторных животных, которым проводилось комбинированное введение тизоля и дерината:

При подсчете числа митозов в клетках эритроидного дифферона отмечено выраженное увеличение пролиферативной активности (МИ 4,12 ± 0,75, $P < 0,05$), данное значение МИ соответствовало норме.

При подсчете числа митозов в клетках гранулоцитарного дифферона, не установлено значимой разницы в пролиферативной активности между опытной и контрольной подгруппами.

При подсчете клеток в состоянии апоптоза эритроидного дифферона отмечено антиапоптогенное действие (АИ $4,34 \pm 0,41$, $P < 0,05$), но оно было выражено в меньшей степени, чем после монотерапии тизолом.

При подсчете клеток в состоянии апоптоза гранулоцитарного дифферона не выявлено статистически значимого снижения уровня апоптоза по сравнению с контрольной подгруппой и данный показатель был выше, чем в группе контроля.

Анализируя интенсивность регенерации в эритроидном диффероне, отмечено увеличение скорости клеточного обновления (ИКО $0,82 \pm 0,30$, $P < 0,05$), но регенераторные процессы были все же ниже, чем в норме.

Интенсивность регенерации в гранулоцитарном диффероне была ниже нормы и, достоверно не отличалась от контрольной подгруппы.

При подсчете микроядер в ретикулоцитах установлено снижение уровня цитогенетически измененных клеток (МЯТ $6,86 \pm 1,74$, $P < 0,05$), мутагенная активность соответствовала СУМ.

При подсчете числа патологических митозов в эритроидном и гранулоцитарном ростках, выявлено значительное снижение аномальной пролиферативной активности ($11,60 \pm 1,71$, $P < 0,05$ и $5,04 \pm 1,33$, $P < 0,05$ соответственно).

Таблица 3.2.7.

Показатели регенераторной и мутагенной активности гемопоэтических клеток костного мозга лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр на фоне комбинированного введения тизола и дерината, $M \pm m$, $n = 8$

Параметры	Значения
Митотический индекс эритроидного дифферона	$4,12 \pm 0,75^{**}$
Митотический индекс гранулоцитарного дифферона	$2,90 \pm 0,26^{*}$

Апоптотический индекс эритроидного дифферона	$4,34 \pm 0,41^{* **}$
Апоптотический индекс гранулоцитарного дифферона	$4,76 \pm 0,40^{*}$
Индекс клеточного обновления эритроидного дифферона	$0,82 \pm 0,30^{* **}$
Индекс клеточного обновления гранулоцитарного дифферона	$0,62 \pm 0,07^{*}$
Микроядерный тест	$6,86 \pm 1,74^{**}$
Патологические митозы эритроидного дифферона, %	$11,60 \pm 1,71^{* **}$
Патологические митозы гранулоцитарного дифферона, %	$5,04 \pm 1,33^{* **}$

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 0,5 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.*

При подсчете миелограммы отмечено стимулирующее действие на эритропоэз ($15,77 \pm 2,09$, $P < 0,05$ по сравнению с контрольной подгруппой), что связано с увеличением процентного содержания эритробластов ($0,26 \pm 0,08$, $P < 0,05$), полихроматофильных нормобластов ($11,66 \pm 1,67$, $P < 0,05$). Но не смотря на терапевтический эффект в отношении эритрона, количество всех эритроидных и гранулоцитарных элементов на 1 сутки оставалось ниже значений нормы.

Общее содержание гранулоцитов было ниже значений в контрольной группе, однако имело место увеличение количества миелоцитов ($8,48 \pm 1,25$, $P < 0,05$).

Таблица 3.2.8.

Показатели миелограммы лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр на фоне комбинированного введения тизоля и дерината, $M \pm m$, $n = 8$

Наименование клеточных элементов	Содержание клеток в %
----------------------------------	-----------------------

Нейтрофильные клетки	миелобласты	$0,67 \pm 0,18^*$
	промиелоциты	$1,57 \pm 0,30^*$
	миелоциты	$8,48 \pm 1,25^* **$
	метамиелоциты	$8,54 \pm 1,19^*$
	палочкоядерные и сегментоядерные	$28,27 \pm 3,17^*$
Эозинофилы (всех генераций)		$1,80 \pm 0,23$
Все гранулоцитарные элементы		$45,59 \pm 5,36^*$
Эритробласты		$0,44 \pm 0,09^* **$
Нормобласты	базофильные	$1,63 \pm 0,55^*$
	полихроматофильные	$11,66 \pm 1,67^{**}$
	оксифильные	$2,04 \pm 0,83^*$
Все эритроидные элементы		$15,77 \pm 2,09^* **$
Лимфоциты		$15,93 \pm 0,90^*$
Прочие		$0,91 \pm 0,07$
Индекс созревания нейтрофилов		$0,55 \pm 0,13^*$
Индекс созревания эритронормобластов		$0,87 \pm 0,02$
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		$2,96 \pm 0,37$

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 0,5 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.

При подсчете ретикулоцитов ПК, подсчете лейкоцитарной формулы, не выявлено значимых изменений изучаемых показателей между опытной и контрольной подгруппой.

Таблица 3.2.9.

Показатели периферической крови лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр на фоне комбинированного введения тизоля и дерината, $M \pm m$, $n = 8$

Ретикулоциты, ‰	Гранулоциты, ‰	Лимфоциты, ‰
$6,31 \pm 0,58^*$	$31,50 \pm 2,40^*$	$57,11 \pm 3,70^*$

Таким образом, на 1 сутки при указанной дозе облучения цитопротектор **тизол** оказывал выраженное антиапоптогенное действие, снижал уровень микроядер, не влиял на митотическую активность, и на скорость клеточного обновления. Не было отмечено значимого изменения содержания элементов дифферонов по сравнению с контрольной подгруппой. Уровень патологических митозов также не отличался от контрольной подгруппы.

Деринат проявил тропность к гранулоцитарному дифферону, здесь он увеличивал митотическую активность, снижал апоптоз, увеличивал интенсивность регенерации. Тем не менее, увеличение регенерации не привело к увеличению клеточности в костном мозге по сравнению с контрольной подгруппой. Монотерапия деринатом снижала уровень микроядер и уровень патологических митозов в гранулоцитарном ростке.

Комплексная терапия тизолем и деринатом оказывало преимущественное действие на эритроидный росток, при этом отмечено увеличение митотической активности, снижение апоптоза, увеличение регенерации, увеличение общей численности эритроидного ростка, снижение уровня микроядер и патологических митозов. Также отмечен эффект и на гранулоцитарный росток, где мы наблюдали снижение апоптоза.

• ***В контрольной подгруппе:***

При подсчете числа митозов в клетках эритроидного и гранулоцитарного дифферонов, отмечено снижение пролиферативной активности (МИ $2,34 \pm 0,36$, $P < 0,05$ и $2,73 \pm 0,27$, $P < 0,05$ соответственно).

При подсчете клеток в состоянии апоптоза эритроидного и гранулоцитарного дифферонов выявлено увеличение уровня апоптоза (АИ $5,50 \pm 0,30$, $P < 0,05$ и $4,83 \pm 0,31$, $P < 0,05$ соответственно).

Интенсивность регенерации в эритроидном и гранулоцитарном ростках была снижена (ИКО $0,43 \pm 0,06$, $P < 0,05$ и $0,57 \pm 0,04$, $P < 0,05$ соответственно).

При подсчете микроядер в ретикулоцитах имеет место мутагенный эффект действия ионизирующего излучения (МЯТ $13,38 \pm 1,24$, $P < 0,05$).

При подсчете числа патологических митозов в эритроидном и гранулоцитарном ростках, выявлено увеличение количества аномальных митозов ($14,62 \pm 0,99$, $P < 0,05$ и $7,20 \pm 1,07$, $P < 0,05$ соответственно).

Таблица 3.2.10.

Показатели регенераторной и мутагенной активности гемопоэтических клеток костного мозга лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр, $M \pm m$, $n = 8$

Параметры	Значения
Митотический индекс эритроидного дифферона	$2,34 \pm 0,36^*$
Митотический индекс гранулоцитарного дифферона	$2,73 \pm 0,27^*$
Апоптотический индекс эритроидного дифферона	$5,50 \pm 0,30^*$
Апоптотический индекс гранулоцитарного дифферона	$4,83 \pm 0,31^*$
Индекс клеточного обновления эритроидного дифферона	$0,43 \pm 0,06^*$
Индекс клеточного обновления гранулоцитарного дифферона	$0,57 \pm 0,04^*$
Микроядерный тест	$13,38 \pm 1,24^*$
Патологические митозы эритроидного дифферона, %	$14,62 \pm 0,99^*$
Патологические митозы гранулоцитарного дифферона, %	$7,20 \pm 1,07^*$

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$;

При подсчете миелограммы выявлено угнетение эритропоэза и гранулоцитопоэза, нарушение процесса созревания нейтрофилов, в этом случае имеет место относительное преобладание более зрелых форм и гибель молодых форм нейтрофилов. Процесс гемоглобинизации элементов

эритроидного ряда был не нарушен и ИСЭНбл соответствовал контрольным значениям.

Таблица 3.2.11.

Показатели миелограммы лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр, $M \pm m$, $n = 8$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток в %
Нейтрофильные клетки	миелобласты	$0,62 \pm 0,21^*$
	промиелоциты	$1,48 \pm 0,19^*$
	миелоциты	$6,77 \pm 0,90^*$
	метамиелоциты	$7,98 \pm 0,68^*$
	палочкоядерные и сегментоядерные	$27,70 \pm 2,70^*$
Эозинофилы (всех генераций)		$1,30 \pm 0,40$
Все гранулоцитарные элементы		$45,86 \pm 1,81^*$
Эритробласты		$0,25 \pm 0,12^*$
Нормобласты	базофильные	$1,37 \pm 0,33^*$
	полихроматофильные	$9,27 \pm 1,20^*$
	оксифильные	$2,69 \pm 0,57^*$
Все эритроидные элементы		$12,73 \pm 1,71$
Лимфоциты		$16,28 \pm 1,65^*$
Прочие		$0,85 \pm 0,04^*$
Индекс созревания нейтрофилов		$0,62 \pm 0,10^*$
Индекс созревания эритронормобластов		$0,87 \pm 0,04$
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		$3,89 \pm 0,65$

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$.

При подсчете ретикулоцитов ПК, подсчете лейкоцитарной формулы, отмечен ретикулоцитоз, нейтрофильный гранулоцитоз, лимфопения. Результаты периферической крови и содержание гемопоэтических элементов в костном мозге свидетельствуют о стресс-реакции системы крови в ответ на действие экстремального фактора.

Таблица 3.2.12.

Показатели периферической крови лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр, $M \pm m$, $n = 8$

Ретикулоциты, ‰	Гранулоциты, %	Лимфоциты, %
$6,63 \pm 0,60^*$	$33,18 \pm 3,82^*$	$55,70 \pm 6,90^*$

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$;*

4.3. Состояние костного мозга на 1 сутки у лабораторных животных подвергшихся радиационной нагрузке дозой 3 Гр на фоне проведения цитопротективной терапии.

Вызванное воздействием ионизирующего излучения значительное угнетение гемопоэза, сделало невозможным подсчет МЯТ, поскольку был отмечен ложноположительный результат.

- ***В подгруппе лабораторных животных, которым вводился цитопротектор тизоль:***

При подсчете числа митозов в клетках эритроидного и гранулоцитарного дифферонов не отмечено значимого терапевтического действия тизоля на пролиферативную активность и значения митотического индекса на 1 сутки оставались ниже нормы.

При подсчете клеток в состоянии апоптоза эритроидного дифферона, выявлено антиапоптогенное действие (АИ $4,21 \pm 0,41$, $P < 0,05$ по сравнению с контрольной подгруппой). При этом уровень апоптоза оставался повышенным.

При подсчете клеток в состоянии апоптоза гранулоцитарного дифферона установлено снижение уровня апоптоза (АИ $4,54 \pm 0,32$, $P < 0,05$ по сравнению с контрольной подгруппой), но, также как и в эритроидном ростке уровень апоптоза превышал значения нормы.

Анализируя интенсивность регенерации в эритроидном и гранулоцитарном диффероне, отмечено увеличение скорости клеточного обновления ($0,42 \pm 0,14$, $P < 0,05$ и $0,36 \pm 0,06$, $P < 0,05$ соответственно). Однако полного

восстановления регенераторной активности не произошло и, она оставалась ниже нормы.

При подсчете числа патологических митозов в эритроидном ростке, выявлено снижение количества аномальных митозов ($16,14 \pm 1,18$, $P < 0,05$), что, сопоставляя с ранее выявленным снижением уровнем образования микроядер, свидетельствует в пользу наличия у тизоля не только специфического антиапоптогенного действия, но и умеренно выраженного репаративного действия.

При подсчете числа патологических митозов в гранулоцитарном ростке, не отмечено изменений подобной митотической активности по сравнению с контрольной подгруппой.

Таблица 3.3.1.

Показатели регенераторной активности гемопоэтических клеток костного мозга лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр на фоне введения цитопротектора тизоль, $M \pm m$, $n = 8$

Параметры	Значения
Митотический индекс эритроидного дифферона	$2,02 \pm 0,15^*$
Митотический индекс гранулоцитарного дифферона	$1,60 \pm 0,14^*$
Апоптотический индекс эритроидного дифферона	$4,21 \pm 0,41^* **$
Апоптотический индекс гранулоцитарного дифферона	$4,54 \pm 0,32^* **$
Индекс клеточного обновления эритроидного дифферона	$0,42 \pm 0,14^* **$
Индекс клеточного обновления гранулоцитарного дифферона	$0,36 \pm 0,06^* **$
Патологические митозы эритроидного дифферона, %	$16,14 \pm 1,18^* **$

Патологические митозы гранулоцитарного дифферона, %	10,94 ± 1,68* **
--	------------------

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 3 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.*

При подсчете миелограммы, установлено стимулирующее действие препарата на эритропоз (8,03 ± 1,08, $P < 0,05$). Этот эффект обусловлен увеличением количества базофильных (1,14 ± 0,26, $P < 0,05$) и полихроматофильных нормобластов (5,30 ± 0,95, $P < 0,05$). Общее количество элементов красного ростка было ниже значений нормы. Таким образом, нашло свое отражение действие цитопротектора на регенерацию эритрона. Общее содержание гранулоцитов было снижено, однако отмечено увеличение содержания отдельных элементов данного ростка (миелоциты 6,29 ± 0,84, $P < 0,05$).

Значение ГЭС было достоверно выше, чем в контрольной группе, что обусловлено большей радиочувствительностью эритрона.

На фоне введения препарата, отмечалось нарушение процесса созревания нейтрофилов в сторону преобладания более зрелых форм. В то же время не выявлено значимого изменения скорости процессов созревания нейтрофилов и эритронормобластов по сравнению с подгруппой контроля.

В настоящем эксперименте количество лимфоцитов в костном мозге, при значительной лучевой нагрузке к концу 1 суток было значительно ниже нормы. Безусловно, в данном случае имеет место стресс-реакция системы крови и миграция лимфоцитов в костный мозг, это подтверждают и данные по исследованию периферической крови. Но в данном случае процесс гибели преобладает над процессом миграции лимфоцитов в костный мозг и, как следствие, выраженное уменьшение содержания лимфоцитов в костном мозге. При облучении дозой 3 Гр мы уже не наблюдаем значительного лимфоцитарного пика в костном мозге. Реактивный выход ретикулоцитов и

нейтрофильных гранулоцитов в периферическую кровь выражен в большей степени, чем при облучении 0,5 Гр.

Таблица 3.3.2.

Показатели миелограммы лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр на фоне введения цитопротектора тизоль, $M \pm m$, $n = 8$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток в %
Нейтрофильные клетки	миелобласты	$0,55 \pm 0,18^*$
	промиелоциты	$0,86 \pm 0,15^*$
	миелоциты	$6,29 \pm 0,84^{* **}$
	метамиелоциты	$6,05 \pm 1,09^*$
	палочкоядерные и сегментоядерные	$22,01 \pm 1,99^*$
Эозинофилы (всех генераций)		$0,78 \pm 0,26^*$
Все гранулоцитарные элементы		$36,21 \pm 3,37^*$
Эритробласты		$0,13 \pm 0,04^*$
Нормобласты	базофильные	$1,14 \pm 0,26^{* **}$
	полихроматофильные	$5,30 \pm 0,95^{* **}$
	оксифильные	$1,47 \pm 0,42^*$
Все эритроидные элементы		$8,03 \pm 1,08^{* **}$
Лимфоциты		$4,44 \pm 1,09^*$
Прочие		$0,47 \pm 0,05$
Индекс созревания нейтрофилов		$0,62 \pm 0,07^*$
Индекс созревания эритронормобластов		$0,83 \pm 0,06$
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		$4,67 \pm 0,85^*$

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 3 Гр, достоверно с $\leq 0,05$.

При подсчете ретикулоцитов ПК, подсчете лейкоцитарной формулы, выявлен значительный ретикулоцитоз и нейтрофильный лейкоцитоз. Степень выраженности лимфопении была достоверно ниже, чем в контрольной подгруппе ($52,69 \pm 1,73$, $P < 0,05$). Вероятно этот эффект связан со специфическим антиапоптогенным действием тизоля. Помимо

антиапоптогенного действия монотерапия тизолом в ряде случаев вызывала снижение уровня микроядер.

Таблица 3.3.3.

Показатели периферической крови лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр на фоне введения цитопротектора тизоль, $M \pm m$, $n = 8$

Ретикулоциты, ‰	Гранулоциты, %	Лимфоциты, %
$8,59 \pm 0,87^*$	$38,64 \pm 1,65^*$	$52,69 \pm 1,73^{* **}$

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 3 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.*

• ***В подгруппе лабораторных животных, которым вводился препарат деринат:***

При подсчете числа митозов в клетках эритроидного и гранулоцитарного дифферонов выявлено снижение пролиферативной активности по сравнению с группой контроля. В данном случае, препарат не проявил значимого влияния на митотическую активность.

При подсчете клеток в состоянии апоптоза эритроидного и гранулоцитарного дифферонов не установлено значимой разницы в уровне апоптоза между опытной и контрольной подгруппой.

Изучая интенсивность регенерации, в обоих анализируемых дифферонах, не отмечено достоверного влияния препарата на процессы регенерации. Отмечалось угнетение процессов клеточного обновления по сравнению с контрольной группой.

При подсчете числа патологических митозов в эритроидном ростке, не отмечено значимого изменения изучаемого показателя по сравнению с контрольной подгруппой.

При подсчете числа патологических митозов в гранулоцитарном ростке, выявлено снижение уровня аномальных митозов по сравнению с

контрольной подгруппой ($8,28 \pm 1,02$, $P < 0,05$). Тем не менее, их количество было больше, чем в норме.

Таблица 3.3.4.

Показатели регенераторной активности гемопоэтических клеток костного мозга лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр на фоне введения препарата деринат, $M \pm m$, $n = 8$

Параметры	Значения
Митотический индекс эритроидного дифферона	$1,81 \pm 0,31^*$
Митотический индекс гранулоцитарного дифферона	$1,65 \pm 0,25^*$
Апоптотический индекс эритроидного дифферона	$6,37 \pm 0,77^*$
Апоптотический индекс гранулоцитарного дифферона	$5,12 \pm 0,25^*$
Индекс клеточного обновления эритроидного дифферона	$0,29 \pm 0,04^*$
Индекс клеточного обновления гранулоцитарного дифферона	$0,32 \pm 0,05^*$
Патологические митозы эритроидного дифферона, %	$16,72 \pm 2,08^*$
Патологические митозы гранулоцитарного дифферона, %	$8,28 \pm 1,02^* **$

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 3 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.*

При подсчете миелограммы, выявлен терапевтический эффект после введения дерината на популяцию эозинофилов ($1,06 \pm 0,11$, $P < 0,05$). Тем не менее, сохраняется угнетение эритропоэза и гранулоцитопоэза. Показатель

ГЭС превышает значения нормы, что обусловлено выраженным снижением количества элементов эритрона. То есть при облучении 3 Гр эритроидный росток вновь проявил большую радиочувствительность по сравнению с гранулоцитарным.

Содержание лимфоцитов в костном мозге было ниже границы нормы, то есть здесь также преобладает специфическое действие ИИ над процессом миграции лимфоцитов из периферической крови.

Таблица 3.3.5.

Показатели миелограммы лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр на фоне введения препарата деринат, $M \pm m$, $n = 8$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток в %
Нейтрофильные клетки	миелобласты	$0,58 \pm 0,20^*$
	промиелоциты	$0,83 \pm 0,14^*$
	миелоциты	$4,83 \pm 0,88^*$
	метамиелоциты	$6,63 \pm 1,28^*$
	палочкоядерные и сегментоядерные	$19,56 \pm 2,76^*$
Эозинофилы (всех генераций)		$1,06 \pm 0,11^{**}$
Все гранулоцитарные элементы		$32,68 \pm 2,97^*$
Эритробласты		$0,11 \pm 0,07^*$
Нормобласты	базофильные	$0,68 \pm 0,22^*$
	полихроматофильные	$4,15 \pm 0,93^*$
	оксифильные	$1,31 \pm 0,29^*$
Все эритроидные элементы		$6,26 \pm 1,11^*$
Лимфоциты		$4,39 \pm 0,84^*$
Прочие		$0,46 \pm 0,08^*$
Индекс созревания нейтрофилов		$0,64 \pm 0,12^*$
Индекс созревания эритронормобластов		$0,87 \pm 0,03$
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		$5,51 \pm 1,27^*$

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных

животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 3 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.

При подсчете ретикулоцитов ПК, подсчете лейкоцитарной формулы, выявлен ретикулоцитоз, нейтрофильный лейкоцитоз, лимфопения. Степень выраженности указанных процессов была выше, чем при облучении дозой 0,5 Гр. Статистической разницы в выраженности указанных процессов между опытной и контрольной подгруппами не наблюдалось.

Таблица 3.3.6.

Показатели периферической крови лабораторных животных на 1сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр на фоне введения препарата деринат, $M \pm m$, $n = 8$

Ретикулоциты, ‰	Гранулоциты, %	Лимфоциты, %
$8,83 \pm 0,77^*$	$39,42 \pm 2,38^*$	$48,27 \pm 1,16^*$

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$;*

• ***В подгруппе лабораторных животных, которым проводилось комбинированное введение тизоля и дерината:***

При подсчете числа митозов в клетках эритроидного и гранулоцитарного дифферононов, выявлена стимуляция митотической активности (МИ $2,19 \pm 0,21$, $P < 0,05$ и $1,82 \pm 0,18$, $P < 0,05$ соответственно). Однако при этом не произошло полного восстановления пролиферативной активности.

При подсчете клеток в состоянии апоптоза эритроидного и гранулоцитарного дифферононов, установлено выраженное антиапоптогенное действие (АИ $5,43 \pm 0,40$, $P < 0,05$ и $4,78 \pm 0,42$, $P < 0,05$ соответственно). Уровень апоптоза был значительно ниже, чем в контрольной подгруппе, но оставался выше значений СУА.

Анализируя интенсивность регенерации в эритроидном и гранулоцитарном дифферонах, отмечено увеличение скорости клеточного обновления (ИКО $0,41 \pm 0,06$, $P < 0,05$ и $0,38 \pm 0,06$ соответственно).

В обоих изучаемых ростках кроветворения значения ИКО были ниже, значений этого показателя в норме.

При подсчете числа патологических митозов в эритроидном и гранулоцитарном ростках, выявлено снижение числа аномальных митозов ($14,97 \pm 2,29$, $P < 0,05$ и $8,05 \pm 0,92$, $P < 0,05$ соответственно по сравнению с контрольной подгруппой).

Таблица 3.3.7.

Показатели регенераторной активности гемопоэтических клеток костного мозга у лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр на фоне комбинированного введения тизоля и дерината, $M \pm m$, $n = 8$

Параметры	Значения
Митотический индекс эритроидного дифферона	$2,19 \pm 0,21^{* **}$
Митотический индекс гранулоцитарного дифферона	$1,82 \pm 0,18^{* **}$
Апоптотический индекс эритроидного дифферона	$5,43 \pm 0,40^{* **}$
Апоптотический индекс гранулоцитарного дифферона	$4,78 \pm 0,42^{* **}$
Индекс клеточного обновления эритроидного дифферона	$0,41 \pm 0,06^{* **}$
Индекс клеточного обновления гранулоцитарного дифферона	$0,38 \pm 0,06^{* **}$
Патологические митозы эритроидного дифферона, %	$14,97 \pm 2,29^{* **}$
Патологические митозы гранулоцитарного дифферона, %	$8,05 \pm 0,92^{* **}$

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 3 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.

При подсчете миелограммы, выявлено стимулирующее действие на эритропоэз и гранулоцитопоэз. В первом случае эффект обусловлен терапевтическим действием на эритробласты ($0,26 \pm 0,08$, $P < 0,05$), полихроматофильные нормобласты ($7,23 \pm 0,66$, $P < 0,05$). Здесь же следует упомянуть, что и при облучении 0,5 Гр имело место значимое увеличение количества эритроидных клеток на 1 сутки, за счет влияния на те же составляющие эритрона. ИСЭНбл, как и в предыдущем случае соответствовал контрольным значениям.

Стимуляция гранулоцитопоэза была обеспечена за счет увеличения содержания миелобластов ($0,70 \pm 0,11$, $P < 0,05$), миелоцитов ($6,07 \pm 0,69$, $P < 0,05$), менее выраженное снижение содержания зрелых форм гранулоцитов ($23,47 \pm 1,96$, $P < 0,05$). При облучении дозой 0,5 Гр также отмечалось увеличение содержания миелоцитов, но это не приводило к стимуляции гемопоэза в целом. ИСН был выше значений в контрольной группе, что обусловлено преобладанием более зрелых форм гранулоцитов.

Сравнивая активность эритропоэза и гранулоцитопоэза, следует отметить, что на фоне проводимой терапии к концу 1 суток не происходит их восстановления до значений нормы.

Таблица 3.3.8.

Показатели миелограммы лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр на фоне комбинированного введения тизоля и дерината, $M \pm m$, $n = 8$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток в %
Нейтрофильные клетки	миелобласты	$0,70 \pm 0,11^{* **}$
	промиелоциты	$0,77 \pm 0,30^{*}$
	миелоциты	$6,07 \pm 0,69^{* **}$
	метамиелоциты	$7,47 \pm 1,52^{*}$
	палочкоядерные и сегментоядерные	$23,47 \pm 1,96^{* **}$
Эозинофилы (всех генераций)		$0,77 \pm 0,15^{*}$

Все гранулоцитарные элементы		$39,26 \pm 2,52^{* **}$
Эритробласты		$0,26 \pm 0,08^{* **}$
Нормобласты	базофильные	$0,88 \pm 0,28^{*}$
	полихроматофильные	$7,23 \pm 0,66^{* **}$
	оксифильные	$1,27 \pm 0,35^{*}$
Все эритроидные элементы		$9,63 \pm 0,86^{* **}$
Лимфоциты		$5,01 \pm 0,81^{*}$
Прочие		$0,55 \pm 0,03^{*}$
Индекс созревания нейтрофилов		$0,65 \pm 0,06^{*}$
Индекс созревания эритронормобластов		$0,88 \pm 0,02$
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		$4,13 \pm 0,54^{*}$

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 3 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.

При подсчете ретикулоцитов ПК, подсчете лейкоцитарной формулы выявлен ретикулоцитоз и нейтрофильный гранулоцитоз, но выражены эти процессы были в меньшей степени, чем в контрольной подгруппе ($7,58 \pm 0,91$, $P < 0,05$ и $35,37 \pm 1,87$, $P < 0,05$). Терапевтический эффект обусловлен увеличением регенерации в изучаемых дифферонах. Содержание лимфоцитов в периферической крови было значительно ниже нормы и, достоверно не отличалось от контрольной подгруппы.

Таблица 3.3.9.

Показатели периферической крови лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр на фоне комбинированного введения тизоля и дерината, $M \pm m$, $n = 8$

Ретикулоциты, ‰	Гранулоциты, %	Лимфоциты, %
$7,58 \pm 0,91^{* **}$	$35,37 \pm 1,87^{* **}$	$50,97 \pm 1,54^{*}$

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 3 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.

Таким образом, **цитопротектор тизоль** при значительной лучевой нагрузке, также как и при облучении подопытных крыс дозой 0,5 Гр проявил антиапоптогенное действие на эритроидный и гранулоцитарный диффероны. Вновь с его стороны не отмечено значимого действия на пролиферативную активность, но в отличие от облучения дозой 0,5 Гр здесь имеет место увеличение регенерации изучаемых ростков. Это свидетельствует о столь выраженном антиапоптогенном действии, которое имеет дозозависимый эффект (с увеличением лучевой нагрузки чаще выявляется антиапоптогенное действие). Однако общее увеличение содержания элементов наблюдалось только в эритроне. При этом уровень патологических митозов в эритроне был ниже, чем в контрольной подгруппе. Все вышеуказанное свидетельствует, что тизоль в большей степени действует на красный росток, чем на гранулоцитарный.

Препарат **деринат** в отличие от эксперимента с меньшей лучевой нагрузкой (0,5 Гр) не оказывал значимого влияния на пролиферативную активность, апоптоз, регенерацию, общее содержание элементов изучаемых ростков. Терапевтическое действие отмечено только в плане снижения патологических митозов в гранулоцитарном ростке. При лучевой нагрузке 3 Гр на 1 сутки деринат оказывает терапевтический эффект значительно менее выраженный, чем при меньшей лучевой нагрузке. То есть здесь также можно говорить о дозозависимом эффекте.

После **комплексной терапии тизолем и деринатом**, также как и при облучении животных дозой 0,5 Гр, выявлена стимуляция пролиферации клеток, снижение апоптоза, увеличение общего содержания элементов гранулоцитарного и эритроидного ростков, снижение патологических митозов.

• **В контрольной подгруппе:**

При подсчете числа митозов в клетках эритроидного и гранулоцитарного дифферонов установлено значительное снижение пролиферативной активности.

При подсчете клеток в состоянии апоптоза эритроидного и гранулоцитарного дифферонов, выявлено выраженное повышение уровня апоптоза.

Интенсивность регенерации в изучаемых ростках, была ниже контрольных значений.

При подсчете числа патологических митозов в эритроидном и гранулоцитарном ростках, установлено, что их содержание превышало контрольные показатели.

Таблица 3.3.10.

Показатели регенераторной активности гемопоэтических клеток костного мозга лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр, $M \pm m$, $n = 8$

Параметры	Значения
Митотический индекс эритроидного дифферона	$1,80 \pm 0,24^*$
Митотический индекс гранулоцитарного дифферона	$1,48 \pm 0,21^*$
Апоптотический индекс эритроидного дифферона	$6,62 \pm 0,85^*$
Апоптотический индекс гранулоцитарного дифферона	$5,38 \pm 0,28^*$
Индекс клеточного обновления эритроидного дифферона	$0,21 \pm 0,08^*$
Индекс клеточного обновления гранулоцитарного дифферона	$0,28 \pm 0,03^*$
Патологические митозы эритроидного дифферона, %	$18,38 \pm 1,32^*$
Патологические митозы гранулоцитарного дифферона, %	$11,13 \pm 2,00^*$

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$;

При подсчете миелограммы отмечено угнетение эритропоэза и гранулоцитопоэза, вследствие того, что происходит уменьшение содержания всех элементов этих ростков. ГЭС превышает контрольные значения, так как эритроидный росток проявил большую чувствительность к воздействию ИИ. Содержание лимфоцитов в костном мозге значительно ниже границы нормы. Процесс гемоглобинизации элементов красного ростка соответствовал значениям нормы.

Таблица 3.3.11.

Показатели миелограммы лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр , $M \pm m$, $n = 8$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток в %
Нейтрофильные клетки	миелобласты	$0,47 \pm 0,19^*$
	промиелоциты	$0,82 \pm 0,18^*$
	миелоциты	$4,77 \pm 0,93^*$
	метамиелоциты	$6,17 \pm 1,57^*$
	палочкоядерные и сегментоядерные	$19,10 \pm 3,09^*$
Эозинофилы (всех генераций)		$0,66 \pm 0,29^*$
Все гранулоцитарные элементы		$31,07 \pm 4,31^*$
Эритробласты		$0,14 \pm 0,07^*$
Нормобласты	базофильные	$0,61 \pm 0,25^*$
	полихроматофильные	$4,00 \pm 0,66^*$
	оксифильные	$1,39 \pm 0,27^*$
Все эритроидные элементы		$6,14 \pm 0,74^*$
Лимфоциты		$4,66 \pm 1,36^*$
Прочие		$0,53 \pm 0,08$
Индекс созревания нейтрофилов		$0,61 \pm 0,14^*$
Индекс созревания эритронормобластов		$0,88 \pm 0,03$
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		$5,16 \pm 0,85^*$

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$;

При подсчете ретикулоцитов ПК, подсчете лейкоцитарной формулы, выявлен ретикулоцитоз, нейтрофильный лейкоцитоз, лимфопения.

Таблица 3.3.12.

Показатели периферической крови лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр, $M \pm m$, $n = 8$

Ретикулоциты, ‰	Гранулоциты, %	Лимфоциты, %
$9,73 \pm 1,47^*$	$38,33 \pm 1,43^*$	$49,45 \pm 1,25^*$

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$;*

4.4. Состояние костного мозга на 7 сутки у лабораторных животных, не подвергшихся радиационной нагрузке на фоне введения препаратов.

• ***В подгруппе лабораторных животных, которым вводился цитопротектор тизоль:***

При подсчете числа митозов в клетках эритроидного дифферона выявлено повышение пролиферативной активности (МИ $7,49 \pm 1,77$, $P < 0,05$).

При подсчете числа митозов в клетках гранулоцитарного дифферона не отмечено влияния препарата на митотическую активность.

При подсчете клеток в состоянии апоптоза эритроидного и гранулоцитарного ростков установлено, что уровень апоптоза соответствовал СУА.

Изучая интенсивность регенерации в эритроидном диффероне, выявлено увеличение скорости клеточного обновления (ИКО $3,84 \pm 1,42$, $P < 0,05$).

Интенсивность регенерации в гранулоцитарном диффероне соответствовала контрольным значениям.

При подсчете микроядер в ретикулоцитах не отмечено изменения уровня образования микроядер относительно нормы.

При подсчете числа патологических митозов в эритроидном и гранулоцитарном диффероне, не установлено значимого изменения количества аномальных митозов по сравнению с контрольной подгруппой.

Таблица 3.4.1.

Показатели регенераторной и мутагенной активности гемопоэтических клеток костного мозга лабораторных животных на 7 сутки на фоне введения цитопротектора тизоль, $M \pm m$, $n = 8$

Параметры	Значения
Митотический индекс эритроидного дифферона	$7,49 \pm 1,77^*$
Митотический индекс гранулоцитарного дифферона	$3,89 \pm 0,63$
Апоптотический индекс эритроидного дифферона	$2,22 \pm 0,66$
Апоптотический индекс гранулоцитарного дифферона	$2,38 \pm 0,41$
Индекс клеточного обновления эритроидного дифферона	$3,84 \pm 1,42^*$
Индекс клеточного обновления гранулоцитарного дифферона	$1,68 \pm 0,27$
Микроядерный тест	$3,14 \pm 0,41$
Патологические митозы эритроидного дифферона, %	$4,84 \pm 0,97$
Патологические митозы гранулоцитарного дифферона, %	$3,26 \pm 0,46$

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$*

При подсчете миеелограммы, установлено стимулирующее действие на эритропоэз. Данный эффект обусловлен увеличением количества базофильных ($4,78 \pm 0,70$, $P < 0,05$) и полихроматофильных нормобластов ($22,38 \pm 3,22$, $P < 0,05$). Таким образом, нашло свое отражение действие препарата на митотическую активность эритрона, поскольку базофильные нормобласты относятся к пролиферирующему пулу и, ранние формы полихроматофильных нормобластов также могут вступать в митоз.

Несмотря на выраженное стимулирующее действие на эритрон процесс гемоглобинизации элементов красного ростка остался без изменений.

Изменения активности гранулоцитопоза не наблюдалось.

Значение ГЭС было ниже контрольных показателей ($2,01 \pm 0,19$, $P < 0,05$), поскольку имела место стимуляция красного ростка.

Таблица 3.4.2.

Показатели миелограммы лабораторных животных на 7 сутки на фоне введения цитопротектора тизоль, $M \pm m$, $n = 8$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток в %
Нейтрофильные клетки	миелобласты	$1,33 \pm 0,21$
	промиелоциты	$2,61 \pm 0,34$
	миелоциты	$9,51 \pm 0,94$
	метамиелоциты	$13,12 \pm 2,28$
	палочкоядерные и сегментоядерные	$32,17 \pm 3,07$
Эозинофилы (всех генераций)		$3,54 \pm 0,63$
Все гранулоцитарные элементы		$61,23 \pm 4,79$
Эритробласты		$0,91 \pm 0,15$
Нормобласты	базофильные	$4,78 \pm 0,70^*$
	полихроматофильные	$22,38 \pm 3,22^*$
	оксифильные	$3,36 \pm 0,80$
Все эритроидные элементы		$30,88 \pm 3,72^*$
Лимфоциты		$9,07 \pm 1,52$
Прочие		$2,18 \pm 0,36$
Индекс созревания нейтрофилов		$0,80 \pm 0,09$
Индекс созревания эритронормобластов		$0,83 \pm 0,04$
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		$2,01 \pm 0,19^*$

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$;

При подсчете ретикулоцитов ПК, установлено наличие ретикулоцитоза, что можно объяснить выявленной ранее стимуляцией эритропоза.

При подсчете лейкоцитарной формулы, не отмечено значимого изменения содержания гранулоцитов и лимфоцитов по сравнению с нормой.

Таблица 3.4.3.

Показатели периферической крови лабораторных животных на 7 сутки на фоне введения цитопротектора тизоль, $M \pm m$, $n = 8$

Ретикулоциты, ‰	Гранулоциты, %	Лимфоциты, %
$5,38 \pm 1,18^*$	$25,86 \pm 0,79$	$64,29 \pm 1,08$

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$;*

• ***В подгруппе лабораторных животных, которым вводился препарат деринат:***

При подсчете числа митозов в клетках эритроидного дифферона выявлено значительное увеличение пролиферативной активности (МИ $9,40 \pm 2,33$, $P < 0,05$).

При подсчете числа митозов в клетках гранулоцитарного дифферона установлено увеличение значения митотического индекса (МИ $5,52 \pm 1,58$, $P < 0,05$).

При подсчете клеток в состоянии апоптоза эритроидного и гранулоцитарного ростков, отмечено, что уровень апоптоза отставался в пределах СУА.

Анализируя интенсивность регенерации в эритроидном и гранулоцитарном ростках, отмечено увеличение скорости клеточного обновления (ИКО $3,91 \pm 1,21$, $P < 0,05$ и $2,66 \pm 0,98$, $P < 0,05$ соответственно).

При подсчете микроядер в ретикулоцитах, установлено, что уровень образования микроядер находился в пределах СУМ.

При подсчете числа патологических митозов в эритроидном и гранулоцитарном ростках, не выявлено значимой разницы изучаемого показателя между опытной подгруппой и нормой.

Таблица 3.4.4.

Показатели регенераторной и мутагенной активности гемопоэтических клеток костного мозга лабораторных животных на 7 сутки на фоне введения препарата деринат, $M \pm m$, $n = 8$

Параметры	Значения
Митотический индекс эритроидного дифферона	$9,40 \pm 2,33^*$
Митотический индекс гранулоцитарного дифферона	$6,52 \pm 1,58^*$
Апоптотический индекс эритроидного дифферона	$2,56 \pm 0,40$
Апоптотический индекс гранулоцитарного дифферона	$2,28 \pm 0,26$
Индекс клеточного обновления эритроидного дифферона	$3,91 \pm 1,51^*$
Индекс клеточного обновления гранулоцитарного дифферона	$2,87 \pm 0,61^*$
Микроядерный тест	$4,50 \pm 0,62$
Патологические митозы эритроидного дифферона, %	$4,21 \pm 0,92$
Патологические митозы гранулоцитарного дифферона, %	$3,81 \pm 0,39$

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$;*

При подсчете миелограммы отмечено увеличение активности эритропоэза ($34,58 \pm 3,27$, $P < 0,05$), что обусловлено увеличением количества элементов пролиферирующего и созревающего пулов эритрона: эритробластов ($1,18 \pm 0,26$, $P < 0,05$), полихроматофильных ($22,63 \pm 2,77$, $P < 0,05$) и оксифильных нормобластов ($6,82 \pm 0,89$, $P < 0,05$).

Имело место, стимулирующее действие препарата на гранулоцитопозз ($75,05 \pm 7,03$, $P < 0,05$), что также было вызвано увеличением содержания клеток пролиферирующего и созревающего пулов: промиелоцитов ($3,60 \pm 0,82$, $P < 0,05$), миелоцитов ($13,11 \pm 1,44$, $P < 0,05$), метамиелоцитов ($16,39 \pm 1,39$, $P < 0,05$).

ГЭС соответствовало значению нормы, так как увеличение эритропоза и гранулоцитопоза было выражено в равной степени.

Показатели созревания цитоплазмы эритрономобластов и нейтрофилов не отличались от контрольных значений.

Таблица 3.4.5.

Показатели миелограммы лабораторных животных на 7 сутки на фоне введения препарата деринат, $M \pm m$, $n = 8$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток в %
Нейтрофильные клетки	миелобласты	$1,37 \pm 0,19$
	промиелоциты	$3,60 \pm 0,82^*$
	миелоциты	$13,11 \pm 1,44^*$
	метамиелоциты	$16,39 \pm 1,39^*$
	палочкоядерные и сегментоядерные	$39,77 \pm 3,67$
Эозинофилы (всех генераций)		$3,72 \pm 0,55$
Все гранулоцитарные элементы		$75,05 \pm 7,03^*$
Эритробласты		$1,18 \pm 0,26^*$
Нормобласты	базофильные	$3,94 \pm 0,72$
	полихроматофильные	$22,63 \pm 2,77^*$
	оксифильные	$6,82 \pm 0,89^*$
Все эритроидные элементы		$34,58 \pm 3,27^*$
Лимфоциты		$8,26 \pm 1,22$
Прочие		$3,18 \pm 1,41$
Индекс созревания нейтрофилов		$0,80 \pm 0,14$
Индекс созревания эритрономобластов		$0,85 \pm 0,02$
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		$2,20 \pm 0,33$

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$;

При подсчете ретикулоцитов ПК, подсчете лейкоцитарной формулы выявлен ретикулоцитоз и нейтрофильный гранулоцитоз, что обусловлено стимулирующим действием препарата на эритропоз и гранулоцитопоз.

При подсчете лейкоцитарной формулы, отмечено, что содержание лимфоцитов не отличалось от контрольных значений.

Таблица 3.4.6.

Показатели периферической крови лабораторных животных на 7сутки сутки на фоне введения препарата деринат, $M \pm m$, $n = 8$

Ретикулоциты, ‰	Гранулоциты, %	Лимфоциты, %
$6,70 \pm 0,80^*$	$28,70 \pm 2,07^*$	$66,03 \pm 1,34$

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$;*

• ***В подгруппе лабораторных животных, которым проводилось комбинированное введение тизоля и дерината:***

При подсчете числа митозов в клетках эритроидного и гранулоцитарного дифферонов отмечено значительное увеличение пролиферативной активности ($MI 7,37 \pm 1,94$, $P < 0,05$ и $5,88 \pm 1,16$, $P < 0,05$ соответственно).

При подсчете клеток в состоянии апоптоза в обоих изучаемых ростках, не отмечено изменения уровня апоптоза относительно СУА.

Интенсивность регенерации в эритроидном и гранулоцитарном дифферонах находилась в пределах значений нормы.

При подсчете микроядер в ретикулоцитах, установлено, что уровень образования микроядер находился в пределах СУМ.

Таблица 3.4.7.

Показатели регенераторной и мутагенной активности гемопозитических клеток костного мозга лабораторных животных на 7 сутки после комбинированного введения тизоля и дерината, $M \pm m$, $n = 8$

Параметры	Значения
Митотический индекс эритроидного дифферона	$7,37 \pm 1,94^*$
Митотический индекс гранулоцитарного дифферона	$5,88 \pm 1,16^*$

Апоптотический индекс эритроидного дифферона	$2,60 \pm 0,69$
Апоптотический индекс гранулоцитарного дифферона	$2,82 \pm 0,40$
Индекс клеточного обновления эритроидного дифферона	$3,03 \pm 1,14$
Индекс клеточного обновления гранулоцитарного дифферона	$2,15 \pm 0,39$
Микроядерный тест	$4,33 \pm 0,53$
Патологические митозы эритроидного дифферона, %	$5,20 \pm 0,73$
Патологические митозы гранулоцитарного дифферона, %	$2,33 \pm 0,36$

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$;*

При подсчете миелограммы, отмечено увеличение содержания отдельных эритроидных элементов: эритробластов ($1,25 \pm 0,31$, $P < 0,05$), базофильных нормобластов ($4,71 \pm 1,03$, $P < 0,05$). Несмотря на это, в целом, общего увеличения количества эритроидных элементов не наблюдалось.

Активность гранулоцитопозза также не отличалась от контрольных значений.

Таблица 3.4.8.

Показатели миелограммы лабораторных животных на 7 сутки после комбинированного введения тизоля и дерината, $M \pm m$, $n = 8$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток в %
Нейтрофильные клетки	миелобласты	$1,25 \pm 0,22$
	промиелоциты	$2,70 \pm 0,42$
	миелоциты	$10,88 \pm 1,69$
	метамиелоциты	$14,85 \pm 1,90$
	палочкоядерные и сегментоядерные	$36,77 \pm 3,18$
Эозинофилы (всех генераций)		$2,89 \pm 0,84$

Все гранулоцитарные элементы		68,85 ± 3,29
Эритробласты		1,25 ± 0,31*
Нормобласты	базофильные	4,71 ± 1,03*
	полихроматофильные	15,91 ± 2,41
	оксифильные	5,56 ± 1,17
Все эритроидные элементы		27,43 ± 2,67
Лимфоциты		10,30 ± 1,47
Прочие		5,02 ± 0,19
Индекс созревания нейтрофилов		0,81 ± 0,11
Индекс созревания эритронормобластов		0,78 ± 0,05
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		2,56 ± 0,29

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$;

При подсчете ретикулоцитов ПК, подсчете лейкоцитарной формулы, не установлено значимой разницы в содержании изучаемых элементов между опытной подгруппой и контролем.

Таблица 3.4.9.

Показатели периферической крови лабораторных животных на 7сутки сутки на фоне комбинированного введения тизоля и дерината, $M \pm m$, $n = 8$

Ретикулоциты, ‰	Гранулоциты, %	Лимфоциты, %
3,78 ± 0,40	26,58 ± 0,80	65,76 ± 1,74

Таким образом, **цитопротектор тизоль** на 1 сутки в отсутствии действия экстремального фактора не вызывал изменения ни одного из анализируемых параметров. К 7 суткам установлено стимулирующее действие на эритропоэз, реализующееся через усиление пролиферативной активности. В периферической крови был выявлен ретикулоцитоз.

Препарат **деринат** на 1 сутки вызывал стимуляцию митотической активности только в красном ростке и это не нашло дальнейшего отражения ни в скорости регенерации ни в увеличении клеточности в костном мозге. К 7 суткам было обнаружено увеличение количества митозов и в эритроэне и в

гранулоцитарном ростке, увеличилась интенсивность регенерации, произошло увеличение содержания элементов обоих изучаемых дифферонов. В периферической крови наблюдался ретикулоцитоз и нейтрофильный гранулоцитоз.

Комбинированное введение тизоля и дерината на 1 сутки, также как и введение цитопротектора тизоль не оказало значимого влияния на изменение изучаемых параметров. На 7 сутки выявлено увеличение митотической активности и в эритроидном ростке, но этого оказалось недостаточно для стимуляции эритропоэза и гранулоцитопоэза.

На фоне введения препаратов, в отсутствие действия экстремального фактора, как на 1 , так и на 7 сутки, уровень апоптоза и уровень патологических митозов не отличались от значений нормы.

• **В контрольной подгруппе:**

Таблица 3.4.10.

Показатели регенераторной и мутагенной активности гемопоэтических клеток костного мозга лабораторных животных на 7 сутки, $M \pm m$, $n = 8$

Параметры	Значения
Митотический индекс эритроидного дифферона	$4,53 \pm 0,40$
Митотический индекс гранулоцитарного дифферона	$4,09 \pm 0,98$
Апоптотический индекс эритроидного дифферона	$2,71 \pm 0,62$
Апоптотический индекс гранулоцитарного дифферона	$2,33 \pm 0,41$
Индекс клеточного обновления эритроидного дифферона	$1,85 \pm 0,24$
Индекс клеточного обновления гранулоцитарного дифферона	$1,95 \pm 0,64$
Микроядерный тест	

	$5,10 \pm 0,37$
Патологические митозы эритроидного дифферона, %	$6,14 \pm 0,89$
Патологические митозы гранулоцитарного дифферона, %	$2,56 \pm 0,31$

Таблица 3.4.11.

Показатели миелограммы лабораторных животных на 7 сутки, $M \pm m$, $n = 8$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток в %
Нейтрофильные клетки	миелобласты	$1,19 \pm 0,24$
	промиелоциты	$2,53 \pm 0,56$
	миелоциты	$9,90 \pm 0,74$
	метамиелоциты	$12,63 \pm 1,18$
	палочкоядерные и сегментоядерные	$34,03 \pm 2,97$
Эозинофилы (всех генераций)		$3,17 \pm 0,69$
Все гранулоцитарные элементы		$63,09 \pm 3,28$
Эритробласты		$0,77 \pm 0,20$
Нормобласты	базофильные	$2,84 \pm 0,73$
	полихроматофильные	$17,36 \pm 3,59$
	оксифильные	$3,54 \pm 0,89$
Все эритроидные элементы		$24,51 \pm 3,01$
Лимфоциты		$8,60 \pm 1,71$
Прочие		$4,12 \pm 0,16$
Индекс созревания нейтрофилов		$0,77 \pm 0,09$
Индекс созревания эритронормобластов		$0,85 \pm 0,03$
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		$2,62 \pm 0,32$

Таблица 3.4.12.

Показатели периферической крови лабораторных животных на 7сутки, $M \pm m$, $n = 8$

Ретикулоциты, ‰	Гранулоциты, %	Лимфоциты, %
$4,19 \pm 0,70$	$25,07 \pm 1,62$	$65,17 \pm 1,43$

4.5. Состояние костного мозга на 7 сутки у лабораторных животных подвергшихся радиационной нагрузке дозой 0,5 Гр на фоне проведения цитопротективной терапии.

- *В подгруппе лабораторных животных, которым вводился цитопротектор тизоль:*

При подсчете числа митозов в клетках эритроидного дифферона, отмечено увеличение пролиферативной активности по сравнению с контрольной подгруппой (МИ $5,70 \pm 0,85$, $P < 0,05$).

При подсчете числа митозов в клетках гранулоцитарного ростка, выявлено восстановление пролиферативной активности до значений нормы, но данный показатель не отличался от значения в контрольной подгруппе.

При подсчете клеток в состоянии апоптоза обоих изучаемых ростков, отмечено соответствие уровня апоптоза СУА.

Таким образом, важно подчеркнуть, что антиапоптогенное действие тизоля на гемопоэтические клетки костного мозга реализуется только в том случае, если имеет место значительное повышение уровня апоптоза (на 1 сутки при облучении дозой 0,5 Гр).

Анализируя интенсивность регенерации в эритроидном, отмечено увеличение скорости клеточного обновления (ИКО $2,21 \pm 0,29$, $P < 0,05$).

Интенсивность регенерации в гранулоцитарном диффероне не отличалась от контрольной подгруппы.

При подсчете микроядер в ретикулоцитах отмечено снижение уровня цитогенетически измененных клеток (МЯТ $3,38 \pm 0,50$, $P < 0,05$).

При подсчете числа патологических митозов в эритроидном и гранулоцитарном ростках, не выявлено значимой разницы в уровне аномальных митозов по сравнению с контрольной подгруппой и этот уровень соответствовал значению нормы.

Таблица 3.5.1.

Показатели регенераторной и мутагенной активности гемопоэтических клеток костного мозга лабораторных животных на 7 сутки после

воздействия ИИ дозой 0,5 Гр на фоне введения цитопротектора тизоль, $M \pm m$, $n = 8$

Параметры	Значения
Митотический индекс эритроидного дифферона	$5,70 \pm 0,85^{**}$
Митотический индекс гранулоцитарного дифферона	$2,70 \pm 0,65$
Апоптотический индекс эритроидного дифферона	$2,65 \pm 0,51$
Апоптотический индекс гранулоцитарного дифферона	$2,69 \pm 0,39$
Индекс клеточного обновления эритроидного дифферона	$2,21 \pm 0,29^{**}$
Индекс клеточного обновления гранулоцитарного дифферона	$1,02 \pm 0,22$
Микроядерный тест	$3,38 \pm 0,50^{**}$
Патологические митозы эритроидного дифферона, %	$6,36 \pm 0,60$
Патологические митозы гранулоцитарного дифферона, %	$2,55 \pm 0,64$

*Примечание: ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 0,5 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.*

При подсчете миелограммы отмечено стимулирующее действие цитопротектора на эритропоэз. Данный эффект обусловлен значительным увеличением содержания полихроматофильных нормобластов ($13,55 \pm 1,65$, $P < 0,05$ по сравнению с контрольной подгруппой). Таким образом, здесь нашло отражение действие препарата на клетки пролиферативного пула, которое ранее нами было выявлено.

Значимого влияния на гранулоцитопоэз выявлено не было и, содержание нейтрофилов достоверно не отличалось от контрольной подгруппы.

В целом, к 7 суткам количество элементов обоих ростков соответствовало норме.

Содержание лимфоцитов в костном мозге, сниженное на 1 сутки при данной дозе ИИ, к 7 суткам восстановилось и, не отличалось от контрольных значений.

Таблица 3.5.2.

Показатели миелограммы лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр на фоне введения цитопротектора тизоль, $M \pm m$, $n = 8$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток в %
Нейтрофильные клетки	миелобласты	$1,06 \pm 0,20$
	промиелоциты	$2,50 \pm 0,68$
	миелоциты	$10,91 \pm 0,56$
	метамиелоциты	$11,90 \pm 2,45$
	палочкоядерные и сегментоядерные	$32,04 \pm 3,81$
Эозинофилы (всех генераций)		$2,64 \pm 0,78$
Все гранулоцитарные элементы		$59,55 \pm 4,08$
Эритробласты		$0,79 \pm 0,19$
Нормобласты	базофильные	$2,50 \pm 0,60$
	полихроматофильные	$13,55 \pm 1,65^{**}$
	оксифильные	$3,14 \pm 0,77$
Все эритроидные элементы		$19,98 \pm 1,47^{**}$
Лимфоциты		$8,00 \pm 0,93$
Прочие		$1,01 \pm 0,04$
Индекс созревания нейтрофилов		$0,79 \pm 0,11$
Индекс созревания эритронормобластов		$0,83 \pm 0,03$
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		$3,00 \pm 0,32$

Примечание: *** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 0,5 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.*

При подсчете ретикулоцитов ПК, выявлено восстановление содержания ретикулоцитов в периферической крови до значений нормы, при этом

изучаемый показатель был выше, чем в контрольной подгруппе ($3,59 \pm 0,61$, $P < 0,05$).

При подсчете лейкоцитарной формулы, не установлено статистически значимой разницы в содержании гранулоцитов и лимфоцитов по сравнению с контрольной подгруппой. Однако следует отметить, что содержание гранулоцитов и лимфоцитов также не отличалось от значений нормы.

Таблица 3.5.3.

Показатели периферической крови лабораторных животных на 7сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр на фоне введения цитопротектора тизоль, $M \pm m$, $n = 8$

Ретикулоциты, ‰	Гранулоциты, %	Лимфоциты, %
$3,59 \pm 0,61^{**}$	$24,46 \pm 0,80$	$64,50 \pm 2,10$

*Примечание: ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 0,5 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.*

• ***В подгруппе лабораторных животных, которым вводился препарат деринат:***

При подсчете числа митозов в клетках эритроидного и гранулоцитарного дифференгов установлено повышение митотической активности относительно контрольной подгруппы ($MI\ 7,55 \pm 1,14$, $P < 0,05$ и $4,16 \pm 0,83$, $P < 0,05$ соответственно). Уровень пролиферативной активности клеток эритрона был выше, чем в норме.

При подсчете клеток в состоянии апоптоза эритроидного и гранулоцитарного дифференгов, не отмечено влияния препарата на уровень апоптоза, значения изучаемого показателя находились в пределах СУА.

Изучая интенсивность регенерации в эритроидном и гранулоцитарном дифферонах, отмечено повышение скорости клеточного обновления (ИКО $3,48 \pm 0,88$, $P < 0,05$ и $1,89 \pm 0,55$, $P < 0,05$ соответственно).

При подсчете микроядер в ретикулоцитах, выявлено отсутствие значимой разницы в уровне образования микроядер между опытной и контрольной подгруппами. Уровень образования микроядер соответствовал СУМ.

При подсчете числа патологических митозов в эритроидном и гранулоцитарном дифферонах, не установлено достоверной разницы в уровне патологических митозов между опытной и контрольной подгруппами. Уровень патологических митозов в обоих изучаемых ростках к 7 суткам соответствовал норме.

Таблица 3.5.4.

Показатели регенераторной и мутагенной активности гемопоэтических клеток костного мозга лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр на фоне введения препарата деринат, $M \pm m$, $n =$

8

Параметры	Значения
Митотический индекс эритроидного дифферона	$7,55 \pm 1,14^{* **}$
Митотический индекс гранулоцитарного дифферона	$4,16 \pm 0,83^{**}$
Апоптотический индекс эритроидного дифферона	$2,36 \pm 0,68$
Апоптотический индекс гранулоцитарного дифферона	$2,30 \pm 0,33$
Индекс клеточного обновления эритроидного дифферона	$3,48 \pm 0,88^{**}$
Индекс клеточного обновления гранулоцитарного дифферона	$1,89 \pm 0,55^{**}$
Микроядерный тест	$4,50 \pm 0,25$

Патологические митозы эритроидного дифферона, %	$5,90 \pm 0,75$
Патологические митозы гранулоцитарного дифферона, %	$3,18 \pm 0,88$

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 0,5 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.*

При подсчете миелограммы отмечено стимулирующее действие на эритропоэз ($21,98 \pm 1,25$, $P < 0,05$ по сравнению с контрольной подгруппой). Этот эффект обусловлен увеличением содержания базофильных нормобластов ($3,78 \pm 0,87$, $P < 0,05$). Процесс образования гемоглобинизированных форм не отличался от нормы.

Также отмечено стимулирующее действие на гранулоцитопоэз ($62,60 \pm 2,63$, $P < 0,05$ по сравнению с контрольной подгруппой). Имеет место увеличение содержания в костном мозге более зрелых форм нейтрофилов ($34,29 \pm 2,59$, $P < 0,05$).

Общее содержание элементов обоих ростков восстановилось и находилось в пределах значений нормы.

Значения ГЭС в опытной и контрольной подгруппах достоверно не отличались.

Содержание лимфоцитов сниженное при подобной лучевой нагрузке на 1 сутки восстановилось до значений нормы.

Таблица 3.5.5.

Показатели миелограммы лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр на фоне введения препарата деринат, $M \pm m$, $n =$

8

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток в %
Нейтрофильные	миелобласты	$1,25 \pm 0,10$

клетки	промиелоциты	$2,55 \pm 0,43$
	миелоциты	$10,26 \pm 1,05$
	метамиелоциты	$12,43 \pm 1,32$
	палочкоядерные и сегментоядерные	$34,29 \pm 2,59^{**}$
Эозинофилы (всех генераций)		$3,43 \pm 0,63$
Все гранулоцитарные элементы		$62,60 \pm 2,63^{**}$
Эритробласты		$0,84 \pm 0,20$
Нормобласты	базофильные	$3,78 \pm 0,87^{**}$
	полихроматофильные	$13,11 \pm 2,16$
	оксифильные	$4,25 \pm 1,09$
Все эритроидные элементы		$21,98 \pm 1,25^{**}$
Лимфоциты		$7,51 \pm 1,09$
Прочие		$1,15 \pm 0,07$
Индекс созревания нейтрофилов		$0,74 \pm 0,15$
Индекс созревания эритронормобластов		$0,79 \pm 0,05$
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		$2,86 \pm 0,20$

*Примечание: ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 0,5 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.*

При подсчете ретикулоцитов ПК, подсчете лейкоцитарной формулы, выявлено восстановление содержания изучаемых элементов до значений нормы, при этом уровень ретикулоцитов и гранулоцитов был выше, чем в контрольной подгруппе.

Таблица 3.5.6.

Показатели периферической крови лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр на фоне введения препарата деринат, $M \pm m$, $n = 8$

Ретикулоциты, %	Гранулоциты, %	Лимфоциты, %
$3,39 \pm 0,42^{**}$	$25,09 \pm 1,34^{**}$	$66,14 \pm 1,45$

*Примечание: ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 0,5 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.*

- В подгруппе лабораторных животных, которым проводилось комбинированное введение тизоля и дерината:

При подсчете числа митозов в клетках эритроидного и гранулоцитарного дифференгов, выявлено увеличение значения митотического индекса (МИ $7,36 \pm 0,81$, $P < 0,05$ и $4,28 \pm 1,42$, $P < 0,05$) по сравнению с контрольной группой.

При подсчете клеток в состоянии апоптоза эритроидного и гранулоцитарного дифференгов, не установлено значимой разницы в уровне апоптоза между опытной и контрольной подгруппами. Уровень апоптоза соответствовал СУА.

Интенсивность регенерации в эритроидном и гранулоцитарном ростках на фоне проводимой терапии восстановилась и на 7 сутки соответствовала значениям нормы и в то же время была выше, чем в контрольной подгруппе (ИКО $2,80 \pm 0,60$, $P < 0,05$ и $1,75 \pm 0,58$, $P < 0,05$ соответственно).

При подсчете микроядер в ретикулоцитах, установлено отсутствие значимой разницы в уровне образования цитогенетически измененных клеток между опытной и контрольной подгруппами. Уровень образования микроядер соответствовал СУМ.

При подсчете числа патологических митозов в эритроидном и гранулоцитарном дифференгах, не отмечено значимой разницы исследуемого показателя по сравнению с контрольной подгруппой.

Уровень патологических митозов в обоих изучаемых ростках к 7 суткам соответствовал норме.

Таблица 3.5.7.

Показатели регенераторной и мутагенной активности гемопоэтических клеток костного мозга лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр на фоне комбинированного введения тизоля и дерината, $M \pm m$, $n = 8$

Параметры	Значения
-----------	----------

Митотический индекс эритроидного дифферона	$7,36 \pm 0,81^{* **}$
Митотический индекс гранулоцитарного дифферона	$4,28 \pm 1,42^{**}$
Апоптотический индекс эритроидного дифферона	$2,74 \pm 0,56$
Апоптотический индекс гранулоцитарного дифферона	$2,39 \pm 0,34$
Индекс клеточного обновления эритроидного дифферона	$2,80 \pm 0,60^{**}$
Индекс клеточного обновления гранулоцитарного дифферона	$1,75 \pm 0,58^{**}$
Микроядерный тест	$5,00 \pm 0,25$
Патологические митозы эритроидного дифферона, %	$6,14 \pm 0,69$
Патологические митозы гранулоцитарного дифферона, %	$2,84 \pm 0,57$

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 0,5 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.*

При подсчете миелограммы, отмечено стимулирующее действие на эритропоэз. Увеличение общего содержания элементов красного ростка связано с увеличением базофильных ($3,93 \pm 0,58$, $P < 0,05$), полихроматофильных ($14,68 \pm 1,89$, $P < 0,05$) и оксифильных нормобластов ($5,76 \pm 0,69$, $P < 0,05$).

Выявленная стимуляция гранулоцитопоэза обусловлена влиянием проводимой терапии на миелоциты ($11,50 \pm 1,34$, $P < 0,05$) и эозинофилы ($3,09 \pm 0,61$, $P < 0,05$).

Общее количество эритроидных и гранулоцитарных элементов соответствовало норме.

ГЭС не отличалось от контрольных значений, что обусловлено стимуляцией изучаемых ростков в равной степени.

Содержание лимфоцитов в костном мозге восстановилось к 7 суткам и, не отличалось от контрольных значений.

Таблица 3.5.8.

Показатели миелограммы лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр на фоне комбинированного введения тизоля и дерината, $M \pm m$, $n = 8$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток в %
Нейтрофильные клетки	миелобласты	$1,33 \pm 0,20$
	промиелоциты	$2,79 \pm 0,36$
	миелоциты	$11,50 \pm 1,34^{**}$
	метамиелоциты	$11,30 \pm 1,80$
	палочкоядерные и сегментоядерные	$30,73 \pm 2,45$
Эозинофилы (всех генераций)		$3,09 \pm 0,61^{**}$
Все гранулоцитарные элементы		$60,73 \pm 2,90^{**}$
Эритробласты		$0,63 \pm 0,20$
Нормобласты	базофильные	$3,93 \pm 0,58^{**}$
	полихроматофильные	$14,68 \pm 1,89^{**}$
	оксифильные	$5,76 \pm 0,69^{**}$
Все эритроидные элементы		$22,90 \pm 4,45^{**}$
Лимфоциты		$6,81 \pm 0,93$
Прочие		$1,27 \pm 0,05$
Индекс созревания нейтрофилов		$0,89 \pm 0,09$
Индекс созревания эритронормобластов		$0,77 \pm 0,09$
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		$3,12 \pm 1,24$

Примечание: ****** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 0,5 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.

При подсчете ретикулоцитов ПК, подсчете лейкоцитарной формулы, выявлено увеличение содержания ретикулоцитов. Содержание нейтрофилов, лимфоцитов, ретикулоцитов восстановилось к 7 суткам до значений нормы.

Таблица 3.5.9.

Показатели периферической крови лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр на фоне комбинированного введения тизоля и дерината, $M \pm m$, $n = 8$

Ретикулоциты, ‰	Гранулоциты, %	Лимфоциты, %
$3,84 \pm 0,62^{**}$	$24,30 \pm 0,98$	$64,04 \pm 1,31$

*Примечание: ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 0,5 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.*

Таким образом, **цитопротектор тизоль** на 7 сутки действовал на эритрон, где он увеличивал митотическую активность, регенерацию, вызывал увеличение общего содержания эритроидных элементов в костном мозге и ретикулоцитов в периферической крови. В это время он уже не оказывал значимого влияния на апоптоз и уровень патологических митозов.

На 1 сутки при данной дозе лучевой нагрузки действие тизоля заключалось в выраженном антиапоптогенном действии на оба изучаемых ростка. Полученные результаты свидетельствуют, что тизоль снижает апоптоз в костном мозге только в случае его значительного повышения относительно СУА.

Препарат **деринат** на 7 сутки оказывал действие схожее с тем, которое мы наблюдали в отсутствии действия экстремального фактора. Также увеличивалась пролиферативная активность, регенерация эритроидного и гранулоцитарного ростков; увеличивалось общее содержание элементов эритрона и гранулоцитарного ростка, в периферии наблюдалось увеличение содержания ретикулоцитов и гранулоцитов.

На уровень патологических митозов и апоптоз значимого влияния деринат не оказывал.

На 1 сутки при данной дозе лучевой нагрузки деринат проявил тропность к гранулоцитарному ростку.

Комбинированное введение препаратов **тизоля и дерината** на 7 сутки вызывало увеличение митозов, стимуляцию регенерации, увеличение содержания клеток в обоих изучаемых ростках, восстановление содержания ретикулоцитов и нейтрофилов в периферической крови до значений нормы. На уровень патологических митозов и апоптоз значимого влияния комплексная терапия не оказывала.

На 1 сутки при данной дозе лучевой нагрузки терапевтический эффект был отмечен в отношении только эритроидного ростка.

• **В контрольной подгруппе:**

При подсчете числа митозов в клетках эритроидного и гранулоцитарного ростков, установлено восстановление пролиферативной активности сниженной после воздействия ИИ на 1 сутки.

При подсчете клеток в состоянии апоптоза эритроидного и гранулоцитарного дифферонов, отмечено восстановление уровня апоптоза до значений СУА.

Интенсивность регенерации в обоих изучаемых ростках не отличалась от контрольных значений.

При подсчете микроядер в ретикулоцитах, отмечено, что уровень образования микроядер соответствовал СУМ.

При подсчете числа патологических митозов в эритроидном и гранулоцитарном ростках, выявлено восстановление уровня патологических митозов до значений нормы.

Таблица 3.5.10.

Показатели регенераторной и мутагенной активности гемопоэтических клеток костного мозга лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр, $M \pm m$, $n = 8$

Параметры	Значения
Митотический индекс эритроидного дифферона	$4,46 \pm 0,60$
Митотический индекс гранулоцитарного	

дифферона	
Апоптотический индекс эритроидного дифферона	2.48 ± 0.34
Апоптотический индекс гранулоцитарного дифферона	2.50 ± 0.58
Индекс клеточного обновления эритроидного дифферона	1.84 ± 0.31
Индекс клеточного обновления гранулоцитарного дифферона	1.10 ± 0.21
Микроядерный тест	7.17 ± 1.49
Патологические митозы эритроидного дифферона, %	6.75 ± 0.75
Патологические митозы гранулоцитарного дифферона, %	3.65 ± 0.36

При подсчете миелограммы, выявлено сниженное общее содержание эритроидных элементов ($16,68 \pm 1,29$, $P < 0,05$). Произошло восстановление численности до значений нормы эритробластов, базофильных и полихроматофильных нормобластов. Однако оставалось сниженным количество оксифильных нормобластов ($2,61 \pm 0,84$, $P < 0,05$).

Общее содержание гранулоцитов также оставалось ниже контрольных значений ($52,03 \pm 2,12$, $P < 0,05$). К 7 суткам восстановилось содержание миелобластов, промиелоцитов, миелоцитов, метамиелоцитов. Количество более зрелых форм нейтрофилов (палочкоядерные и сегментоядерные) было ниже показателей нормы ($27,03 \pm 1,94$, $P < 0,05$).

Несмотря на уменьшение общего содержания элементов красного и гранулоцитарного ростков, показатель ГЭС был в пределах значений нормы. Содержание лимфоцитов, сниженное, на 1 сутки восстановилось до контрольных значений.

Таблица 3.5.11.

Показатели миелограммы лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр, $M \pm m$, $n = 8$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток в %
Нейтрофильные клетки	миелобласты	$1,13 \pm 0,35$
	промиелоциты	$2,45 \pm 0,32$
	миелоциты	$9,27 \pm 1,17$
	метамиелоциты	$12,16 \pm 1,50$
	палочкоядерные и сегментоядерные	$27,03 \pm 1,94^*$
Эозинофилы (всех генераций)		$1,76 \pm 0,45$
Все гранулоцитарные элементы		$52,03 \pm 2,12^*$
Эритробласты		$0,57 \pm 0,18$
Нормобласты	базофильные	$2,61 \pm 0,74$
	полихроматофильные	$10,96 \pm 1,99$
	оксифильные	$2,61 \pm 0,84^*$
Все эритроидные элементы		$16,68 \pm 1,29^*$
Лимфоциты		$6,87 \pm 0,85$
Прочие		$1,08 \pm 0,06$
Индекс созревания нейтрофилов		$0,88 \pm 0,18$
Индекс созревания эритронобластов		$0,81 \pm 0,05$
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		$3,14 \pm 0,35$

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$.

При подсчете ретикулоцитов ПК, подсчете лейкоцитарной формулы, выявлено снижение содержания ретикулоцитов, нейтрофильных гранулоцитов, лимфоцитов. То есть к 7 суткам не произошло полного восстановления содержания в периферической крови указанных элементов.

Таблица 3.5.12.

Показатели периферической крови лабораторных животных на 7сутки после воздействия ИИ дозой 0,5, $M \pm m$, $n = 8$

Ретикулоциты, ‰	Гранулоциты, %	Лимфоциты, %
$2,63 \pm 0,52^*$	$22,89 \pm 1,29^*$	$64,34 \pm 1,50^*$

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$;

4.6. Состояние костного мозга на 7 сутки у лабораторных животных подвергшихся радиационной нагрузке дозой 3 Гр на фоне введения препаратов.

- В подгруппе лабораторных животных, которым вводился цитопротектор тизоль:

При подсчете числа митозов в клетках эритроидного и гранулоцитарного дифферона, не выявлено значимого влияния на митотическую активность.

При подсчете клеток в состоянии апоптоза эритроидного дифферона, установлено значимое снижение апоптоза по сравнению с контрольной подгруппой ($AI\ 2,83 \pm 0,24$, $P < 0,05$).

При подсчете клеток в состоянии апоптоза гранулоцитарного дифферона, также как и в случае с облученными лабораторными животными дозой 0,5 Гр, не отмечено изменения выраженности апоптоза на 7 сутки.

Интенсивность регенерации в эритроидном диффероне, была выше, чем в контрольной подгруппе и восстановилась до значений нормы. Увеличение скорости регенерации клеточного обновления на 7 сутки мы наблюдали и при облучении 0,5 Гр.

Интенсивность регенерации в гранулоцитарном диффероне, как и в предыдущем случае (0,5 Гр) восстановилась до значений нормы и, статистически не отличалась от значений ИКО в контрольной подгруппе.

При подсчете микроядер в ретикулоцитах вновь выявлено снижение уровня образования цитогенетически измененных клеток ($МЯТ\ 5,93 \pm 1,00$, $P < 0,05$) и данный уровень соответствовал СУМ.

При подсчете числа патологических митозов в эритроидном диффероне, выявлено снижение количества подобных митозов по сравнению с контрольной подгруппой ($7,29 \pm 0,56$, $P < 0,05$).

При подсчете числа патологических митозов в гранулоцитарном диффероне, не отмечено значимой разницы изучаемого показателя между опытной и контрольной подгруппами.

В целом, следует отметить, что к 7 суткам не произошло восстановления уровня патологических митозов до значений нормы, они превышали аналогичные показатели в контрольной группе.

Таблица 3.6.1.

Показатели регенераторной и мутагенной активности гемопоэтических клеток костного мозга лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр на фоне введения цитопротектора тизоль, $M \pm m$, $n = 8$

Параметры	Значения
Митотический индекс эритроидного дифферона	$4,51 \pm 0,61$
Митотический индекс гранулоцитарного дифферона	$2,33 \pm 0,36$
Апоптотический индекс эритроидного дифферона	$2,83 \pm 0,24^{**}$
Апоптотический индекс гранулоцитарного дифферона	$2,43 \pm 0,31$
Индекс клеточного обновления эритроидного дифферона	$1,64 \pm 0,33^{**}$
Индекс клеточного обновления гранулоцитарного дифферона	$1,00 \pm 0,25$
Микроядерный тест	$5,93 \pm 1,00^{**}$
Патологические митозы эритроидного дифферона, %	$7,29 \pm 0,56^{* **}$
Патологические митозы гранулоцитарного дифферона, %	$5,93 \pm 0,82^{*}$

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 3 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.*

При подсчете миелограммы отмечено восстановление активности эритропоэза и гранулоцитопоэза. Однако не произошло полного

восстановления содержания отдельных элементов эритрона (полихроматофильных и оксифильных нормобластов) и гранулоцитарного ростка (метамиелоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных форм нейтрофилов).

Содержание лимфоцитов на 7 сутки было ниже значений нормы, в то время как на 1 сутки оно статистически не отличалось от значений в контрольной подгруппе. Полученные данные свидетельствуют о том, что препарат не оказал значимого влияния лимфопоз.

Таблица 3.6.2.

Показатели миелограммы лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр на фоне введения цитопротектора тизоль, $M \pm m$, $n = 8$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток в %
Нейтрофильные клетки	миелобласты	$1,09 \pm 0,24$
	промиелоциты	$2,09 \pm 0,30$
	миелоциты	$7,26 \pm 0,95$
	метамиелоциты	$7,33 \pm 1,09^*$
	палочкоядерные и сегментоядерные	$23,81 \pm 2,39^*$
Эозинофилы (всех генераций)		$1,90 \pm 0,29$
Все гранулоцитарные элементы		$43,47 \pm 3,31^*$
Эритробласты		$0,53 \pm 0,18$
Нормобласты	базофильные	$2,09 \pm 0,58$
	полихроматофильные	$7,63 \pm 1,46^*$
	оксифильные	$2,46 \pm 0,52^*$
Все эритроидные элементы		$12,70 \pm 1,49^*$
Лимфоциты		$5,40 \pm 0,74^*$
Прочие		$1,27 \pm 0,09$
Индекс созревания нейтрофилов		$0,75 \pm 0,09$
Индекс созревания эритронормобластов		$0,79 \pm 0,03$
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		$3,49 \pm 0,49$

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$;

При подсчете ретикулоцитов ПК, подсчете лейкоцитарной формулы, не установлено значимой разницы в содержании анализируемых элементов по сравнению с контрольной подгруппой. При этом их уровень был достоверно ниже границы нормы.

Таблица 3.6.3.

Показатели периферической крови лабораторных животных на 7сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр на фоне введения цитопротектора тизоль, $M \pm m$, $n = 8$

Ретикулоциты, ‰	Гранулоциты, %	Лимфоциты, %
$2,29 \pm 0,32^*$	$20,54 \pm 1,21^*$	$61,53 \pm 1,88^*$

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$.*

• **В подгруппе лабораторных животных, которым вводился препарат деринат:**

При подсчете числа митозов в клетках эритроидного ростка, не отмечено стимуляция митотической активности, которая ранее наблюдалась на 7 сутки (0 Гр, 0,5 Гр).

При подсчете числа митозов в клетках гранулоцитарного дифферона, вновь имеет место увеличение количества митозов (МИ $4,29 \pm 0,41$, $P < 0,05$). Эта закономерность отмечена и в других случаях (0 Гр, 0,5 Гр).

При подсчете клеток в состоянии апоптоза эритроидного дифферона, обнаружено снижение апоптоза (АИ $2,94 \pm 0,45$, $P < 0,05$), при этом уровень апоптоза соответствовал СУА.

При подсчете клеток в состоянии апоптоза гранулоцитарного ростка, не установлено изменения выраженности апоптоза относительно СУА и данных в контрольной подгруппе.

Произошло восстановление интенсивности регенерации в эритроидном и гранулоцитарном дифферонах; здесь имеет место увеличение скорости

регенерации по сравнению с контрольной подгруппой (ИКО $1,79 \pm 0,33$, $P < 0,05$ и $1,89 \pm 0,30$, $P < 0,05$ соответственно).

При подсчете микроядер в ретикулоцитах установлено значение уровня образования микроядер, которое соответствовало СУМ.

При подсчете числа патологических митозов в эритроидном диффероне, не отмечено изменения уровня аномальных митозов по сравнению с контрольной подгруппой и их уровень к 7 суткам превышал значения нормы.

При подсчете числа патологических митозов в гранулоцитарном диффероне, выявлено значимое снижение патологических митозов ($3,86 \pm 0,76$, $P < 0,05$), при этом данный показатель был сопоставим с нормой.

Таблица 3.6.4.

Показатели регенераторной и мутагенной активности гемопоэтических клеток костного мозга лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр на фоне введения препарата деринат, $M \pm m$, $n = 8$

Параметры	Значения
Митотический индекс эритроидного дифферона	$5,14 \pm 0,55$
Митотический индекс гранулоцитарного дифферона	$4,29 \pm 0,41^{**}$
Апоптотический индекс эритроидного дифферона	$2,94 \pm 0,45^{**}$
Апоптотический индекс гранулоцитарного дифферона	$2,39 \pm 0,34$
Индекс клеточного обновления эритроидного дифферона	$1,79 \pm 0,33^{**}$
Индекс клеточного обновления гранулоцитарного дифферона	$1,89 \pm 0,30^{**}$
Микроядерный тест	$7,52 \pm 0,75$
Патологические митозы эритроидного дифферона, %	$6,23 \pm 0,87$

Патологические митозы гранулоцитарного дифферона, %	$3,86 \pm 0,76^{**}$
--	----------------------

*Примечание: ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 3 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.*

При подсчете миелограммы, установлено повышение активности гранулоцитопоза ($49,60 \pm 2,80$, $P < 0,05$ по сравнению с контрольной подгруппой). Это действие обусловлено влиянием препарата на следующие элементы: промиелоциты ($2,69 \pm 0,34$, $P < 0,05$), миелоциты ($8,86 \pm 0,90$, $P < 0,05$). Однако общее содержание гранулоцитов оставалось ниже границы нормы, так как не произошло на фоне терапии полного восстановления численности миелоцитов, метамиелоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных форм нейтрофилов.

Активность эритропоза также оставалась сниженной, здесь не соответствовало значениям нормы содержание полихроматофильных и оксифильных нормобластов.

Значение ГЭС в опытной подгруппе, превышало значение этого показателя в норме, так как имело место относительное преобладание нейтрофилов.

На фоне проводимой терапии содержание лимфоцитов восстановилось и соответствовало значениям нормы.

Таблица 3.6.5.

Показатели миелограммы лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр на фоне введения препарата деринат, $M \pm m$, $n = 8$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток в %
Нейтрофильные клетки	миелобласты	$1,09 \pm 0,24$
	промиелоциты	$2,69 \pm 0,34^{**}$
	миелоциты	$8,86 \pm 0,90^{* **}$
	метамиелоциты	$8,45 \pm 0,86^{*}$
	палочкоядерные и сегментоядерные	$26,25 \pm 2,18^{*}$
Эозинофилы (всех генераций)		$2,26 \pm 0,64$

Все гранулоцитарные элементы		$49,60 \pm 2,80^* **$
Эритробласты		$0,60 \pm 0,23$
Нормобласты	базофильные	$2,34 \pm 0,64$
	полихроматофильные	$6,51 \pm 1,26^*$
	оксифильные	$2,23 \pm 0,38^*$
Все эритроидные элементы		$11,40 \pm 1,63^*$
Лимфоциты		$6,65 \pm 0,53^{**}$
Прочие		$2,36 \pm 1,04$
Индекс созревания нейтрофилов		$0,81 \pm 0,07$
Индекс созревания эритронормобластов		$0,73 \pm 0,08$
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		$4,45 \pm 0,50^*$

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 3 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.*

При подсчете ретикулоцитов ПК, подсчете лейкоцитарной формулы, выявлено сниженное содержание ретикулоцитов и нейтрофильных гранулоцитов в периферической крови, что отражает состояние процессов восстановления в костном мозге. Однако отмечено восстановление содержания лимфоцитов до значений нормы, что свидетельствует о возможности дерината усиливать лимфопозз.

Таблица 3.6.6.

Показатели периферической крови лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр на фоне введения препарата деринат, $M \pm m$, $n = 8$

Ретикулоциты, ‰	Гранулоциты, %	Лимфоциты, %
$2,37 \pm 0,38^*$	$22,66 \pm 1,25^*$	$64,04 \pm 1,25^{**}$

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 3 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.*

- В подгруппе лабораторных животных, которым проводилось комбинированное введение тизоля и дерината:*

При подсчете числа митозов в клетках эритроидного и гранулоцитарного дифферонов, выявлено увеличение митотической активности (МИ $5,70 \pm 0,66$, $P < 0,05$ и $3,83 \pm 1,03$, $P < 0,05$ соответственно). Подобное действие было отмечено и ранее (0 Гр, 0,5 Гр).

При подсчете клеток в состоянии апоптоза эритроидного дифферона, установлено снижение апоптоза (АИ $2,56 \pm 0,44$, $P < 0,05$) и уровень апоптоза соответствовал СУА.

При подсчете клеток в состоянии апоптоза гранулоцитарного дифферона, значимого изменения уровня апоптоза не отмечено.

Интенсивность регенерации в эритроидном и гранулоцитарном дифферонах на фоне проводимой терапии восстановилась до значений нормы, и достоверно была выше скорости клеточного обновления в контрольной подгруппе (ИКО $2,34 \pm 0,50$, $P < 0,05$ и $1,52 \pm 0,34$, $P < 0,05$ соответственно).

При подсчете микроядер в ретикулоцитах, установлено снижение мутагенной активности по сравнению с контрольной подгруппой (МЯТ $6,05 \pm 0,42$, $P < 0,05$).

При подсчете числа патологических митозов в эритроидном ростке, отмечено восстановление численности аномальных митозов до значений нормы.

При подсчете числа патологических митозов в эритроидном ростке, установлено снижение количества патологических митозов по сравнению с контрольной подгруппой ($3,57 \pm 0,65$, $P < 0,05$) и этот показатель соответствовал значению нормы.

Таблица 3.6.7.

Показатели регенераторной и мутагенной активности гемопоэтических клеток костного мозга лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр на фоне введения комбинированного тизоля и дерината, $M \pm m$, $n = 8$

Параметры	Значения
Митотический индекс эритроидного дифферона	$5,70 \pm 0,66^{**}$
Митотический индекс гранулоцитарного дифферона	$3,83 \pm 1,03^{**}$
Апоптотический индекс эритроидного дифферона	$2,56 \pm 0,44^{**}$
Апоптотический индекс гранулоцитарного дифферона	$2,51 \pm 0,24$
Индекс клеточного обновления эритроидного дифферона	$2,34 \pm 0,50^{**}$
Индекс клеточного обновления гранулоцитарного дифферона	$1,52 \pm 0,34^{**}$
Микроядерный тест	$6,05 \pm 0,42^{**}$
Патологические митозы эритроидного дифферона, %	$6,31 \pm 0,78$
Патологические митозы гранулоцитарного дифферона, %	$3,57 \pm 0,65$

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 3 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.*

При подсчете миелограммы обнаружено увеличение активности эритропоэза и гранулоцитопоза ($14,83 \pm 2,14$, $P < 0,05$ и $52,16 \pm 2,62$, $P < 0,05$ соответственно, по сравнению с контрольной подгруппой).

Отмечено увеличение содержания следующих эритроидных элементов: базофильных ($2,81 \pm 0,47$, $P < 0,05$) и полихроматофильных нормобластов ($9,20 \pm 1,94$, $P < 0,05$). По сравнению с нормой, общее количество эритроидных элементов оставалось ниже границы нормы, так как не произошло полного восстановления численности полихроматофильных и оксифильных нормобластов.

Стимуляция гранулоцитопоза связана с увеличением содержания миелоцитов ($9,64 \pm 1,09$, $P < 0,05$) и более зрелых форм нейтрофилов (подсчитаны палочкоядерные и сегментоядерные $28,30 \pm 1,60$, $P < 0,05$).

Общее количество гранулоцитов также было меньше нижней границы нормы, поскольку оставалось сниженным содержание метамиелоцитов и зрелых форм нейтрофилов.

Индекс созревания цитоплазмы эритронормобластов и нейтрофилов соответствовали значениям нормы.

Не выявлено значимой разницы значения ГЭС между опытной подгруппой и контрольной группой.

К 7 суткам на фоне проводимой терапии произошло восстановление численности лимфоцитов до значений нормы.

Таблица 3.6.8.

Показатели миелограммы лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр на фоне комбинированного введения тизоля и дерината, $M \pm m$, $n = 8$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток в %
Нейтрофильные клетки	миелобласты	$1,16 \pm 0,24$
	промиелоциты	$2,21 \pm 0,47$
	миелоциты	$9,64 \pm 1,09^{**}$
	метамиелоциты	$8,14 \pm 0,93^{*}$
	палочкоядерные и сегментоядерные	$28,30 \pm 1,60^{* **}$
Эозинофилы (всех генераций)		$1,56 \pm 0,35$
Все гранулоцитарные элементы		$52,16 \pm 2,62^{* **}$
Эритробласты		$0,50 \pm 0,11$
Нормобласты	базофильные	$2,81 \pm 0,47^{**}$
	полихроматофильные	$9,20 \pm 1,94^{* **}$
	оксифильные	$2,31 \pm 0,51^{*}$
Все эритроидные элементы		$14,83 \pm 2,14^{* **}$
Лимфоциты		$6,84 \pm 0,95^{**}$
Прочие		$1,74 \pm 0,06$
Индекс созревания нейтрофилов		$0,75 \pm 0,07$

Индекс созревания эритронормобластов	0,77 ± 0,05
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение	3,52 ± 0,42

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 3 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.

При подсчете ретикулоцитов ПК, подсчете лейкоцитарной формулы, установлено увеличение содержания ретикулоцитов, нейтрофильных гранулоцитов, лимфоцитов по сравнению с контрольной подгруппой, тем не менее, содержание ретикулоцитов и гранулоцитов оставалось ниже значений нормы.

Таблица 3.6.9.

Показатели периферической крови лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр на фоне комбинированного введения тизоля и дерината, $M \pm m$, $n = 8$

Ретикулоциты, %	Гранулоциты, %	Лимфоциты, %
2,46 ± 0,29* **	23,17 ± 1,15* **	65,21 ± 1,04 **

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 3 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.

Таким образом, **цитопротектор тизоль** после проведенного курса, оказывает стимулирующее действие на регенерацию эритрона. При облучении дозой 0,5 Гр и у подгруппы необлученных животных, данный эффект достигается за счет влияния препарата на пролиферативную активность, а при значительной лучевой нагрузке (3Гр) за счет антиапоптогенного действия. В последнем случае тизоль также достоверно снижает уровень патологических митозов в эритроидном ростке.

Монотерапия **деринатом** вызывала увеличение регенерации в обоих изучаемых ростках. Это достигалось за счет влияния препарата на

митотическую активность а в эритроидном ростке также за счет снижения апоптоза. На фоне снижения апоптоза в красном ростке уровень патологических митозов был достоверно ниже, чем в контрольной подгруппе. Как следствие стимуляции регенерации наблюдалось увеличение элементов гранулоцитарного (0 Гр и 0,5 Гр) и эритроидного ростка (0 Гр, 0,5 Гр, 3 Гр), что находило свое отражение в содержании элементов в периферической крови.

На фоне **комплексной терапии** было выявлено увеличение регенерации в обоих изучаемых ростках, снижение уровня апоптоза и количества патологических митозов в эритроидном диффероне. В периферической крови достоверное увеличение по сравнению с контрольной группой ретикулоцитов, гранулоцитов, лимфоцитов.

• **В контрольной подгруппе:**

При подсчете числа митозов в клетках эритроидного и гранулоцитарного дифферонов, выявлено восстановление пролиферативной активности, которая на 7 сутки соответствовала значениям нормы.

При подсчете клеток в состоянии апоптоза эритроидного дифферона, отмечено, что сохраняется высокий апоптоз, в то время как при подсчете клеток в состоянии апоптоза гранулоцитарного дифферона, выявлено восстановление уровня апоптоза до контрольных значений.

Интенсивность регенерации в эритроидном диффероне оставалась сниженной, при этом, интенсивность регенерации в гранулоцитарном диффероне не отличалась от нормы.

Таким образом, следует отметить, что элементы красного ростка проявили большую чувствительность к повреждающему действию ИИ.

При подсчете микроядер в ретикулоцитах выявлена повышенная мутагенная активность.

При подсчете числа патологических митозов в эритроидном и гранулоцитарном ростках, выявлено повышенное содержание аномальных митозов.

Таблица 3.6.10.

Показатели регенераторной и мутагенной активности гемопоэтических клеток костного мозга лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр, $M \pm m$, $n = 8$

Параметры	Значения
Митотический индекс эритроидного дифферона	$4,24 \pm 0,70$
Митотический индекс гранулоцитарного дифферона	$2,11 \pm 0,24$
Апоптотический индекс эритроидного дифферона	$3,91 \pm 0,42^*$
Апоптотический индекс гранулоцитарного дифферона	$2,19 \pm 0,42$
Индекс клеточного обновления эритроидного дифферона	$1,09 \pm 0,16^*$
Индекс клеточного обновления гранулоцитарного дифферона	$1,02 \pm 0,20$
Микроядерный тест	$9,15 \pm 0,75^*$
Патологические митозы эритроидного дифферона, %	$8,47 \pm 0,88^*$
Патологические митозы гранулоцитарного дифферона, %	$6,70 \pm 0,63^*$

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$;*

При подсчете миелограммы, установлена сниженная активность эритропоэза. Это вызвано тем, не произошло полного восстановления содержания полихроматофильных и оксифильных нормобластов.

Активность гранулоцитопоэза также была ниже группы контроля вследствие сниженного содержания миелоцитов, метамиелоцитов, зрелых форм нейтрофилов.

Значения ИСЭНбл и ИСН на 7 сутки в контрольных и в опытных подгруппах соответствовали значению нормы.

ГЭС было достоверно выше значений в контрольной группе, что связано с относительно большей радиочувствительностью эритрона.

Полноценного восстановления лимфопоэза к 7 суткам не произошло, это нашло свое отражение в сниженном содержании лимфоцитов на 7 сутки.

При облучении дозой 0,5 Гр имело место обратная картина содержание лимфоцитов на 1 сутки было значительно выше нормы, но к 7 суткам произошло восстановление их численности в костном мозге.

Таблица 3.6.11.

Показатели миелограммы лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр, $M \pm m$, $n = 8$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток в %
Нейтрофильные клетки	миелобласты	$1,04 \pm 0,20$
	промиелоциты	$2,14 \pm 0,42$
	миелоциты	$7,56 \pm 1,05^*$
	метамиелоциты	$7,21 \pm 1,09^*$
	палочкоядерные и сегментоядерные	$24,75 \pm 2,69^*$
Эозинофилы (всех генераций)		$1,59 \pm 0,36$
Все гранулоцитарные элементы		$44,03 \pm 4,18^*$
Эритробласты		$0,55 \pm 0,13$
Нормобласты	базофильные	$2,13 \pm 0,58$
	полихроматофильные	$6,36 \pm 1,40^*$
	оксифильные	$2,34 \pm 0,32^*$
Все эритроидные элементы		$10,58 \pm 2,23^*$
Лимфоциты		$5,50 \pm 0,80^*$
Прочие		$2,52 \pm 1,37$
Индекс созревания нейтрофилов		$0,72 \pm 0,07$
Индекс созревания эритронормобластов		$0,73 \pm 0,06$
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		$4,80 \pm 1,64^*$

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$;

При подсчете ретикулоцитов ПК, подсчете лейкоцитарной формулы,
выявлено наличие ретикулоцитопении, снижение содержания
нейтрофильных гранулоцитов и лимфоцитов.

Таблица 3.6.12.

Показатели периферической крови лабораторных животных на 7сутки после
воздействия ИИ дозой 3 Гр, $M \pm m$, $n = 8$

Ретикулоциты, ‰	Гранулоциты, %	Лимфоциты, %
$2,04 \pm 0,19^*$	$20,81 \pm 1,87^*$	$59,86 \pm 1,55^*$

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$;*

4.7. Заключение

Проведенные исследования позволили установить особенности состояния пролиферативных процессов при парентеральном введении цитопротекторов как в физиологических условиях, так и при действии на организм экстремального фактора (ИИ). Был определен механизм изменения содержания гемопоэтических клеток, для этого изучался апоптоз и уровень пролиферации этих клеток. После получения количественных характеристик, принципиально важным представлялся вопрос о качестве клеточной популяции. С этой целью, по данным микроядерного теста и уровня патологических митозов, проводилось изучение количества цитогенетически измененных клеток.

В настоящем исследовании акцент был сделан на содержании гранулоцитов, эритроидных элементов и лимфоцитов в костном мозге и периферической крови.

При введении препаратов подопытным животным, **не подвергшихся радиационной нагрузке**, на 1 сутки содержание гранулоцитарных и эритроидных элементов оставалось на уровне нормы; не отмечено значимого влияния препаратов на уровень апоптоза и уровень патологических митозов. Установлено увеличение митозов в эритроидном ростке после введения дерината, тем не менее, значимого увеличения эритропоэза не наблюдалось.

Стимуляция эритропоэза отмечена на 7 сутки после монотерапии тизолом и деринатом. Последний также оказывал стимулирующее действие на гранулоцитопоз. Не было отмечено значимых изменений в выраженности апоптоза и уровне цитогенетически измененных клеток, то есть вводимые препараты не оказывали мутагенного действия. Отмечен пролиферативный ответ на комбинированное введение препаратов, но этого оказалось недостаточно для статистически значимого увеличения активности дифферононов.

В результате исследования системы крови на 1 сутки после однократного **тотального облучения дозой 0,5 Гр**, выявлено развитие изменений, характерных для стресс – реакций системы крови. К ним можно отнести увеличение числа лимфоидных клеток в костном мозге, за счет поступления их из циркулирующей крови; уменьшение в костном мозге нейтрофильных гранулоцитов наряду с увеличением их содержания в периферической крови; лимфопения в периферической крови.

На 1 сутки протекторный эффект отмечен на фоне комплексной терапии в отношении эритроидного ростка. Здесь выявлено антиапоптогенное действие и увеличение числа митозов. Уровень же патологических митозов был достоверно ниже контрольной подгруппы.

Был отмечен антиапоптогенный эффект на эритрон, и на гранулоцитарный росток при монотерапии тизолом, но здесь отсутствовало стимулирующее действие на пролиферативную активность поэтому мы не наблюдали значимого увеличения клеточности.

На 7 сутки вводимые препараты оказывали стимуляцию эритропоэза. При этом содержание эритроидных элементов на фоне проводимой терапии восстановилось до значений нормы. Этот эффект обусловлен влиянием препаратов на пролиферативные процессы. Значимое снижение уровня патологических митозов в этот период наблюдалось после комплексной терапии и после монотерапии деринатом (эритроидный росток).

Стимуляция гранулоцитопоеза установлена на фоне проведения комплексной терапии и монотерапии деринатом; уровень патологических митозов не отличался от контрольной подгруппы и соответствовал норме (гранулоцитарный росток).

Снижение уровня микроядер, выявленное на 1 (монотерапия тизолом, монотерапия деринатом, комплексная терапия) и 7 сутки (монотерапии тизолом); снижение частоты патологических митозов, отмеченное после комплексной терапии, монотерапии деринатом на 1 сутки, свидетельствует, о репарации повреждений ДНК. Вероятно, что репарация повреждений ДНК есть следствие специфического антиапоптогенного действия тизоля, так как, действуя на обратимую фазу апоптоза, цитопротектор выигрывает «дополнительное время» для естественной репарации повреждений.

При воздействии ионизирующего излучения дозой 3 Гр, на 1 сутки возросла роль специфического действия радиации. В костном мозге происходит гибель радиочувствительных клеточных популяций путем апоптоза, что обусловлено повреждающим действием ИИ. Вследствие этого значение стрессорных изменений (миграция лимфоцитов в костный мозг) в системе крови уменьшилось. Мы можем наблюдать большее снижение клеточности в костном мозге, за счет не только гибели недифференцированных клеток, но и за счет большего выброса в периферическую кровь зрелых гранулоцитов. В периферической крови, после облучения в данной дозе, содержание гранулоцитов выше, чем при облучении дозой 0,5 Гр.

Как следствие снижения апоптоза и стимуляции митотической активности красного ростка, установлен факт протекторного действия комплексной терапии на эритроидный дифферон.

На 1 сутки тизоль также вызвал увеличение общего содержания эритроидных элементов, что связано с выраженным снижением апоптоза. На уровень пролиферативной активности в данном случае препарат значимого влияния не оказывал.

Уровень патологических митозов был достоверно ниже после введения тизоля (эритроидный росток), комбинированного введения тизоля и дерината (эритроидный и гранулоцитарный ростки), а также дерината (гранулоцитарный росток).

На 7 сутки отмечен протекторный эффект на эритроидный и гранулоцитарный диффероны после проведения комплексной терапии. Этот эффект обусловлен увеличением митотической активности в ростках и снижением уровня апоптоза в эритроиде.

Протекторный эффект на гранулоцитарный росток после монотерапии деринатом обусловлен стимуляцией пролиферативной активности.

Выявлено снижение апоптоза в эритроидном диффероне после введения тизоля. Однако увеличения общего содержания элементов этого ростка не наблюдалось, так как не отмечено увеличения митотической активности.

Уровень патологических митозов в эритроиде был достоверно ниже после введения всех препаратов, а в гранулоцитарном ростке после введения дерината и комбинированного введения препаратов.

Снижение уровня микроядер на 7 сутки установлено только после введения тизоля.

Таким образом, следует подчеркнуть, что антиапоптогенное действие чаще имеет место после использования тизоля. Факт снижения уровня образования микроядер и в ряде случаев снижения патологических митозов свидетельствует о репарации возникающих повреждений ДНК.

Протекторное действие в отношении обоих изучаемых дифферонов после воздействия экстремального фактора чаще встречается после проведения комплексной терапии и, здесь же чаще мы видим достоверное снижение уровня патологических митозов.

Деринат не оказывает значимого протекторного действия на 1 сутки на эритроидный и гранулоцитарный ростки. В поздние сроки, влияя на репарацию, усиливает митотическую активность, приводит к стимуляции обоих ростков, в ряде случаев снижает уровень апоптоза.

ГЛАВА 4.

Морфологическая оценка динамики регенерации слизистой оболочки тощей кишки при воздействии ионизирующего излучения, а также на фоне проведения цитопротективной терапии.

4.1. Морфология апоптоза.

С помощью морфологических методов (световая и электронная микроскопия) было установлено (Kerr J.F., Wyllie A.H. 1980), что апоптозу, как правило, подвергаются рассеянные одиночные клетки. На светооптическом уровне апоптоз можно обнаружить как в обычных гистологических препаратах, так и в полутонких срезах. Гистологические препараты должны быть достаточно тонкими (4-5 мкм), чтобы можно было выявить характерные признаки апоптоза, отличающие его от некроза. В гистологических препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, при малом увеличении микроскопа такими признаками являются уплотнение и уменьшение размера клетки, отграничение ее от окружающей ткани светлым ободком.

Ядерный хроматин конденсируется в виде глыбок преимущественно около ядерной мембраны, а после ее разрушения свободно располагается в цитоплазме клетки. Цитоплазма клетки также уплотняется и становится более эозинофильной по сравнению с цитоплазмой окружающих клеток.

При электронно – микроскопическом исследовании выделяют 4 последовательные *стадии в развитии апоптоза*. Для *первой стадии* характерна агрегация ядерного хроматина в виде крупных глыбок, располагающихся вдоль внутренней поверхности ядерной мембраны. Контуры ядра становятся извитыми, ядро приобретает неправильную форму. Впоследствии ядро разделяется на несколько фрагментов, содержащих глыбки конденсированного хроматина. Характерно, что хроматин либо занимает всю поверхность среза такого фрагмента, либо располагается в виде полулуний на ограниченном участке ядерной мембраны. Цитоплазма и ее

органеллы также претерпевают изменения. Цитоплазма обычно становится конденсированной. Микроворсинки, если они были, исчезают. На поверхности клетки формируются выпячивания цитоплазмы в виде протуберанцев. В срезах тканей такие клетки часто отделяются от соседних клеток, а в эпителиальных тканях разрушаются десмосомы. Конденсация цитоплазмы приводит к уплотнению ее органелл, которые сохраняют свою целостность на протяжении последующих стадий апоптоза. В некоторых клетках выпячивания цитоплазмы достигают значительных размеров. Конденсация цитоплазмы и образование протуберанцев на поверхности клетки закономерно обуславливают увеличение соотношения площади поверхности клетки к ее объему.

Вторая стадия апоптоза характеризуется образованием ограниченных мембраной апоптозных телец, которые имеют сферическую, овоидную или неправильную форму. Количество, размер и состав этих телец могут варьировать. Некоторые апоптозные тельца содержат один или более фрагментов ядра, которые, как правило, окружены ободком конденсированной цитоплазмы. Наличие или отсутствие ядерного фрагмента не связано с размером апоптозных телец. Сформированные апоптозные тельца могут располагаться в межклеточных пространствах, выталкиваться в просвет железы или фагоцитироваться.

Фагоцитоз апоптозных телец характеризует *третью стадию* процесса. Некоторые тельца фагоцитируются макрофагами, а другие, которые формируются в эпителиальной ткани, могут захватываться и «перевариваться» окружающими эпителиальными клетками. Большинство апоптозных телец в опухолевой ткани быстро фагоцитируется и «переваривается» окружающими клетками опухоли. Характерно, что нейтрофильные лейкоциты не участвуют в фагоцитозе апоптозных телец. Не обнаружено также вокруг сформированных апоптозных телец воспалительной реакции, которая сопровождает некроз. Фагосомы, в которых происходит «переваривание» апоптозных телец, получают

необходимые для этого ферменты в результате слияния первичных и вторичных лизосом. Вначале фагоцитированные апоптозные тельца подвергаются первичным изменениям, которые сходны с изменениями при некрозе. Впоследствии фагоцитированный материал разрушается с сохранением непереваренных остатков в виде остаточных телец, которые могут быть обнаружены во вторичных лизосомах.

Четвертую стадию характеризует наличие остаточных телец. Следует заметить, что некоторые фагоцитированные тельца сохраняют свою структуру даже на столь поздней стадии.

Массивный апоптоз клеток некоторых тканей сопровождается интенсивным синтезом лизосомальных ферментов в окружающих интактных клетках (Kerr J. F. 1972). Следует подчеркнуть, что в «переваривании» апоптозных телец участвуют ферменты лизосом фагоцитов, а не самих погибающих клеток. Вероятно, что лизосомы клетки, подвергающейся апоптозу, не принимают участия в развитии как ранних, так и поздних стадий. Очевидно, что лизосомы этих клеток, как и другие органеллы, остаются интактными на протяжении всего процесса вплоть до их расщепления в фаголизосомах. Несмотря на то, что апоптозные тельца, формирующиеся в тканях, как правило, быстро подвергаются фагоцитозу, они могут избежать захвата окружающими клетками и «переваривания», если распределяются в жидкой среде, например в суспензии клеток (Don M.M. et al., 1977) или в железистой ткани вытесняются в просветы желез (Kerr J.F., и Searle J., 1973). Такие «свободные» апоптозные тельца подвергаются спонтанной дегенерации, при которой происходит набухание, разрыв мембраны и другие изменения, характерные для некроза. Этот процесс разрушения апоптозных телец, которые не подвергаются фагоцитозу, назван *вторичным некрозом*. Вторичный некроз апоптозных телец следует отличать от некроза клеток. О первом свидетельствуют малые размеры фрагментов клеток, их особая сферическая или овоидная форма и наличие ядерных фрагментов с характерной для апоптоза морфологической картиной.

С помощью *светового микроскопа* не представляется возможным выделить отмеченные выше 4 стадии апоптоза. Однако *целесообразно отличать две стадии*: раннюю и позднюю. *Первая* характеризуется морфологическими изменениями, происходящими в клетках, до образования апоптозных телец: конденсацией и маргинацией ядерного хроматина, фрагментацией ядра, конденсацией и образованием выпячиваний цитоплазмы. Следовательно, на ранней стадии апоптоза базофильные массы хроматина располагаются вдоль ядерной мембраны большинства клеток, однако в некоторых клетках, таких как тимоциты, конденсированный хроматин может занимать весь объем ядра. Такие ядра выглядят однородно базофильными. В литературе иногда применяют термин «кариопикноз» для обозначения ранних изменений в ядре при апоптозе. Фрагментацию ядра при апоптозе также иногда называют «кариорексисом». *Вторая стадия* начинается с момента образования апоптозных телец, которые затем подвергаются фагоцитозу макрофагами и окружающими клетками и «перевариванию» в фаголизосомах. Крупные апоптозные тельца, представленные в виде сферических или овоидных ацидофильных образований, могут быть легко идентифицированы в тканях независимо от наличия или отсутствия в них фрагментов ядра. Апоптозные тельца могут встречаться группами в виде грозди, они часто отграничены от окружающей ткани ободком просветления.

Продолжительность апоптоза зависит от стимулов и типа клеток и обычно занимает от 12 до 24 ч. Морфологические изменения можно увидеть в последние 2-3 ч.

Морфологические отличия апоптоза от некроза:

1. Для апоптоза характерна конденсация хроматина в виде крупных агрегатов, как правило, располагающихся вдоль ядерной мембраны. При некрозе наблюдается неупорядоченная конденсация хроматина в виде глыбок разных размеров.

2. При апоптозе в отличие от некроза целостность ядерной оболочки сохраняется достаточно длительное время вплоть до формирования апоптозных телец и «переваривания» их в фаголизосомах макрофагов.
3. При некрозе выраженные деструктивные изменения происходят в цитоплазматической мембране, что является одним из важных дифференциально – диагностических признаков, отличающих некроз от апоптоза. Как правило, некроз клеток сопровождается воспалительной реакцией, что нехарактерно для апоптоза.

Для морфологической оценки динамики регенерации слизистой оболочки тощей кишки при воздействии ионизирующего излучения, а также при введении цитопротекторов нами проводилось: изучение обзорной гистологической картины стенки тощей кишки, определение митотического индекса эпителиоцитов, определение апоптотического индекса эпителиоцитов, определение индекса клеточного обновления.

Изучалась: регенерация слизистой оболочки тощей кишки лабораторных животных без лучевой нагрузки на фоне введения цитопротекторов, регенерация слизистой оболочки тощей кишки лабораторных животных, подвергшихся лучевой нагрузке дозой 0,5 Гр, регенерация слизистой оболочки тощей кишки лабораторных животных, подвергшихся лучевой нагрузке дозой 3 Гр.

4.2. Регенерация слизистой оболочки тощей кишки на 1 сутки у лабораторных животных, не подвергшихся радиационной нагрузке на фоне введения препаратов.

При гистологическом исследовании срезов тощей кишки лабораторных животных, которым вводились препараты, не выявлено изменений со стороны гистоархитектоники органа по сравнению с контролем. При этом целостность слизистой сохранена, эрозии не обнаружены. В собственной пластинке слизистой отмечается умеренно выраженная лимфоплазмочитарная инфильтрация.

• **В контрольной подгруппе:**

Таблица 4.2.1.

Показатели регенераторной и мутагенной активности эпителия тощей кишки лабораторных животных на 1 сутки, $M \pm m$, $n = 8$

ПАРАМЕТРЫ	ЗНАЧЕНИЕ
Митотический индекс, %	$8,41 \pm 0,28$
Апоптотический индекс, %	$3,81 \pm 0,41$
Индекс клеточного обновления	$2,25 \pm 0,26$
Средняя клеточность 1 крипты	$73,33 \pm 2,52$
Патологические митозы, %	$6,32 \pm 0,64$

• В подгруппе лабораторных животных, которым вводился цитопротектор тизоль:

При подсчете числа митозов в эпителиоцитах крипт, подсчете эпителиоцитов в состоянии апоптоза, подсчете средней клеточности в 1 крипте, подсчете числа патологических митозов в собственном слое слизистой, не обнаружено статистически значимой разницы изучаемых показателей по сравнению с контролем.

Таблица 4.2.2.

Показатели регенераторной и мутагенной активности эпителия тощей кишки лабораторных животных на 1 сутки после введения цитопротектора тизоль, $M \pm m$, $n = 8$

ПАРАМЕТРЫ	ЗНАЧЕНИЕ
Митотический индекс, %	$8,11 \pm 0,30$
Апоптотический индекс, %	$3,50 \pm 0,34$
Индекс клеточного обновления	$2,36 \pm 0,21$
Средняя клеточность	

1 крипты	
Патологические митозы, %	5,43 ± 0,46

• ***В подгруппе лабораторных животных, которым вводился препарат деринат:***

При подсчете числа митозов в эпителиоцитах крипт, имеет место стимуляция пролиферативной активности (МИ $10,04 \pm 0,87$, $P < 0,05$).

При подсчете эпителиоцитов в состоянии апоптоза, отмечено, что уровень апоптоза соответствовал СУА.

Анализируя интенсивность процессов регенерации в слизистой оболочке тощей кишки, установлено увеличение скорости клеточного обновления (ИКО $3,03 \pm 0,46$, $P < 0,05$).

При подсчете средней клеточности в 1 крипте, выявлено увеличение значения данного показателя ($81,50 \pm 4,25$, $P < 0,05$)

При подсчете числа патологических митозов в собственном слое слизистой, не установлено достоверной разницы в уровне мутагенной активности между опытной подгруппой и контролем.

Таблица 4.2.3.

Показатели регенераторной и мутагенной активности эпителия тощей кишки лабораторных животных на 1 сутки после введения препарата деринат, $M \pm m$, $n = 8$

ПАРАМЕТРЫ	ЗНАЧЕНИЕ
Митотический индекс, %	$10,04 \pm 0,87^*$
Апоптотический индекс, %	$3,37 \pm 0,36$
Индекс клеточного обновления	$3,03 \pm 0,46^*$
Средняя клеточность 1 крипты	$81,50 \pm 4,25^*$
Патологические митозы, %	$5,53 \pm 0,43$

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$;

• В подгруппе лабораторных животных, которым проводилось комбинированное введение тизоля и дерината:

При подсчете числа митозов в криптах, подсчете эпителиоцитов в состоянии апоптоза, оценке интенсивности регенерации в слизистой оболочке тощей кишки, не установлено достоверной разницы изучаемых показателей между опытной подгруппой и значениями нормы.

Таблица 4.2.4.

Показатели регенераторной и мутагенной активности эпителия тощей кишки лабораторных животных на 1 сутки после комбинированного введения тизоля и дерината, $M \pm m$, $n = 8$

ПАРАМЕТРЫ	ЗНАЧЕНИЕ
Митотический индекс, %	$8,59 \pm 0,46$
Апоптотический индекс, %	$3,34 \pm 0,52$
Индекс клеточного обновления	$2,63 \pm 0,38$
Средняя клеточность 1 крипты	$74,29 \pm 3,47$
Патологические митозы, %	$4,79 \pm 0,33$

4.3. Регенерация слизистой оболочки тощей кишки на 1 сутки у лабораторных животных подвергшихся радиационной нагрузке дозой 0,5 Гр на фоне проведения цитопротективной терапии.

• В подгруппе лабораторных животных, которым вводился цитопротектор тизоль:

При гистологическом исследовании срезов тощей кишки выявлено: очаговые эрозии в области верхушек ворсин; отек и лимфоплазмочитарная инфильтрация в собственном слое слизистой и в подслизистой оболочке

менее выражены, чем в контрольной подгруппе. Обнаружено расширение просвета и полнокровие капилляров, лимфостаз.

При подсчете числа митозов в клеточной популяции крипт, не установлено статистически значимого действия цитопротектора на пролиферативную активность.

При подсчете эпителиоцитов в состоянии апоптоза, выявлено выраженное снижение апоптоза (АИ $5,28 \pm 0,48$, $P < 0,05$). Тем не менее, уровень апоптоза превышал значения СУА.

Анализируя интенсивность процессов регенерации в слизистой оболочке тощей кишки, следует отметить, что здесь нашло отражение антиапоптогенное действие цитопротектора. Так скорость клеточного обновления была достоверно выше, чем в контрольной подгруппе (ИКО $1,20 \pm 0,14$, $P < 0,05$), но оставалась ниже нормы.

При подсчете средней клеточности в 1 крипте, отмечено снижение изучаемого показателя по сравнению с нормой. Таким образом, выявленного увеличения скорости регенерации оказалось недостаточно для увеличения численности эпителиоцитов, что можно объяснить их гибелью путем некроза.

При подсчете числа патологических митозов в собственном слое слизистой, наряду с выявленным ранее антиапоптогенным действием, не установлено изменения мутагенной активности в эпителии тощей кишки.

Таблица 4.3.1.

Показатели регенераторной и мутагенной активности эпителия тощей кишки лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр на фоне введения цитопротектора тизоль, $M \pm m$, $n = 8$

ПАРАМЕТРЫ	ЗНАЧЕНИЕ
Митотический индекс, %	$6,24 \pm 0,36^*$
Апоптотический индекс, %	$5,28 \pm 0,48^* **$

Индекс клеточного обновления	$1,20 \pm 0,14^{* **}$
Средняя клеточность 1 крипты	$62,50 \pm 4,50^{*}$
Патологические митозы, %	$8,40 \pm 0,50^{*}$

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 0,5 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.*

• В подгруппе лабораторных животных, которым вводился препарат деринат:

При гистологическом исследовании срезов тощей кишки имеет место следующая картина: участков деструкции, эрозии ворсин не обнаружено; в собственном слое слизистой и подслизистой оболочке диффузная лимфоплазмоцитарная инфильтрация с примесью значительного числа эозинофилов. Полнокровие сосудов микроциркуляторного русла и лимфостаз. Отек собственного слоя слизистой и подслизистой оболочки.

При подсчете числа митозов, выявлено увеличение значения митотического индекса (МИ $7,21 \pm 0,33$, $P < 0,05$), в то же время, уровень пролиферативной активности оставался ниже значений нормы.

При подсчете эпителиоцитов в состоянии апоптоза, не установлено значимого влияния препарата на уровень апоптоза и он оставался выше СУА.

Анализируя интенсивность процессов регенерации в слизистой оболочке тощей кишки, отмечено увеличение скорости клеточного обновления ($1,24 \pm 0,17$, $P < 0,05$).

При подсчете средней клеточности в 1 крипте, выявлено увеличение содержания криптального эпителия по сравнению с контрольной подгруппой ($68,14 \pm 4,12$, $P < 0,05$).

При подсчете числа патологических митозов в собственном слое слизистой, не установлено изменения мутагенной активности на фоне монотерапии деринатом.

Таблица 4.3.2.

Показатели регенераторной и мутагенной активности эпителия тощей кишки лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр на фоне введения препарата деринат, $M \pm m$, $n = 8$

ПАРАМЕТРЫ	ЗНАЧЕНИЕ
Митотический индекс, %	$7,21 \pm 0,33^* **$
Апоптотический индекс, %	$5,94 \pm 0,62^*$
Индекс клеточного обновления	$1,24 \pm 0,17^* **$
Средняя клеточность 1 крипты	$68,14 \pm 4,12^* **$
Патологические митозы, %	$8,16 \pm 0,59^*$

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 0,5 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.*

• В подгруппе лабораторных животных, которым проводилось комбинированное введение тизоля и дерината:

При гистологическом исследовании срезов тощей кишки обнаружено: очаговые деструкции, эрозии верхушек ворсин; в собственном слое слизистой и подслизистой оболочке умеренно выраженная лимфоплазмоцитарная инфильтрация. Имеет место расширение сосудов микроциркуляторного русла, капилляростаз и лимфостаз.

При подсчете числа митозов, не установлено значимого действия комплексной терапии на пролиферативную активность.

При подсчете эпителиоцитов в состоянии апоптоза, выявлен антиапоптогенный эффект, так как уровень апоптоза был достоверно ниже, чем в контрольной подгруппе ($AI\ 5,33 \pm 1,14, P < 0,05$).

Анализируя интенсивность процессов регенерации в слизистой оболочке тощей кишки, отмечено увеличение скорости клеточного обновления (ИКО $1,31 \pm 0,37, P < 0,05$), однако, данный показатель оставался ниже значений нормы.

Несмотря на стимуляцию регенерации эпителия, при подсчете средней клеточности в 1 крипте, не выявлено изменения содержания криптального эпителия.

При подсчете числа патологических митозов в собственном слое слизистой, выявлено снижение количества аномальных митозов ($7,47 \pm 0,49, P < 0,05$).

Таблица 4.3.3.

Показатели регенераторной и мутагенной активности эпителия тощей кишки лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр на фоне комбинированного введения тизоля и дерината, $M \pm m, n = 8$

ПАРАМЕТРЫ	ЗНАЧЕНИЕ
Митотический индекс, %	$6,54 \pm 0,39^*$
Апоптотический индекс, %	$5,33 \pm 1,14^{* **}$
Индекс клеточного обновления	$1,31 \pm 0,37^{* **}$
Средняя клеточность 1 крипты	$65,00 \pm 2,29^*$
Патологические митозы, %	$7,47 \pm 0,49^{* **}$

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 0,5 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.

• В контрольной подгруппе:

При гистологическом исследовании срезов тощей кишки выявлено: очаговая деструкция и эрозии в области верхушек ворсин; в собственном слое слизистой и в подслизистой оболочке умеренно выраженный отек и лимфоплазмоцитарная инфильтрация с умеренно выраженной перифокальной гранулоцитарной инфильтрацией; полнокровие сосудов микроциркуляторного русла, лимфостаз. Визуально отмечается снижение числа митозов в криптальном эпителии.

При подсчете числа митозов в крипах, установлено угнетение пролиферативной активности.

При подсчете эпителиоцитов в состоянии апоптоза, выявлено увеличение уровня апоптоза относительно СУА.

Анализируя интенсивность процессов регенерации в слизистой оболочке тощей кишки, выявлено снижение скорости клеточного обновления.

При подсчете средней клеточности в 1 крипте, имеет место снижение содержания криптального эпителия.

При подсчете числа патологических митозов в собственном слое слизистой, установлено достоверное увеличение мутагенной активности.

Таблица 4.3.4.

Показатели регенераторной и мутагенной активности эпителия тощей кишки лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр, $M \pm m$, $n = 8$

ПАРАМЕТРЫ	ЗНАЧЕНИЕ
Митотический индекс, %	$6,10 \pm 0,40^*$
Апоптотический индекс, %	$6,51 \pm 0,44^*$
Индекс клеточного обновления	$0,94 \pm 0,09^*$
Средняя клеточность 1 крипты	$62,43 \pm 2,65^*$
Патологические митозы, %	$9,24 \pm 0,93^*$

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$;*

4.4. Регенерация слизистой оболочки тощей кишки на 1 сутки у лабораторных животных, подвергшихся лучевой нагрузке дозой 3 Гр на фоне введения препаратов.

- *В подгруппе лабораторных животных, которым вводился цитопротектор тизоль:*

При гистологическом исследовании срезов тощей кишки подгруппы лабораторных животных, которым вводился цитопротектор тизоль выявлено: диффузные деструктивные изменения верхушек ворсин с выраженной перифокальной гранулоцитарной инфильтрацией; в собственном слое слизистой и в подслизистой оболочке умеренно выраженный отек и лимфоплазмоцитарная инфильтрация; менее выраженный, чем в контрольной подгруппе капилляростаз и лимфостаз. Визуально определяется выраженное уменьшение количества митотически делящихся клеток.

При подсчете числа митозов в криптах, не отмечено изменения пролиферативной активности по сравнению с контрольной подгруппой и значение МИ было достоверно ниже границы нормы.

При подсчете эпителиоцитов в состоянии апоптоза, выявлено снижение апоптоза (АИ $8,71 \pm 0,42$, $P < 0,05$). Уровень апоптоза оставался выше значений СУА.

Интенсивность процессов регенерации в слизистой оболочке тощей кишки, как следствие влияния монотерапии тизолем на митотическую активность и на апоптоз эпителия, была выше, чем в контрольной подгруппе (ИКО $0,50 \pm 0,03$, $P < 0,05$).

При подсчете средней клеточности в 1 крипте, установлено увеличение содержания криптального эпителия ($58,43 \pm 1,92$, $P < 0,05$), однако это было значительно меньше нормы.

При подсчете числа патологических митозов в собственном слое слизистой, отмечено снижение мутагенной активности по сравнению с контрольной

подгруппой, в то же время количество аномальных митозов было выше значений нормы.

Таблица 4.4.1.

Показатели регенераторной и мутагенной активности эпителия тощей кишки лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр на фоне введения цитопротектора тизоль, $M \pm m$, $n = 8$

ПАРАМЕТРЫ	ЗНАЧЕНИЕ
Митотический индекс, %	$4,37 \pm 0,34^*$
Апоптотический индекс, %	$8,71 \pm 0,42^{* **}$
Индекс клеточного обновления	$0,50 \pm 0,03^{* **}$
Средняя клеточность 1 крипты	$58,43 \pm 1,92^{* **}$
Патологические митозы, %	$10,90 \pm 0,73^{* **}$

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 3 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.

• В подгруппе лабораторных животных, которым вводился препарат **деринат**:

При гистологическом исследовании срезов тощей кишки выявлено: диффузные некротические изменения вершечек ворсин с умеренно выраженной перифокальной гранулоцитарной инфильтрацией. В собственном слое слизистой и в подслизистой оболочке резко выраженный отек и лимфоплазмоцитарная инфильтрация, выраженное полнокровие сосудов микроциркуляторного русла и лимфостаз. Визуально определяется уменьшение количества митотически делящихся клеток.

При подсчете числа митозов в криптах, не выявлено значимого пролиферативного ответа на введение препарата и митотическая активность оставалась ниже значений нормы.

При подсчете эпителиоцитов в состоянии апоптоза, установлено снижение апоптоза (АИ $9,58 \pm 0,32$, $P < 0,05$), антиапоптогенное действие препарата, вероятно, обусловлено его репаративными возможностями. В то же время, уровень апоптоза в опытной подгруппе превышал СУА.

Интенсивность процессов регенерации в слизистой оболочке тощей кишки, не отличалась от значения этого показателя в контрольной подгруппе.

При подсчете средней клеточности в 1 крипте, подсчете числа патологических митозов в собственном слое слизистой, не выявлено значимой разницы изучаемых показателей по сравнению с контрольной подгруппой.

Таблица 4.4.2.

Показатели регенераторной и мутагенной активности эпителия тощей кишки лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр на фоне введения препарата деринат, $M \pm m$, $n = 8$

ПАРАМЕТРЫ	ЗНАЧЕНИЕ
Митотический индекс, %	$4,58 \pm 0,39^*$
Апоптотический индекс, %	$9,58 \pm 0,32^* **$
Индекс клеточного обновления	$0,48 \pm 0,04^*$
Средняя клеточность 1 крипты	$51,50 \pm 3,17^*$
Патологические митозы, %	$11,02 \pm 1,26^*$

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 3 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.

- В подгруппе лабораторных животных, которым проводилось комплексное введение тизоля и дерината:

При гистологическом исследовании срезов тощей кишки выявлено: очаговые некротические изменения верхушек ворсин с умеренно выраженной перифокальной гранулоцитарной инфильтрацией. В собственном слое слизистой и в подслизистой оболочке умеренно выраженный отек и лимфоплазмоцитарная инфильтрация, умеренно выраженное полнокровие сосудов микроциркуляторного русла и лимфостаз.

При подсчете числа митозов в криптах, не отмечено изменения пролиферативной активности, при этом она оставалась ниже значений нормы.

При подсчете эпителиоцитов в состоянии апоптоза, выявлено антиапоптогенное действие (АИ $10,12 \pm 0,56$, $P < 0,05$), однако уровень апоптоза все же превышал значения СУА.

Анализируя интенсивность процессов регенерации в слизистой оболочке тощей кишки, следует отметить, что здесь нашло свое отражение действие комплексной терапии на апоптоз; скорость клеточного обновления была выше, чем в контрольной подгруппе (ИКО $0,51 \pm 0,05$, $P < 0,05$).

При подсчете средней клеточности в 1 крипте, установлено увеличение клеточности крипты ($54,50 \pm 2,17$, $P < 0,05$), тем не менее, этот показатель был ниже границы нормы.

При подсчете числа патологических митозов в собственном слое слизистой, выявлено снижение мутагенной активности по сравнению с контрольной подгруппой ($9,32 \pm 0,78$, $P < 0,05$).

Таблица 4.4.3.

Показатели регенераторной и мутагенной активности эпителия тощей кишки лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр на фоне комбинированного введения тизоля и дерината, $M \pm m$, $n = 8$

ПАРАМЕТРЫ	ЗНАЧЕНИЕ
-----------	----------

Митотический индекс, %	$5,17 \pm 0,44^*$
Апоптотический индекс, %	$10,12 \pm 0,56^* **$
Индекс клеточного обновления	$0,51 \pm 0,05^* **$
Средняя клеточность 1 крипты	$54,50 \pm 2,17^* **$
Патологические митозы, %	$9,32 \pm 0,78^* **$

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 3 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.*

Таким образом, следует подчеркнуть, что **цитопротектор тизоль** при облучении подопытных животных дозой 0,5 Гр и 3 Гр оказывал выраженное антиапоптогенное действие, что нашло свое отражение в увеличении регенерации эпителия тощей кишки и в увеличении содержания криптального эпителия (3 Гр). На фоне монотерапии тизолом отмечено снижение мутагенной активности (3 Гр).

После введения **препарата деринат**, выявлено увеличение количества митозов, снижение апоптоза (3 Гр), увеличение скорости регенерации и, как следствие, увеличение численности эпителия крипт. На уровень патологических митозов монотерапия деринатом значимого действия не оказывала.

На фоне **комплексной терапии** выявлено антиапоптогенное действие, увеличение скорости регенерации, снижение количества патологических митозов. На митотическую активность значимого эффекта выявлено не было.

• **В контрольной подгруппе:**

При гистологическом исследовании срезов тощей кишки выявлено: диффузная деструкция в области верхушек ворсин, местами некротические изменения достигают подслизистой оболочки; имеет место выраженная перифокальная гранулоцитарная инфильтрация. В собственном слое

слизистой и в подслизистой оболочке выраженный отек и лимфоплазмоцитарная инфильтрация; со стороны сосудов микроциркуляторного русла отмечается резко выраженный капилляростаз и лимфостаз. Визуально определяется резкое снижение количества митотически делящихся клеток крипт.

При подсчете числа митозов, установлено резкое угнетение митотической активности эпителиоцитов крипт.

При подсчете эпителиоцитов в состоянии апоптоза обнаружено резкое увеличение уровня апоптоза.

Интенсивность клеточного обновления в слизистой оболочки тощей кишки резко снижена.

При подсчете средней клеточности в 1 крипте, подсчете числа патологических митозов в собственном слое слизистой, отмечено увеличение анализируемых показателей.

Таблица 4.4.4.

Показатели регенераторной и мутагенной активности эпителия тощей кишки лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр, $M \pm m$, $n = 8$

ПАРАМЕТРЫ	ЗНАЧЕНИЕ
Митотический индекс, %	$4,67 \pm 0,36^*$
Апоптотический индекс, %	$11,60 \pm 1,00^*$
Индекс клеточного обновления	$0,41 \pm 0,04^*$
Средняя клеточность 1 крипты	$48,83 \pm 2,50^*$
Патологические митозы, %	$12,40 \pm 1,37^*$

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$;

4.5. Регенерация слизистой оболочки тощей кишки на 7 сутки у лабораторных животных, не подвергшихся радиационной нагрузке на фоне введения препаратов.

При гистологическом исследовании срезов тощей кишки не выявлено изменений в состоянии гистоархитектоники изучаемого органа. Гистологическая картина соответствовала норме: отсутствие деструктивного поражения ворсин слизистой оболочки, в собственном слое слизистой и в подслизистой оболочке умеренно выраженная лимфоплазмоцитарная инфильтрация.

• В контрольной подгруппе:

Таблица 4.5.1.

Показатели регенераторной и мутагенной активности эпителия тощей кишки лабораторных животных на 7 сутки, $M \pm m$, $n = 8$

ПАРАМЕТРЫ	ЗНАЧЕНИЕ
Митотический индекс, %	$8,73 \pm 0,36$
Апоптотический индекс, %	$3,23 \pm 0,38$
Индекс клеточного обновления	$2,76 \pm 0,27$
Средняя клеточность 1 крипты	$77,14 \pm 3,59$
Патологические митозы, %	$4,69 \pm 0,87$

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$;

• В подгруппе лабораторных животных, которым вводился цитопротектор тизоль:

При подсчете числа митозов в эпителиоцитах крипт, подсчете эпителиоцитов в состоянии апоптоза, подсчете средней клеточности в 1 крипте, подсчете числа патологических митозов в собственном слое

слизистой, не обнаружено статистически значимой разницы изучаемых показателей по сравнению с контролем.

Таблица 4.5.2.

Показатели регенераторной и мутагенной активности эпителия тощей кишки лабораторных животных на 7 сутки после введения цитопротектора тизоль, $M \pm m$, $n = 8$

ПАРАМЕТРЫ	ЗНАЧЕНИЕ
Митотический индекс, %	$8,62 \pm 0,40$
Апоптотический индекс, %	$3,59 \pm 0,37$
Индекс клеточного обновления	$2,44 \pm 0,24$
Средняя клеточность 1 крипты	$75,22 \pm 1,58$
Патологические митозы, %	$5,60 \pm 0,56$

• *В подгруппе лабораторных животных, которым вводился препарат деринат:*

При подсчете числа митозов в криптах, выявлено увеличение пролиферативной активности эпителия (МИ $12,11 \pm 1,68$, $P < 0,05$).

При подсчете эпителиоцитов в состоянии апоптоза, не установлено изменения уровня апоптоза относительно СУА.

Анализируя интенсивность процессов регенерации в слизистой оболочке тощей кишки, отмечено увеличение скорости клеточного обновления (ИКО $3,48 \pm 0,60$, $P < 0,05$)

При подсчете средней клеточности в 1 крипте, вследствие влияния препарата на регенерацию, установлено увеличение содержания криптального эпителия ($91,56 \pm 2,40$, $P < 0,05$).

При подсчете числа патологических митозов в собственном слое слизистой, не отмечено значимого изменения данного показателя относительно нормы, то есть препарат деринат не обладает мутагенным действием.

Таблица 4.5.3.

Показатели регенераторной и мутагенной активности эпителия тощей кишки лабораторных животных на 7 сутки после введения препарата деринат, $M \pm m$, $n = 8$

ПАРАМЕТРЫ	ЗНАЧЕНИЕ
Митотический индекс, %	$12,11 \pm 1,68^*$
Апоптотический индекс, %	$3,61 \pm 0,46$
Индекс клеточного обновления	$3,48 \pm 0,60^*$
Средняя клеточность 1 крипты	$91,56 \pm 2,40^*$
Патологические митозы, %	$6,36 \pm 0,61$

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$

• В подгруппе лабораторных животных, которым проводилось комплексное введение тизоля и дерината:

При подсчете числа митозов в криптах, выявлено увеличение значения митотического индекса (МИ $10,29 \pm 1,43$, $P < 0,05$)

При подсчете эпителиоцитов в состоянии апоптоза, анализе интенсивности процессов регенерации в слизистой оболочке тощей кишки, подсчете средней клеточности в 1 крипте, подсчете числа патологических митозов в собственном слое слизистой, не отмечено достоверной разницы изучаемых показателей по сравнению со значениями нормы.

Таблица 4.5.4.

Показатели регенераторной и мутагенной активности эпителия тощей кишки лабораторных животных на 7 сутки после комбинированного введения препаратов, $M \pm m$, $n = 8$

ПАРАМЕТРЫ	ЗНАЧЕНИЕ
Митотический индекс, %	$10,29 \pm 1,43^*$
Апоптотический индекс, %	$3,74 \pm 0,33$
Индекс клеточного обновления	$2,78 \pm 0,43$
Средняя клеточность 1 крипты	$73,10 \pm 3,68$
Патологические митозы, %	$5,36 \pm 0,80$

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$;

4.6. Регенерация слизистой оболочки тощей кишки на 7 сутки у лабораторных животных подвергшихся радиационной нагрузке дозой 0,5 Гр на фоне проведения цитопротективной терапии.

При гистологическом исследовании срезов тощей кишки имеет место восстановление гистоархитектоники органа: целостность слизистой сохранена, в собственном слое слизистой и в подслизистой оболочке умеренно выраженная лимфоплазмоцитарная инфильтрация.

• В подгруппе лабораторных животных, которым вводился цитопротектор тизоль:

При подсчете числа митозов в эпителиоцитах крипт, подсчете эпителиоцитов в состоянии апоптоза, подсчете средней клеточности в 1 крипте, подсчете числа патологических митозов в собственном слое слизистой, обнаружено восстановление изучаемых показателей до значений нормы, в то же время не выявлено достоверной разницы перечисленных показателей по сравнению с контрольной подгруппой.

Таблица 4.6.1.

Показатели регенераторной и мутагенной активности эпителия тощей кишки лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр на фоне введения цитопротектора тизоль, $M \pm m$, $n = 8$

ПАРАМЕТРЫ	ЗНАЧЕНИЕ
Митотический индекс, %	$8,40 \pm 0,40$
Апоптотический индекс, %	$3,80 \pm 0,38$
Индекс клеточного обновления	$2,25 \pm 0,28$
Средняя клеточность 1 крипты	$73,75 \pm 1,81$
Патологические митозы, %	$6,35 \pm 0,56$

• *В подгруппе лабораторных животных, которым вводился препарат деринат:*

При подсчете числа митозов в криптах, выявлено увеличение митотической активности (МИ $9,36 \pm 0,74$, $P < 0,05$).

При подсчете эпителиоцитов в состоянии апоптоза, отмечено восстановление уровня апоптоза, повышенного на 1 сутки после воздействия ИИ, до значений нормы.

Следствием действия препарата на пролиферативную активность, было увеличение интенсивности регенерации в слизистой оболочке тощей кишки (ИКО $3,10 \pm 0,34$, $P < 0,05$). При этом скорость клеточного обновления восстановилась до значений нормы.

При подсчете средней клеточности в 1 крипте, выявлено увеличение численности криптального эпителия по сравнению с контрольной подгруппой ($86,25 \pm 3,50$, $P < 0,05$).

При подсчете числа патологических митозов в собственном слое слизистой, отмечено, что уровень мутагенной активности восстановился до значений нормы и в то же время не отличался от показателя в контрольной подгруппе.

Таблица 3.6.2.

Показатели регенераторной и мутагенной активности эпителия тощей кишки лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр на фоне введения препарата деринат, $M \pm m$, $n = 8$

ПАРАМЕТРЫ	ЗНАЧЕНИЕ
Митотический индекс, %	$9,36 \pm 0,74^{**}$
Апоптотический индекс, %	$3,08 \pm 0,37$
Индекс клеточного обновления	$3,10 \pm 0,34^{**}$
Средняя клеточность 1 крипты	$86,25 \pm 3,50^{**}$
Патологические митозы, %	$5,29 \pm 0,49$

*Примечание: ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 0,5 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$*

• В подгруппе лабораторных животных, которым проводилось комплексное введение тизоля и дерината:

При подсчете числа митозов в криптах, выявлено восстановление и увеличение пролиферативной активности по сравнению с контрольной подгруппой (МИ $9,95 \pm 0,38$, $P < 0,05$).

При подсчете эпителиоцитов в состоянии апоптоза, отмечено восстановление уровня апоптоза до значений нормы.

Анализируя интенсивность процессов регенерации в слизистой оболочке тощей кишки, установлено увеличение скорости клеточного обновления относительно контрольной подгруппы (ИКО $3,01 \pm 0,41$, $P < 0,05$). В то же время на фоне комплексной терапии произошло восстановление регенерации эпителия до значений нормы.

Как следствие действия комплексной терапии на регенерацию эпителия, при подсчете средней клеточности в 1 крипте, выявлено восстановление и увеличение численности криптального эпителия ($83,38 \pm 4,63$, $P < 0,05$).

При подсчете числа патологических митозов в собственном слое слизистой, установлено, что уровень мутагенной активности соответствовал значениям нормы.

Таблица 4.6.3.

Показатели регенераторной и мутагенной активности эпителия тощей кишки лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр на фоне комбинированного введения тизоля и дерината, $M \pm m$, $n = 8$

ПАРАМЕТРЫ	ЗНАЧЕНИЕ
Митотический индекс, %	$9,95 \pm 0,38^{**}$
Апоптотический индекс, %	$3,38 \pm 0,48$
Индекс клеточного обновления	$3,01 \pm 0,41^{**}$
Средняя клеточность 1 крипты	$83,38 \pm 4,63^{**}$
Патологические митозы, %	$5,36 \pm 0,64$

Примечание: ****** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 0,5 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.

• **В контрольной подгруппе:**

При подсчете числа митозов в крипах, подсчете эпителиоцитов в состоянии апоптоза, изучении интенсивности регенерации в слизистой оболочке тощей кишки, подсчете средней клеточности в 1 крипте, подсчете числа патологических митозов в собственном слое слизистой, отмечено восстановление перечисленных показателей до значений нормы.

Таблица 4.6.4.

Показатели регенераторной и мутагенной активности эпителия тощей кишки лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 0,5 Гр, $M \pm m$, $n = 8$

ПАРАМЕТРЫ	ЗНАЧЕНИЕ
Митотический индекс, %	$8,18 \pm 0,58$
Апоптотический индекс, %	$3,34 \pm 0,30$
Индекс клеточного обновления	$2,48 \pm 0,27$
Средняя клеточность 1 крипты	$72,13 \pm 3,38$
Патологические митозы, %	$5,71 \pm 0,69$

4.7. Регенерация слизистой оболочки тощей кишки на 7 сутки у лабораторных животных подвергшихся радиационной нагрузке дозой 3 Гр на фоне проведения цитопротективной терапии.

• *В подгруппе лабораторных животных, которым вводился цитопротектор тизоль:*

При гистологическом исследовании срезов тощей кишки выявлено: очаговые эрозии вершушек ворсин, без перифокальной инфильтрации. Отек и лимфоплазмоцитарная инфильтрация собственного слоя слизистой выражены в меньшей степени, чем в контрольной подгруппе.

При подсчете числа митозов в криптах, отмечено восстановление уровня митотически делящихся эпителиоцитов и этот показатель не отличался от значения МИ в контрольной подгруппе.

При подсчете эпителиоцитов в состоянии апоптоза, также, как и на 1 сутки выявлено антиапоптогенное действие ($AI\ 3,47 \pm 0,53$, $P < 0,05$). Уровень апоптоза соответствовал СУА.

Имело место восстановление интенсивности регенерации в слизистой оболочке тощей кишки, при этом скорость клеточного обновления соответствовала контрольным значениям.

При подсчете средней клеточности в 1 крипте, отмечено восстановление данного показателя до значений нормы.

При подсчете числа патологических митозов в собственном слое слизистой, выявлено снижение мутагенной активности ($7,24 \pm 0,93$, $P < 0,05$), тем не менее, этот показатель оставался выше значений нормы.

Таблица 4.7.1.

Показатели регенераторной и мутагенной активности эпителия тощей кишки лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр на фоне введения цитопротектора тизоль, $M \pm m$, $n = 8$

ПАРАМЕТРЫ	ЗНАЧЕНИЕ
Митотический индекс, %	$8,49 \pm 0,37$
Апоптотический индекс, %	$3,47 \pm 0,53^{**}$
Индекс клеточного обновления	$2,52 \pm 0,39$
Средняя клеточность 1 крипты	$75,44 \pm 2,17$
Патологические митозы, %	$7,24 \pm 0,93^{* **}$

Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$; ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 3 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.

• В подгруппе лабораторных животных, которым вводился препарат **деринат**:

При гистологическом исследовании срезов тощей кишки выявлено: структура слизистой оболочки сохранена, в собственном слое слизистой и в

подслизистой оболочке сохраняется лимфоплазмоцитарная инфильтрация, расширение просвета лимфатических и кровеносных капилляров.

При подсчете числа митозов в криптах, установлено восстановление пролиферативной активности до значений нормы.

При подсчете эпителиоцитов в состоянии апоптоза, выявлено снижение апоптоза (АИ $3,90 \pm 0,73$, $P < 0,05$) и этот показатель соответствовал СУА.

Изучая интенсивность процессов регенерации в слизистой оболочке тощей кишки, выявлено восстановление скорости клеточного обновления до значений нормы.

При подсчете средней клеточности в 1 крипте, выявлено восстановление клеточности крипты до значений нормы.

При подсчете числа патологических митозов в собственном слое слизистой, установлено снижение мутагенной активности ($5,30 \pm 0,45$, $P < 0,05$), при этом уровень патологических митозов соответствовал норме.

Таблица 4.7.2.

Показатели регенераторной и мутагенной активности эпителия тощей кишки лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр на фоне введения препарата деринат, $M \pm m$, $n = 8$

ПАРАМЕТРЫ	ЗНАЧЕНИЕ
Митотический индекс, %	$8,73 \pm 0,71$
Апоптотический индекс, %	$3,90 \pm 0,73^{**}$
Индекс клеточного обновления	$2,36 \pm 0,57$
Средняя клеточность 1 крипты	$71,29 \pm 2,24$
Патологические митозы, %	$5,30 \pm 0,45^{**}$

Примечание: ****** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 3 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.

- В подгруппе лабораторных животных, которым проводилось комплексное введение тизоля и дерината:

При гистологическом исследовании срезов тощей кишки выявлено восстановление гистоархитектоники органа: структура слизистой оболочки сохранена, умеренно выраженная инфильтрация собственного слоя и подслизистой оболочки тощей кишки.

При подсчете числа митозов в криптах, отмечено восстановление пролиферативной активности эпителия до значений нормы.

При подсчете эпителиоцитов в состоянии апоптоза, выявлено снижение уровня апоптоза относительно контрольный подгруппы (АИ $3,84 \pm 0,28$, $P < 0,05$) и этот уровень соответствовал СУА.

Интенсивность процессов регенерации в слизистой оболочке тощей кишки, установлено восстановление скорости клеточного обновления, что можно объяснить влиянием проводимой терапии на апоптоз.

При подсчете средней клеточности в 1 крипте, отмечено, что клеточность крипты к 7 суткам восстановилась, и не отличалась от контрольных значений.

При подсчете числа патологических митозов в собственном слое слизистой, установлено снижение мутагенной активности ($5,83 \pm 0,86$, $P < 0,05$), при этом уровень аномальных митозов соответствовал значениям нормы.

Таблица 4.7.3.

Показатели регенераторной и мутагенной активности эпителия тощей кишки лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр на фоне комбинированного введения тизоля и дерината, $M \pm m$, $n = 8$

ПАРАМЕТРЫ	ЗНАЧЕНИЕ
Митотический индекс, %	$8,29 \pm 0,56$
Апоптотический индекс, %	$3,84 \pm 0,28^{**}$
Индекс клеточного обновления	$2,17 \pm 0,24$

Средняя клеточность 1 крипты	75,29 ± 3,10
Патологические митозы, %	5,83 ± 0,86**

Примечание: ** отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 3 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$.

• **В контрольной подгруппе:**

При гистологическом исследовании срезов тощей кишки выявлено: очаговые деструктивные изменения в области верхушек ворсин с умеренно выраженной перифокальной клеточной реакцией. Отмечается умеренный отек и лимфоплазмоцитарная инфильтрация собственного слоя слизистой и подслизистой оболочки. Расширение сосудов микроциркуляторного русла, капилляростаз и лимфостаз.

При подсчете числа митозов в криптах, отмечено восстановление митотической активности до значений нормы.

При подсчете эпителиоцитов в состоянии апоптоза, установлено, что уровень апоптоза к 7 суткам не восстановился, и превышал значения СУА.

Анализируя интенсивность процессов регенерации в слизистой оболочке тощей кишки, установлено восстановление скорости клеточного обновления до значений нормы.

При подсчете средней клеточности в 1 крипте, отмечено восстановление содержания криптального эпителия и этот показатель соответствовал норме.

Следует отметить, что при подсчете числа патологических митозов в собственном слое слизистой, сохраняется повышенный уровень мутагенной активности.

Таблица 4.7.4.

Показатели регенераторной и мутагенной активности эпителия тощей кишки лабораторных животных на 7 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр, $M \pm m$, $n = 8$

ПАРАМЕТРЫ	ЗНАЧЕНИЕ
-----------	----------

Митотический индекс, %	$8,33 \pm 0,48$
Апоптотический индекс, %	$4,29 \pm 0,98^*$
Индекс клеточного обновления	$2,08 \pm 0,52$
Средняя клеточность 1 крипты	$73,13 \pm 3,84$
Патологические митозы, %	$8,58 \pm 0,96^*$

*Примечание: * отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $P \leq 0,05$;*

4.8. Верификация апоптоза эпителия тощей кишки флуоресцентно-микроскопическим методом с целью оценки эффективности проводимой цитопротективной терапии.

На сегодняшний день ни один из существующих методов выявления апоптоза не обладает абсолютной специфичностью и надежностью. В связи с этим для повышения достоверности получаемых данных необходимо использование нескольких методических приемов, основанных на различных подходах.

В настоящем эксперименте для оценки активности апоптоза производилась окраска гистологических препаратов аннексином V - FITC. Во время апоптоза имеет место переход фосфатидилсерина из внутреннего монослоя цитоплазматической мембраны в наружный монослой. Аннексин V – FITC связывается с отрицательнозаряженными фосфолипидами с высокой специфичностью к фосфатидилсерину.

Таблица 4.8.1.

Показатели апоптоза и уровня цитогенетически измененных клеток лабораторных животных на 1 сутки после воздействия ИИ дозой 3 Гр на фоне введения препаратов, $M \pm m$, $n = 8$

Препарат	Уровень апоптоза, %	Патологические митозы, %
----------	---------------------	--------------------------

Тизоль, 0,1 г/кг	$13,63 \pm 0,79$	$12,79 \pm 0,94$
Тизоль, 1 г/кг	$11,39 \pm 0,99^*$	$12,26 \pm 1,01$
Тизоль, 2,5 г/кг	$9,44 \pm 0,63^*$	$10,90 \pm 0,73^*$
Тизоль (1,25 г/кг) и Деринат (3,50 мкг/кг)	$11,50 \pm 1,25^*$	$9,32 \pm 0,78^* **$
Деринат, 7 мкг/кг	$12,03 \pm 0,59^*$	$11,02 \pm 1,26$
Контроль	$13,49 \pm 0,81$	$13,23 \pm 1,46$

*Примечание: * отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 3 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$;*

*** отличие от подгруппы животных, которым вводился цитопротектор тизоль в дозе 2,5 г/кг, подвергшихся воздействию ИИ дозой 3 Гр, достоверно с $P \leq 0,05$;*

При парентеральном введении цитопротектора тизоль в дозе 0,1 г/кг, не выявлено значимого влияния на апоптоз и уровень мутагенной активности.

Проведенное исследование выявило наличие антиапоптогенного действия у цитопротектора тизоль вводимого парентерально в дозе 1,0 г/кг (АИ $11,39 \pm 0,99$, $P < 0,05$). Однако при этом не было отмечено изменения мутагенной активности, количество патологических митозов не отличалось от данного показателя в контрольной подгруппе.

При парентеральном введении цитопротектора тизоль в дозе 2,5 г/кг, установлено выраженное антиапоптогенное действие (АИ $9,44 \pm 0,63$, $P < 0,05$) и снижение мутагенной активности ($10,90 \pm 0,73$, $P < 0,05$).

При парентеральном введении препарата деринат, установлено снижение активности апоптоза (АИ $12,03 \pm 0,59$, $P < 0,05$), в то же время не отмечено снижения количества патологических митозов.

При комбинированном парентеральном введении препаратов тизоля и дерината, выявлено антиапоптогенное действие (АИ $11,50 \pm 1,25$, $P < 0,05$) и снижение мутагенной активности ($9,32 \pm 0,78$, $P < 0,05$). При этом снижение

числа аномальных митозов было достоверно выше, чем после монотерапии тизолем.

4.9. Заключение

Слизистая оболочка тощей кишки относится к группе тканей с высокой скоростью клеточного обновления. В этом органе на клеточном уровне используется один основной способ регенерации – митотическое деление. Но успех регенерации, как было указано выше, определяется соотношением двух разнонаправленных процессов – пролиферации клеток (митоз) и генетически программируемой гибелью (апоптоз). Недоучет уровня апоптоза может исказить данные о динамике, характере, особенностях регенераторного процесса и значительно сузить понимание особенностей течения последнего в ткани, а значит оставить наши знания о нем неполными.

Изучение действия препаратов основывалось на анализе данных отражающих механизм регенерации, изучении содержания криптального эпителия. С целью получения сведений о качестве популяции эпителиоцитов проводилась оценка количества патологических митозов.

В отсутствии действия экстремального фактора обнаружен выраженный пролиферативный ответ эпителия тощей кишки после введения препарата деринат. Увеличение митотической активности имело место, как в ранние, так и в поздние сроки исследования. Следствием стимуляции митотической активности было увеличение регенерации и клеточности крипты. На апоптоз данный препарат влияния не оказывал.

После комбинированного введения препаратов на 7 сутки отмечено увеличение количества митозов, однако, этого было недостаточно для увеличения скорости клеточного обновления и клеточности крипты. Уровень апоптоза не изменился и соответствовал СУА.

У необлученных подопытных крыс цитопротектор тизоль не влиял на процессы регенерации и уровень апоптоза.

На фоне введения препаратов не выявлено изменения мутагенной активности.

Изучение процессов регенерации при действии на организм экстремальных факторов позволяет обнаружить дополнительные данные, с учетом которых можно дать более полную характеристику действия изучаемых препаратов.

После воздействия ионизирующего излучения дозой 0,5 Гр, в ранние сроки на фоне монотерапии тизолом и комплексной терапии тизолом и деринатом выявлено антиапоптогенное действие. При этом мутагенная активность после комплексной терапии была ниже, а после монотерапии тизолом не отличалась от контрольной подгруппы.

Увеличение регенерации отмечено во всех случаях, но если после монотерапии тизолом и после комплексной терапии это достигалось за счет снижения апоптоза, то после монотерапии деринатом, за счет увеличения пролиферативной активности. В последнем случае это нашло отражение в увеличении клеточности крипты.

В поздние сроки влияния вводимых препаратов на апоптоз не отмечено; стимуляция регенерации и увеличение содержания эпителия крипт выявлено после комплексной терапии и монотерапии деринатом.

Сравнивая гистоархитектонику органа после воздействия экстремального фактора (ИИ дозой 0,5 Гр) в ранние сроки на фоне вводимых препаратов отмечено противовоспалительное действие тизоля проявляющееся в уменьшении отека и лимфоплазмочитарной инфильтрации собственного слоя слизистой и подслизистой оболочки, уменьшении степени расширения сосудов микроциркуляторного русла. У лабораторных животных, которым вводился деринат выявлено восстановление структуры ворсин, отсутствовали деструктивные изменения в слизистой оболочке тощей кишки. При этом не обнаружено выраженного снижения воспалительной реакции в органе. При комплексной терапии имеет место и противовоспалительный эффект и снижение деструктивных изменений в изучаемом органе.

К 7 суткам произошло естественное восстановление гистоархитектоники органа.

В ранние сроки, **после воздействия ИИ дозой 3 Гр** на фоне введения препаратов выявлено снижение апоптоза. При монотерапии тизолом и комплексной терапии также отмечено увеличение регенерации эпителия и увеличение содержания крипталного эпителия, что сочеталось со снижением числа патологических митозов. Препарат деринат в данном случае не вызывал увеличения митозов.

На 7 сутки имело место спонтанное восстановление пролиферативной активности, регенерации эпителия, клеточности крипты. Тем не менее, оставалась повышенной активность апоптоза и уровень патологических митозов.

При анализе изменений гистоархитектоники тощей кишки вновь выявлено выраженное противовоспалительное действие тизоля и снижение степени выраженности деструктивных изменений ворсин на фоне введения дерината. При комплексной терапии, также как и при облучении лабораторных животных в меньшей дозе (0,5 Гр), выявлено противовоспалительное действие и уменьшение степени выраженности некротических изменений в области верхушек ворсин. Несмотря на значительное повреждение структуры органа при облучении 3 Гр к 7 суткам произошло восстановление гистоархитектоники тощей кишки. Следует отметить, что при данной дозе не отмечено полного восстановления структуры тощей кишки ни при введении тизоля ни при монотерапии деринатом.

Проведенные исследования по определению апоптоза с использованием аннексина V – FITC подтвердили и дополнили данные полученные при рутинном свето – микроскопическом исследовании. Снижения апоптоза на 1 сутки после облучения в дозе 3 Гр, также оказывало введение тизоля в значительно меньшей дозе (1 г/кг), однако этого было недостаточно для снижения мутагенной активности. Минимальная вводимая доза тизоля не оказывала действия на уровень апоптоза и уровень мутагенной активности.

Полученные результаты свидетельствуют о дозозависимом снижении апоптоза на введение цитопротектора тизоль. С увеличением дозы цитопротектора мы наблюдали более выраженное снижение апоптоза в эпителии тощей кишки.

Снижая апоптоз, мы добиваемся того, что клетка получает «дополнительное время» на репарацию повреждений. И здесь имеет смысл усилить репаративный ответ клетки введением препаратов, вызывающих восстановление структуры ДНК.

Таким образом, комплексное введение препаратов наиболее целесообразно для восстановления процессов регенерации, восстановления мутационной активности клеток тканей.

Цитопротектор тизоль снижает гибель эпителиоцитов, блокируя обратимую фазу апоптоза. Комбинация тизоля и дерината, приводит к тому, что клетки, которые должны были перейти в необратимую фазу апоптоза становятся мишенью для дерината, который проводит репарацию тех повреждений, которые не удалось устранить естественным способом (без терапии). В том случае, если деринату удастся репарировать повреждение ДНК, то эти клетки пополняют пролиферативный пул эпителиоцитов, за счет чего и достигается увеличение скорости клеточного обновления.

Препарат деринат присутствующий в данной комбинации вызывает репарацию поврежденной ДНК, что в ряде случаев приводит к снижению апоптоза.

3.10. Вероятный механизм антиапоптогенного действия глицеросольвата титана.

Повреждения ДНК возникающие при действии ионизирующего излучения приводят к усилению синтеза и активации белка р53, который играет важную роль, являясь «стражем генома» (D.Lane). В обычных условиях белок р53 находится в латентной форме, в которой он обладает слабой транскрипционной активностью. В данной форме он взаимодействует

с белками репарационной системы, проявляет активность 3'-5'-экзонуклеазы и стимулирует репарацию ДНК. Активация белка p53 проходит следующие этапы:

1. Фосфорилирование аминокислот N-концевого участка по сайтам (Ser-5, Ser-20, Ser-33), расположенным в районе связывания с белком Mdm2 (ингибитором белка p53).

2. Ацетилирование аминокислот C-концевого участка по сайтам (Lis-373, Lis-382). Данный процесс инициируется связыванием освобождающегося от Mdm2 N-концевого участка белка p53 с белком p300/CBP [Б.П. Копнин, 2000].

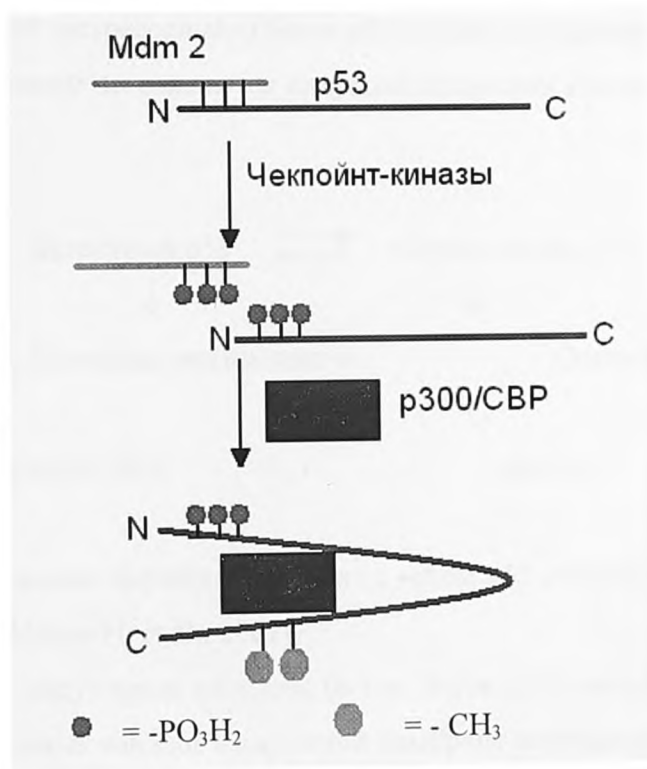


Рис.4. Активация белка p53

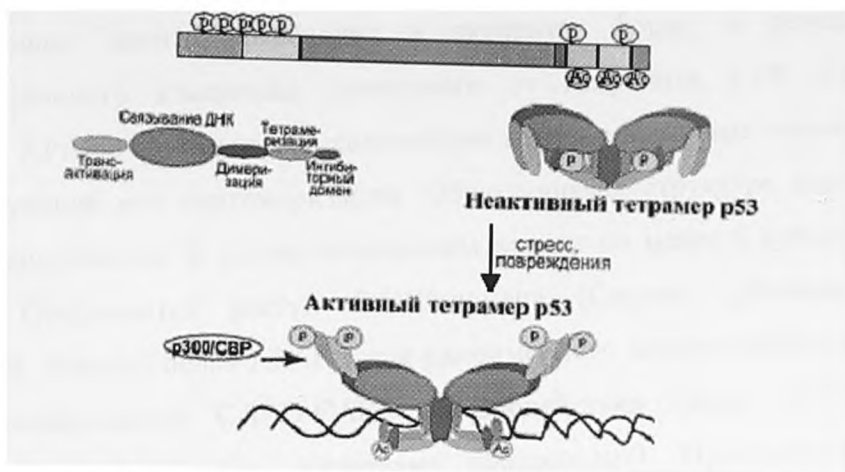
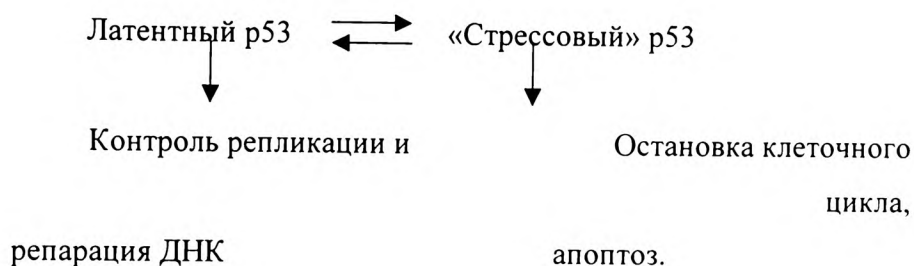


Рис.5. Функциональные домены белка p53

Активированный («стрессовый») белок p53 влияет на специфические гены мишени, следствием чего является индукция остановки клеточного цикла, либо апоптоз.



Аналогичными эффектами наравне с геном p53 обладают его гомологи гены p63, p73 [Maeda H. et al., 2002]

Действие индукторов апоптоза (в т.ч. белок p53) вызывает раскрытие гигантских белковых каналов в наружной мембране митохондрий, способных пропускать белки межмембранного объема, в том числе цитохром-с. Выход белков из межмембранного пространства не вызывает энергетического коллапса клетки, так как количество цитохрома-с, необходимого для синтеза АТФ, в межмембранном пространстве сохраняется [Green D.R. et al., 1998]

Высвобождаемый из митохондрий цитохром-с связывается с цитоплазматическим белком APAF-1, который при воздействии факторов

индуцирующих апоптоз переходит в активную форму в результате конформационного изменения, зависящего от гидролиза АТФ. Связав цитохром с, APAF-1 претерпевает дальнейшие конформационные изменения, способствующие его олигомеризации. Образующаяся структура получила название апоптосомы. В состав апоптосомы входит не менее 8 субъединиц APAF-1. Открывается доступ CARD-домена (Caspase activation and recruitment domain) белка APAF-1 для одноименного домена прокаспазы-9. После гомофильного CARD-CARD взаимодействия белка APAF-1 с прокаспазой-9 происходит связывание прокаспазы-3. Пространственное сближение прокаспазы-9 на апоптосоме приводит к межмолекулярному протеолизу прокаспазы-9 с образованием активной каспазы-9 (инициирующая каспаза I эшелона). Каспаза-9 расщепляет прокаспазу-3 с образованием активной каспазы-3 (эффекторная каспаза II эшелона). Апоптосома является кофактором каспаз как I, так и II эшелона [Adrian C. et al., 1999].

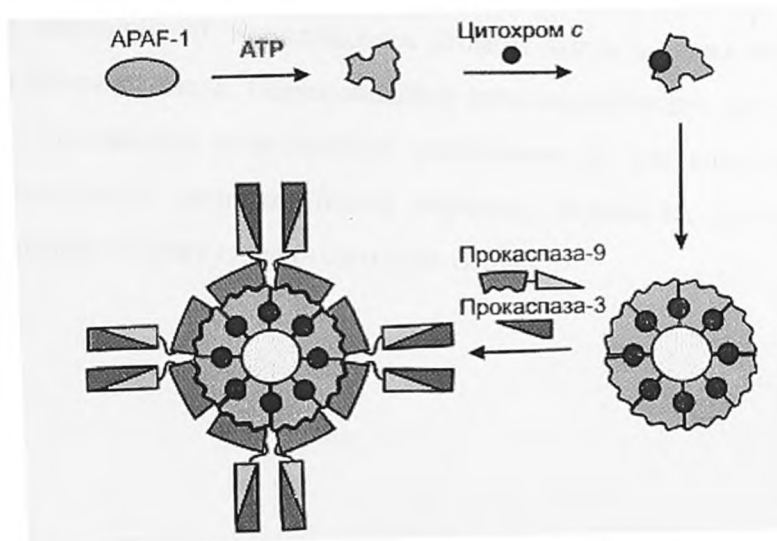


Рис.6. Образование апоптосомы и активация прокаспаз 9 и 3

Объясняя механизм антиапоптогенного действия глицеросольвата титана, необходимо обратиться к его составляющей- микроэлементу титан, который относится к d-элементам. Атом содержит 22 протона, 22 электрона и 26 нейтронов. Электронная формула имеет следующий вид:

Валентными орбиталями являются орбитали внешней электронной оболочки, находящиеся в нестабильном энергетическом состоянии, максимальная валентность равна 9, при этом возможно образование 4 связей по обменному механизму и 5 по донорно-акцепторному.

При внутрибрюшинном введении глицеросольвата титана концентрация микроэлемента титана как в костном мозге, так и в тонкой кишке через 24 часа после введения примерно в 10 раз превышала концентрацию титана в органах интактных животных [Л.П. Ларионов, 1989].

В клетках тканей подвергающихся воздействию индукторов апоптоза, цитохром-с, имеющий в своем составе ион железа Fe^{3+} , выходит из межмембранного пространства митохондрий (рН 3,4) в цитоплазму (рН 7,2). Резкое изменение рН среды приводит к дестабилизации структуры цитохрома-с и, возможно, к ослаблению химических связей с ионом Fe^{3+} . При этом титан, который присутствует в избытке в цитоплазме, может занимать позицию Fe^{3+} , образуя координационные связи с атомом серы в аминокислоте метионин-80, пиридиновым атомом азота, а также четырьмя пиррольными атомами азота. Образующийся титансодержащий цитохром-с не способен образовывать полноценную апоптосому и, как следствие, не способен активировать каспазы. Таким образом, возможно, достигается антиапоптотический эффект глицеросольвата титана.

ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последние годы наметился существенный интерес к использованию металлокомплексных препаратов для стимуляции регенераторных процессов. Препараты данного класса (натрия альгинат, натрия дезоксирибонуклеат, цинка гиалуронат, висмута трикалия дицитрат) способны снижать чувствительность клеток к повреждающему действию химиотерапевтических препаратов и радиотерапии, что сопровождается снижением кардио – и миелотоксического действия у онкологических больных и приводит к повышению стабильности и результативности терапевтического эффекта повторных курсов лечения; стимулируют заживление язв желудочно – кишечного тракта.

Среди известных в настоящее время металлокомплексных препаратов по своей биологической активности обращает на себя внимание аквакомплекс глицеросольвата титана. Тизоль был разработан и выпускается предприятием «ОЛИМП» («Общество лабораторных исследований медицинских препаратов», г. Екатеринбург; Емельянова И.В., Лопатина Г.П., Филатова Е.А.).

В проведенных экспериментальных исследованиях была изучена фармакокинетика и фармакодинамика препарата при парентеральном введении подопытным животным. Эти исследования показали, что уже через сутки после введения в организм экспериментальных животных определялось около 48 % тизоля, причем он депонировался в следующих органах: желудок, тонкий кишечник, легкие, печень, почки, костный мозг. Через 2 недели содержание титана в организме приближается к контрольным цифрам. Таким образом, проведенные ранее исследования свидетельствуют о том, что препарат тизоль быстро выводится из организма. Поставленные эксперименты по изучению токсического действия, а также на предмет алергизирующих свойств препарата показали, что тизоль не обладает токсическим действием (относится к четвертому классу опасности, согласно ГОСТу 12.097.76) и не является потенциальным аллергеном.

Проведенные экспериментальные исследования выявили, что тизоль оказывает радиопротекторное действие при парентеральном введении экспериментальным животным до радиационного облучения (Знаменский В.В., Щеголева Р.А., 2004 г.). Также было показано, что препарат оказывает, а также усиливает действие противовоспалительных (Соколова Л.А., Костина О.А., 2003 г.; тизоль рекомендован МЗ РФ (Р 001667/01 - 2002 в качестве лекарственного средства для местного применения как обладающий противовоспалительным действием), противомикробных препаратов (Евстигнеева Н.П., Герасимова Н.М., 2003 г.), обладает проводниковой активностью при применении в комплексе с другими лекарственными препаратами (Ронь Г.И., Еловикова Т.М., 2003 г.).

В клинической практике использование тизоля находит применение в основном в качестве аппликаций на пораженные участки тканей, где он используется как препарат обладающий противовоспалительным действием и как проводник лекарственных препаратов.

Таким образом, несмотря на проведенные ранее исследования тизоля, использование препарата при парентеральном введении было невозможно, поскольку отсутствовали экспериментальные данные о его действии на ткани, органы и системы органов как в физиологических условиях, так и в условиях воздействия экстремального фактора. Также оставался не изученным механизм действия препарата.

Поскольку тизоль относится к металлокомплексным препаратам, предполагалось, что парентеральное введение тизоля в условиях воздействия повреждающего фактора, как и ряда других металлокомплексных соединений, может способствовать увеличению скорости клеточного обновления, а также снижению индуцированного мутагенеза. Известно, что клеточное обновление определяется соотношением двух разнонаправленных процессов: митотического деления клетки и генетически запрограммированной гибели клетки (апоптоз). Современные данные о влиянии металлокомплексных соединений на апоптоз крайне скудны. В этом свете

представлялось интересным изучение действия тизоля не только на пролиферацию клеток, но и на выраженность апоптоза и мутагенную активность.

Влияние тизоля на регенерацию могло быть усилено препаратами, действие которых направлено на генетический аппарат клетки (деринат, лейкоген и др.).

Ранее не исследовалось при парентеральном введении в условиях воздействия экстремального фактора комбинированное введение тизоля с препаратом, оказывающим выраженное стимулирующее действие.

Среди экстремальных воздействий особое внимание заслуживает ионизирующее излучение, поскольку его действие распространяется преимущественно на быстрообновляющиеся ткани, которые в свою очередь нуждаются в поддержании высокого регенераторного потенциала.

Учитывая этот факт, а также данные фармакокинетики и фармакодинамики препарата тизоль, нами исследовались ткани с высокой скоростью клеточного обновления – костный мозг и эпителий слизистой оболочки тощей кишки. Изучалось действие тизоля как в физиологических условиях, так и в условиях воздействия ионизирующего излучения. Изучение процессов регенерации при действии на организм экстремальных факторов позволяет обнаружить дополнительные данные, с учетом которых можно дать более полную характеристику действия изучаемых препаратов.

Помимо действия аквакомплекса глицеросольвата титана (тизоль) исследовалось действие препарата оказывающего выраженное стимулирующее действие на митотическое деление клеток (деринат), а также комбинированное использование тизоля и дерината.

Производилась оценка процессов клеточного обновления (митоз и апоптоз). Количественная оценка данного процесса определялась как соотношение процессов пролиферации и элиминации клеток. Также определялось количественное содержание клеток в указанных тканях (по данным миелограммы и средней клеточности крипты). С целью цитогенетической

оценки качества клеток в изучаемой популяции производился анализ микроядерного теста, уровня патологических митозов, характеризующих мутационный процесс в ткани.

Проведенные нами исследования позволили установить **влияние цитопротекторной терапии тизолем на процессы регенерации гемопоэтической ткани и эпителия кишечника после воздействия ионизирующего излучения.**

Изучение вышеуказанных показателей, производилось после парентерального введения раствора глицеросольвата титана в средней терапевтической дозе (тизол - 2,5 г/кг), раствора дезоксирибонуклеата натрия (деринат – 7 мкг/кг), а также их комбинированного введения, с целью терапии постлучевых нарушений вызванных воздействием ионизирующего излучения в дозах 0,5 и 3 Гр.

В *отсутствии действия ионизирующего излучения* после курса проведенной терапии препарат **тизол** оказывал стимулирующее действие на эритроидный росток, было отмечено увеличение пролиферативной активности элементов данного ростка. В гранулоцитарном ростке костного мозга и в эпителии тощей кишки значимого изменения остальных анализируемых показателей отмечено не было.

После воздействия лучевой нагрузки выявлено выраженное антиапоптогенное действие тизоля. Снижение апоптоза отмечено в гранулоцитарном и эритроидном дифферонах, а также в эпителии тощей кишки. Выраженный антиапоптогенный эффект нашел свое подтверждение и дополнение в гистологических препаратах тонкого кишечника, окрашенных Annexin - V FITC и акридин - оранжевым с использованием флуоресцентной микроскопии. После того, как был выявлен антиапоптогенный эффект тизоля, решено было изучить действие различных доз препарата. С этой целью парентерально вводились следующие дозы препарата тизоль: минимальная терапевтическая доза – 0,1 г/кг, средняя терапевтическая доза 1,0 г/кг. В этом случае определение выраженности апоптоза также

проводилось в гистологических препаратах тонкого кишечника при окраске Annexin - V FITC и акридин - оранжевым с использованием флуоресцентной микроскопии. В первом случае значимого влияния на апоптоз выявлено не было, однако после введения дозы 1,0 г/кг вновь установлено антиапоптогенное действие. Полученные данные свидетельствуют, что антиапоптогенное действие тизоля носит дозозависимый характер, то есть с увеличением дозы вводимого препарата уменьшается выраженность апоптоза.

После получения данных об уровне апоптоза принципиально важным представлялся вопрос о влиянии препарата на уровень мутагенной активности. Для этого производился подсчет микроядерного теста в костном мозге; подсчет числа патологических митозов в костном мозге и в эпителии тонкого кишечника.

Было установлено, что в физиологических условиях тизоль не влияет на уровень мутагенной активности (также как и на уровень апоптоза).

После воздействия лучевой нагрузки на фоне терапии тизолем установлено снижение мутагенной активности в эритроидном ростке, эпителии тонкого кишечника; в гранулоцитарном ростке значимого снижения мутагенной активности не отмечено. Следует особо подчеркнуть, что выявленное снижение индуцированного мутагенеза имело место при облучении дозой 3 Гр и не было выявлено при облучении дозой 0,5 Гр. Что в свою очередь свидетельствует о том, что подобный терапевтический эффект проявляется в случае значительного превышения уровня мутагенеза значений СУМ. После изучения влияния на мутагенную активность средней терапевтической дозы тизоля (2,5 г/кг) были проведены исследования по изучению влияния меньших доз: средней терапевтической дозы – 1,0 г/кг и минимальной терапевтической дозы – 0,1 г/кг. При этом не было выявлено значимого снижения мутагенной активности в изучаемых тканях.

Полученные результаты свидетельствуют о дозозависимом действии цитопротектора на апоптоз и уровень патологических митозов (с

увеличением дозы вводимого парентерально препарата увеличивается его терапевтическое действие), а также о тропности препарата к эритроидному ростку в костном мозге.

Дальнейшим этапом работы было определение количественного содержания элементов в изучаемых тканях на фоне терапии тизолем. С этой целью в костном мозге производился подсчет миелограммы, а в кишечнике анализ средней клеточности крипты. После воздействия ионизирующего излучения, также как и в физиологических условиях, выявлено стимулирующее действие тизоля на эритропоэз. При значительной лучевой нагрузке (3 Гр) протекторное действие на эритроциты отмечено уже в ранние сроки. Увеличения общего содержания элементов гранулоцитарного ростка установлено не было. Следствием антиапоптогенного действия тизоля было увеличение содержания криптального эпителия, поскольку пролиферативная активность эпителиоцитов при этом не изменилась.

Таким образом, протекторное действие тизоля при парентеральном введении в условиях воздействия ионизирующего излучения приводит к стимуляции эритропоэза, нормализации показателей средней клеточности крипты в тонком кишечнике, снижению индуцированной ионизирующим излучением мутагенной активности в изучаемых тканях.

Впервые выявленное антиапоптогенное действие требовало ответа на вопрос о механизме действия тизоля. Механизм антиапоптогенного действия тизоля, вероятно, заключается в том, что микроэлемент титан, входящий в его состав может взаимодействовать с цитохромом *c*, содержащим в своей структуре химически близкородственный титану элемент – железо. Цитохром *c* является необходимым фактором для реализации каспаз-зависимого пути индукции апоптоза, под действием индукторов апоптоза через каналы (Вах-Вах димеры) в наружной мембране митохондрий выходит в цитоплазму, где связывается с белком APAF-1; данный комплекс подвергается олигомеризации с образованием апоптосомы, которая необходима для активации вначале иницирующих, а затем эффекторных

каспаз (каспазы 9 и 3 соответственно). При выходе цитохрома *c* из межмембранного пространства митохондрий (pH=3,4) в цитоплазму (pH=7,2) ослабевают связи атома железа с белком (аминокислотами гистидин в положении 18 и метионин в положении 80), а при накоплении в цитоплазме большого количества химически близкородственного, но более реакционно-способного титана, вероятно, возможна замена атома железа на атом титана в структуре цитохрома *c*, что инактивирует его как апоптогенный фактор.

В таком случае, иммортализация клетки является временной, так как экзогенный титан элиминируется из организма (через 24 часа после введения тизоля – на 52 %), а цитохром *c* выходящий из митохондрий при продолжении действия индукторов апоптоза остается интактным и способным к взаимодействию с APAF-1 и активации каспаз. Таким образом, клетка, в которой произошла индукция апоптоза, получает определенное время на устранение генетической нестабильности (ферменты репарации инактивируются только после активации иницирующих каспаз). Однако если генетическая нестабильность будет сохраняться, программа апоптоза будет реализована.

С целью подтверждения гипотезы был проведен эксперимент. Анализировалось содержание свободного фотометрически-определяемого железа в растворе при инкубации смеси цитохрома *c* и тизоля в соотношении чистых веществ 1:50 (соотношение исходных растворов цитохрома *c* (0,25%) и тизоля (50%) 1:1,5), что приблизительно соответствует соотношению цитохрома *c* и тизоля в цитоплазме клеток при введении последнего в дозе 2,5 г/кг. Инкубация проводилась при температуре 37C⁰ в течение 24 часов. Кроме того, оценивалось содержание свободного железа в растворах цитохрома *c* и тизоля.

Определение свободного железа производилось с использованием набора реагентов для определения концентрации железа в сыворотке и плазме крови колориметрическим методом без депротеинизации «Iron E-FL».

Были получены данные, свидетельствующие об увеличении свободного железа при инкубации цитохрома – с и глицеросольвата титана, а также о перекрестной реакции реагента на железо с титаном, что дополнительно подчеркивает химическую близость обоих микроэлементов.

Проведенные исследования позволили приблизиться к ответу на вопрос о механизме антиапоптогенного действия препарата тизоль и позволяют с большей уверенностью рассматривать антиапоптогенное действие тизоля через образование титансодержащего цитохрома – с, который уже не способен приводить к активации каспаз и последующему развитию апоптоза. После выявленного протекторного действия препарата тизоль вводимого парентерально в условиях воздействия ионизирующего излучения, было решено изучить действие тизоля в комбинации с одним из известных препаратов, обладающих выраженным регенерирующим действием. Для этого выбор был остановлен на препарате деринат. Этот препарат широко используется в клинике для лечения радиационных поражений, нарушений гемопоэза. Тем не менее, оставалось не изученным действие дерината в физиологических и в условиях воздействия экстремального фактора на мутагенную активность, а также на апоптоз, являющегося одним из аспектов, определяющих успех регенерации.

Полученные данные свидетельствуют, что в *отсутствии действия экстремального фактора препарат деринат* после проведенного курса вызывает стимуляцию эритропоэза и гранулоцитопоэза, что заключалось в увеличении количества митозов, увеличении содержания элементов указанных ростков. Также имело место увеличение пролиферации эпителия и клеточности крипты в слизистой оболочке тощей кишки.

На апоптоз и мутагенную активность изучаемых тканей препарат в этом случае значимого действия не оказывал.

После воздействия лучевой нагрузки уже в ранние сроки на фоне введения препарата деринат, выявлена стимуляция регенерации гранулоцитарного ростка в костном мозге и эпителия тощей кишки. Успех регенерации в

данном случае обеспечен влиянием препарата на пролиферативную активность, а также выявленным снижением апоптоза в изучаемых тканях. Следствием действия препарата на процессы регенерации было увеличение количества криптального эпителия. В то же время значимого увеличения содержания гранулоцитов в костном мозге отмечено не было.

После получения данных о количественном содержании клеток представлял интерес об их цитогенетическом качестве. С этой целью оценивалась мутагенная активность по данным микроядерного теста в костном мозге; количеству патологических митозов в костном мозге и эпителии тонкого кишечника.

В ранние сроки было выявлено снижение мутагенной активности в костном мозге и отсутствие значимого влияния на этот показатель в эпителии кишечника.

Таким образом, в костном мозге препарат действовал преимущественно на гранулоцитарный росток.

После проведения курса терапии деринатом, выявлено увеличение количества митозов в гранулоцитарном и эритроидном дифферонах костного мозга; восстановление выраженности апоптоза в эритроидном ростке, в то время как в контрольной подгруппе он оставался повышенным. Следствием влияния препарата на регенерацию было увеличение общего содержания в костном мозге гранулоцитарных и эритроидных элементов.

В эпителии тонкого кишечника также наблюдалось увеличение митотической активности криптального эпителия, увеличение численности эпителия крипт.

На фоне проводимой терапии произошло восстановление мутагенной активности в костном мозге и в эпителии тонкого кишечника.

Следует отметить, что указанные эффекты встречались реже при значительной лучевой нагрузке, что свидетельствует о дозозависимом действии препарата, которое уменьшается с увеличением дозы радиационной нагрузки.

После получения экспериментальных данных о цитопротекторном действии тизоля и терапевтическом действии дерината представлял интерес их комбинированного использования. Поскольку тизоль преимущественно действовал в костном мозге на эритроидный росток, а деринат в ранние сроки на гранулоцитарный. На фоне терапии как тизолем так и деринатом был выявлен терапевтический эффект на эпителий тощей кишки как в плане увеличения численности клеток, так и в плане их цитогенетического качества. Тизоль действовал на регенерацию преимущественно через снижение апоптоза, а деринат преимущественно через увеличение митотической активности. Таким образом при комбинированном введении препаратов удавалось бы воздействовать на обе составляющие процесса регенерации: митоз и апоптоз.

В отсутствие действия экстремального фактора при комбинированном введении препаратов тизоля и дерината выявлено увеличение пролиферативной активности гемопозитических клеток костного мозга и эпителия тощей кишки. Значимого изменения уровня апоптоза и мутагенной активности в изучаемых тканях не установлено.

После воздействия лучевой нагрузки в ранние сроки на фоне комплексной терапии отмечено увеличение пролиферативной активности, снижение апоптоза в гранулоцитарном и эритроидном ростках костного мозга; увеличение содержания элементов указанных ростков. На митотическую активность в тонком кишечнике значимого действия не отмечено. Увеличение клеточности крипты в этом случае достигнуто за счет антиапоптогенного действия, которое проявлялось при выраженной радиационной нагрузке.

Выявлено снижение индуцированной ионизирующим излучением мутагенной активности, этот эффект отмечен как в костном мозге, так и в эпителии кишечника. В эпителии кишечника снижение мутагенной активности было статистически более выраженным, чем на фоне терапии тизолем.

После проведения курса комплексной терапии, установлено стимулирующее действие на гранулоцитопоез и эритропоез. Отмечено снижение апоптоза в элементах эритроидного ростка костного мозга и в эпителии кишечника. В изучаемых тканях выявлено снижение мутагенной. Указанные терапевтические эффекты наиболее ярко проявляются при значительной лучевой нагрузке.

Таким образом, комплексное использование тизоля с препаратом обладающим выраженными репаративными возможностями является наиболее предпочтительным и в плане увеличения клеточных элементов и в плане повышения их цитогенетического качества.

При воздействии ионизирующего излучения в ранние сроки, в группе контроля отмечено угнетение пролиферативной активности, повышение уровня апоптоза и мутагенной активности. Имело место стресс-реакция системы крови на действие ионизирующего излучения. При этом в костном мозге при облучении 0,5 Гр выявлен лимфоцитарный пик, снижение содержания эритроидных и гранулоцитарных элементов. В периферической крови лимфопения, ретикулоцитоз и гранулоцитоз.

При облучении подопытных крыс дозой 3 Гр не отмечено лимфоцитарного пика в костном мозге, что свидетельствует о преобладании специфического действия ионизирующего излучения над стресс-реакцией системы крови. Опустошение костного мозга и увеличение содержания ретикулоцитов и гранулоцитов в периферической крови было выражено в большей степени, чем при облучении дозой 0,5 Гр.

Следует отметить, что эритроидный росток в целом проявил большую радиочувствительность, чем гранулоцитарный.

В тощей кишке в это время также отмечено угнетение пролиферативной активности, увеличение апоптоза и мутагенной активности, снижение клеточности крипты.

К 7 суткам в обоих изучаемых дифферонах произошло естественное восстановление митотической активности, но не отмечено восстановления

общей численности элементов. Иная картина наблюдалась в эпителии слизистой тощей кишки, здесь произошло восстановление не только пролиферативной активности, но и клеточности крипты. Однако апоптоз и уровень мутагенной активности оставались повышенными.

Таким образом, при парентеральном введении впервые выявлено антиапоптогенное действие на фоне терапии тизолом, а также при комбинированном введении тизоля и дерината. При этом в первом случае снижение апоптоза более значимое, чем на фоне комплексной терапии тизолом и деринатом. В настоящей работе также впервые выявлено снижение мутагенной активности на фоне терапии тизолом, деринатом и при их комбинированном введении. Нашло подтверждение стимулирующее действие дерината на пролиферативную активность; показано в большинстве случаев отсутствие значимого влияния на апоптоз.

Полученные данные свидетельствуют, что более целесообразным представляется применение комплексной терапии, поскольку в этом случае наблюдается наиболее выраженное снижение индуцированной мутагенной активности, чаще отмечено увеличение скорости клеточного обновления и, как следствие, увеличение количества клеточных элементов в изучаемых тканях.

ВЫВОДЫ

1. Тизоль при парентеральном введении в физиологических условиях оказывает стимулирующее действие на эритропоэз. Это действие реализуется за счет повышения митотической активности элементов пролиферативного пула. На пролиферативную активность эпителия кишечника тизоль не влияет.
2. Тизоль при парентеральном введении в условиях воздействия ионизирующего излучения оказывает антиапоптогенное действие, снижает мутагенную активность, стимулирует процессы клеточного обновления. Антиапоптогенное действие тизоля имеет дозозависимый характер, о чем свидетельствует снижение выраженности апоптоза при увеличении дозы вводимого препарата.
3. Выявленное при парентеральном введении тизоля антиапоптогенное действие, снижение индуцированного мутагенеза, повышение скорости клеточного обновления позволяют охарактеризовать аквакомплекс глицеросольвата титана (тизоль) как препарат, обладающий цитопротективным действием.
4. Цитопротективное действие тизоля опосредуется преимущественным влиянием на снижение величины апоптоза. Одним из механизмов такого действия может быть образование в цитоплазме клетки титансодержащего цитохрома – *c*, который не способен образовывать полноценную апоптосому, вследствие чего нарушается активация каспаз, имеющих решающее значение в индукции апоптоза.
5. Препарат деринат в условиях радиационного повреждения оказывает стимулирующее действие на эритропоэз, гранулоцитопоэз, регенераторные процессы в эпителии тощей кишки; снижает индуцированный мутагенез.
6. Комплексное использование тизоля и репаранта деринат в условиях постлучевого повреждения оказывает наиболее существенный цитопротективный эффект. При этом цитопротективное действие дерината реализуется через стимуляцию митотической активности и снижение

индуцированного мутагенеза, в то время как тизоль обладает преимущественным действием на снижение апоптоза.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

06.04.11 11.11.11

1. Абросимов А.Ю. Некроз и апоптоз клеток саркомы М – 1 до и после облучения опухоли // Автореф. Дис. На соискание учен. степ.канд. мед. Наук. – Обнинск, 1993.
2. Абросимов А.Ю., Загребин В.М., Лушников Е.Ф. и др. Радиационные повреждения и гибель клеток опухолей // Мед. Радиол. – 1992. – Т. 37, № 11 – 12. – С. 35 – 37.
3. Автондилов Г.Г. Проблемы патогенеза и патологоанатомической диагностики болезней в аспектах морфометрии. М.: Медицина, 1984. 288 с.
4. Автондилов Г.Г. Медицинская морфометрия М.: Медицина, 1990. 384 с.
5. Аруин Л.И. Апоптоз при патологических процессах в органах пищеварения // Клин. мед. – 2000. – Т. 78, № 1. – С. 5 – 10.
6. Аруин Л.И., Капуллер Л.Л., Исаков В.А. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника. – М.: Триада – Х, 1998. – 496 с.
7. Балаж А., Блажек И. Эндогенные ингибиторы клеточной пролиферации. М.: Мир, 1982. 302 с.
8. Барышников А.Ю., Шишкин Ю.В. Программированная клеточная смерть (апоптоз) // Росс. онкол. журн. – 1996. - № 1. – С. 58 – 61.
9. Бердышев Г.Д. Генетически обусловленная гибель клеток. Ее механизмы и значение в многоклеточном организме // Успехи совр. биол. – 1968. – Т. – 66, вып. 2 (5). – С.226 – 246.
10. Бесядовский Р.А., Иванов К.В., Козюра А.К. Справочное руководство для радиобиологов. М.: Атомиздат, 1978. 128 с.
11. Бокерия Л.А., Бескровнова Н.Н., Цыпленкова В.Г. и др. Морфологический анализ аритмогенных и неаритмогенных зон субэндокардиальных отделов сердца у больных с нарушением ритма // Арх. Пат. – 1995. – Т. 57, № 4. – С. 51 – 56.

12. Власов П.А., Квачева Ю.Е. Апоптоз гемопоэтических клеток костного мозга людей с острой лучевой болезнью (по материалам вскрытий лиц, пострадавших в результате аварии на Чернобыльской АЭС). // Гематология и трансфузиология, 1997, № 6, С. 30 – 32.
13. Войно – Ясенецкий М.В., Жаботинский Ю.М. Источник ошибок при морфологических исследованиях. Л.: Медицина, 1970. 320 с.
14. Волянский Ю.Л., Мосина В.А., Макарова Ю.М. и др. Лишение сыворотки вызывает апоптоз тимокитов, не требующий синтеза белка и генерации АТФ // Биохимия. – 1995. – Т. 60, № 8. – С. 1201 – 1208.
15. Гаврилов О.К., Козинец Г.И., Черняк Н.Б. Клетки костного мозга и периферической крови (структура, биохимия, функция). М.: Медицина, 1985. 288 с.
16. Гацура В.В., Саратиков А.С. Фармакологические агенты в экспериментальной медицине и биологии. Томск: Изд – во Томск. ун – та, 1977. 156 с.
17. Гольдберг Д.И., Гольдберг Е.Д. Справочник по гематологии с атласом микрофотограмм. Томск: Изд – во Томск. ун – та, 1971. 254 с.
18. Гольдберг Д.И., Гольдберг Е.Д., Шубин Н.Г. Гематология животных. Томск: Изд – во Томск. ун – та, 1973. 182 с.
19. Гольдберг Е.Д. Справочник по гематологии с атласом микрофотограмм. Томск: Изд – во Томск. ун – та, 1989. 468 с.
20. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Агафонов В.И. и др. Принципы создания лекарственных препаратов – стимуляторов кроветворения природного происхождения // Эксперим. и клин. фармакол. 1995. Т. 58, № 1 С. 3 – 7.
21. Горизонтов П.Д., Белоусова О.И., Федотова М.И. Стресс-система крови. М.: Медицина, 1983. 240 с.
22. Груздев Г.П. Острый радиационный костномозговой синдром. М.: Медицина, 1988. 144 с.

23. Груздев Г.П., Вялова Н.А., Суворова Л.А., Щербова Е.Н. Проблема пространственного распределения созревающих кроветворных клеточных элементов // Пробл. гематологии и переливания крови. 1982. Т. 27, № 9. С. 54 – 57.
24. Груздев Г.П., Щербова Е.Н., Гордеева А.А., Иванова Т.А. К проблеме «функциональной мозаичности» костного мозга // Цитология. 1982. Т. 24, № 10. С. 1244 – 1248.
25. Гуревич Л.Е., Исаков В.А. Использование в иммуногистохимических исследованиях метода восстановления антигенной специфичности воздействием микроволн на ткани, фиксированные формалином и заключенные в парафин, 1999, № 2, С. 48 – 50.
26. Гуськова А.К., Байсоголов Г.Д. Лучевая болезнь человека. – М.: Медицина, 1971. – 384 с.
27. Дыгай А.М., Гольдберг Е.Д., Мелик – Гайказян Е.В. К природе и биологической роли лимфоцитоза, развивающегося в кроветворной ткани костного мозга при его локальном облучении // Радиобиология. 1981. Т. 21, № 6. С. 873 – 878.
28. Дыгай А.М., Клименко Н.А. Воспаление и гемопоэз. Томск: Изд – во Томск. ун – та, 1992. 276 с.
29. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А., Западнюк Б.В. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. Киев: Вища шк., 1983. 383 с.
30. Зарецкая А.И. Электронно – микроскопический анализ апоптоза клеток рака прямой кишки до и после облучения // Арх. пат. – 1988. – Т. 50, вып. 1. – С. 46 – 52.
31. Захаров Ю.М. О роли центрального макрофага эритробластического островка в регуляции эритропоэза // Кроветворные клетки – предшественники в механизмах повреждения и компенсации системы крови при действии на организм экстремальных факторов: Тез. докл. к симпозиуму. Челябинск, 1986. С. 21.

32. Захаров Ю.М., Синицын П.Д., Воргова Л.В., Коробкин А.В. Новые возможности оценки эритропоэза // Нарушение механизмов регуляции и их коррекция: Тез. докл. IV Всесоюз. съезда патофизиологов 3 – 6 октября 1989 г., Кишинев. М., 1989. Т. III. С. 1225.
33. Иванов А.А., Пальцев М.А. Роль методов клеточной и молекулярной биологии в патологии. // Архив патологии, 1998, № 3, С. 3 – 5.
34. Квачева Ю.Е. Морфологические типы радиационно – индуцированной гибели клеток кроветворной ткани, ее биологическая суть и значимость на различных этапах развития острого радиационного поражения. // Рад. биология. Радиоэкология, 2002, № 3, С. 287 – 292.
35. Квачева Ю.Е. Апоптотическая гибель клеток костного мозга в восстановительном периоде острой лучевой болезни и ее роль в патогенезе гематологического синдрома // Мед. радиол. и радиац. безопасность, 2002, Т. 47, № 5, С. 17 – 22.
36. Коган Е.А., Угрюмов Д.А., Жак Г. Морфологические и молекулярно – биологические особенности процессов кератинизации и апоптоза в плоскоклеточном раке легкого // Арх. пат. – Т. 62, № 3. – С. 16 – 20.
37. Колюбаева С.Н., Степанов Р.П., Щедрина Л.В. и др. Электронно – микроскопический анализ пострadiационной апоптотической гибели тимоцитов и лимфоцитов периферической крови // Радиобиология. – 1988. – Т. 28, вып. 2. – С. 189 – 199.
38. Коршунов А.Г., Сычева Р.В., Голанов А.В. Иммуногистохимическое изучение апоптоза в глиобластомах больших полушарий головного мозга // Арх. пат. – 1998. – Т. 60, № 3. – С. 23 – 27.
39. Крестьянинова О.Г. О характере эритропоэза в эритробластических островках костного мозга при экспериментальных анемиях: Автореф. дис...канд. мед. наук. Челябинск, 1994. 23 с.
40. Логинов А.С., Аруин Л.И. Клиническая морфология печени. – М.: Медицина, 1985. – 240 с.

41. Лукьянова Н.Ю., Кулик Г.И., Чехун В.Ф. роль генов p53 и bcl-2 в апоптозе и лекарственной резистентности опухолей // Вопр. онкол. – 2000. – Т. 46, № 2. – С. 121 – 128.
42. Луппа Х. Основы гистохимии. М.: Мир, 1980. 343 с.
43. Лушников Е.Ф. Апоптоз клетки при лучевом патоморфозе опухолей // Арх. пат. – 1986. – Т. 58, № 3. – С. 60- 67.
44. Лушников Е.Ф., Загребин В.М. Апоптоз клеток: морфология, биологическая роль, механизмы развития // Арх. пат. – 1987. – Т. 49, вып. 2. – С. 89 – 94.
45. Мельников И.Ю. Исследование эритробластических островков костного мозга при различных функциональных состояниях эритропоэза: Автореф. дис... канд. мед. наук. Челябинск: Челяб. гос. мед. ин-т, 1983. 12 с.
46. Моничев А.Я. Динамика кроветворения. М.: Медицина, 1983. 176 с.
47. Пожарский К.М., Леенман Е.Е. Значение иммуногистохимических методик для определения характера лечения и прогноза опухолевых заболеваний. // Архив патологии, 2000, № 5, С. 3 – 11.
48. Программированная клеточная гибель / Под ред. Проф. В.С. Новикова. – СПб.: Наука, 1996. – 276 с.
49. Райхлин Н.Т., Смирнова Е.А., Перевошиков А.Г. Апоптоз и его роль в механизмах регуляции роста опухолевых клеток с множественной лекарственной устойчивостью // Арх. пат. – 1996. – Т. 58, вып. 2. – С. 3 – 8.
50. Ремезова А.В. Реакция гранулоцитов периферической крови и костного мозга на введение эстрогенов и докса на фоне воспалительной реакции // Девятый Всесоюз. съезд анатомов, гистол. и эмбриол. Минск, 1981. С. 328.
51. Романенко А.М. Апоптоз и рак // Арх. пат. – 1996. – Т. 58, вып. 3. – С. – 18 – 23.

52. Рябов С.И. Основы физиологии и патологии эритропоэза. Л.: Медицина, 1971. 256 с.
53. Северин М.В., Юшков Б.Г., Ястребов А.П. Регенерация тканей при экстремальных воздействиях на организм. Екатеринбург: УрГМИ, 1993. 186 с.
54. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме. М.: Медгиз, 1960. 254 с.
55. Сидоренко А.В., Андрианова Л.Ф. Содержание стволовых кроветворных стромальных клеток – предшественников в костном мозге мышей СВА разного возраста // Стволовые клетки и опухолевый рост: Сб. науч. тр. Киев, 1985. С. 123 – 127.
56. Скулачев В.П. Феноптоз: запрограммированная смерть организма // Биохимия. – 1999. – Т. – 64, вып. 12.. – С. 1679 – 1688.
57. Трахтенберг И.М., Сова Р.Е., Шефтель В.О., Оникиенко Ф.А. Проблема нормы в токсикологии (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы). М.: Медицина, 1991. 208 с.
58. Ужанский Я.Г. Физиологические механизмы регенерации крови. М.: Медицина, 1968. 264 с.
59. Уманский С.Р. Генетическая программа клеточной гибели: гипотеза и некоторые приложения (трансформация, канцерогенез, старение) // Успехи совр. биол. – Т. 93, № 1. – С. 139 – 148.
60. Уманский С.Р. Апоптоз: молекулярные и клеточные механизмы // Мол. биол. – 1996ю – Т.30, вып. 3. – С. 487 – 502.
61. Хансон К.П., Комар В.Е. Молекулярные механизмы радиационной гибели клеток. – М.: Энергоатомиздат, 1985. – 152 с.
62. Цыпленкова В.Г., Бескровна Н.Н. Апоптоз // Арх. пат. – 1996. – Т. 58, Т. 5. – С. 71 – 74.
63. Ярилин А.А. Апоптоз и его место в иммунных процессах // Иммунология. – 1996. - № 1. – С. 10 – 23.

64. Ярилин А.А. Апоптоз. Природа феномена и его роль в целостном организме // Пат. Физиол. – 1998ю - № 2. – С. 38 – 48.
65. Ярыгин Н.Е., Кораблев А.В., Значение программированной гибели эндотелия в построении внутриорганный кровеносного русла в эмбриогенезе человека // Арх. пат. – 1995. – Т. 57, вып. 6. – С. 39 – 44.
66. Aggelopoulou E., Troungos C., Goutas N. et al. Immunohistochemical detection of p53 protein in HPV positive oral lesions. // Anticancer Res., 1998. – Vol. 18. – P. 4511 – 4516.
67. Aihara M., Scardino P.T., Truong L.D. et al. The frequency of the apoptosis correlated with the prognosis of Gleason grade 3 adenocarcinoma of the prostata // Cancer. – 1995. – Vol. 75. – P. 522 – 529.
68. Apoptosis: The molecular basis of cell death / Ed. L. D. Tomey, F.D. Cope. – New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 1991.
69. Apoptosis / Ed. E. Mihich, R.T. Schimke. – New York: Plenum Press, 1994. – 272 p.
70. Arai T., Kino J. Role of apoptosis in modulation of the growth of human colorectal and villous adenomas // J. Path. – 1995. - Vol. 176. – P. 37 – 44.
71. Barry M.A., Behnke C.A., Eastman A. Activation of programmed cell death (apoptosis) by cisplatin, other anticancer drugs, toxins and hyperthermia // Biochem. Pharm. – 1990. – Vol. 40. – P. 2353 – 2362.
72. Battifora H. Assessment of antigen damage in immunogistochemistry. // Am. J. Clin. Pathol. – 1991. – Vol. 96. - P. 669 – 671.
73. Bettega D., Calzolari P., Belloni F. et al. Solar UV radiation: differential effectiveness of UVB components in causing cell death, micronucleus induction and delayed expression of heritable damage in human hybrid cells. // Int. J. Radiat. Biol., 2001. – Vol. 77. - P. 963 – 970.
74. Baxter G.D., Collins R.J., Harmon B.V., et al. Cell death by apoptosis in acute leukaemia // J. Path. – 1989. – Vol. 158. – P. 123 – 129.

75. Beaulaton J., Lockshin R.A. The relation of programmed cell death to development and reproduction: comparative studies and an attempt at classification // *Int. Rev. Cytol.* – 1982. – Vol. 79. – P. 215 – 235.
76. Borthers C.D., Adenbureg N.B.E., Cidlowski J. A. The role of DNA fragmentation in apoptosis // *Trends in Cell Biol.* – 1995. – Vol. 5. – P. 21 – 26.
77. Bowen I.D., Bowen S.M. Programmed cell death in tumours and tissues. – London: Chapman and Hall, 1990.
78. Bracey T.S., Miller J.C., Preece A., Paraskeva C. Radiation – induced apoptosis in human colorectal adenoma and carcinoma cell lines can occur in the absence of wild type p53 // *Oncogene.* – 1995. – Vol. – 10. – P. 2391 – 2396.
79. Bray S., Schorl C., Hall P.A. The challenge of p53: linking biochemistry, biology, and patient management. // *Stem Cells.* – 1998. – Vol. – P. 248 – 260.
80. Bristow R.G., Benchimol S., Hill R.P. The role p53 gene as a modifier of intrinsic radiosensitivity: implications for radiotherapy // *Radiotherapy, Oncology.* – 1996. – Vol. 40. – P. 197 – 223.
81. Buja L.M., Eigenbrodt M.L., Eigenbrodt E.H. Apoptosis and necrosis: basic types and mechanism of cell death // *Arch. Path. Lab. Med.* – 1993. – Vol. 117. – P. 1208 – 1214.
82. Buttke T.M., Sandstrem P.A. Oxidative stress as mediator of apoptosis // *Immunol. Today.* – 1994. – Vol. 15. – P. 7 – 10.
83. Carson D.A., Ribeiro J.M. Apoptosis and disease // *Lancet.* – 1993. – Vol. 341. – P. 1251 – 1254.
84. Cell ageing and cell death / Ed. J. Davies, D.C. Sigee. – Cambridge: Cambridge University Press, 1984. – P. 363.
85. Cell death in biology and pathology / Ed. I.D. Bowen, R.A. Locksin. – London, New York: Chapman and Hall, 1981. – P. 493.

86. Cochen J.J. Apoptosis // Immunol. Today. – 1993. – Vol. 14. – P. 126 – 130.
87. Cochen J.J., Ducke R.C., Fadok V.A., Sellins K.S. Apoptosis and programmed cell death in immunity // Ann. Rev. Immunol. – 1992. – Vol. 10. – P. 267 – 293.
88. Cochen M., Michael Jr., MacLean R.E. Should syndromes be defined phenotypically or molecularly? Resolution of the dilemma. // Amer.J.Med.Genet. – 1999. – Vol. 86. P. 203 – 204.
89. Cotter T.G., Glynn J. M., Echeverri F. The induction of apoptosis by chemotherapeutic agents occurs in all phases of the cell cycle // Anticancer Research. – 1992. – Vol. 12. – P. 773 – 779.
90. Debatin K.–M., Goldmann C.K., Waldmann T.A. et al. APO – 1 – induced apoptosis of leukaemia cells from patients with adult T – cell leukaemia // Blood. – 1993. – Vol. 81. – P. 2972 – 2977.
91. Dewey W.C., Ling C.C., Meyn R. Radiation – induced apoptosis: relevance to radiotherapy // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. – 1995. – Vol. 33. – P. 781 – 796.
92. Dive C., Evans C.F., Whetton A.D. Induction of apoptosis – new targets for cancer chemotherapy // Semin. Cancer Biol. – 1994. – Vol. 3. – P. 417 – 427.
93. El-Labban N.G., Osorio-Herrera E. Apoptotic bodies and abnormally dividing epithelial cells in squamous cell carcinoma // Histopathology. – 1986. – Vol. 10. – P. 921 – 931.
94. English H.F., Kyprianov N., Isaacs J.T. Relationship between DNA fragmentation and apoptosis in the programmed cell death in the rat prostate following castration // The Prostate. – 1989. – Vol. 15. – P. 233 – 250.
95. Farber J.L. The role of calcium in cell death // Life Sci. – 1982. – Vol. 29. – P. 1289 – 1295.

96. Ferguson D.J.P., Anderson T.J. Ultrastructural observations on cell death by apoptosis in the «resting» human breast // *Virch. Arch., Path. Anat.* – 1981. – A393, № 2. – P. 193 – 203.
97. Fesus L.P., Davies J.A., Piacentini M. Apoptosis: Molecular mechanisms in programmed cell death // *Europ. J. Cell Biol.* – 1991. – Vol. 56. – P. 170 – 177.
98. Franklin J.L., Johnson E.M. Elevated intracellular calcium blocks programmed neuronal death // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 1994. – Vol. 747. – P. 195 – 204/
99. Gaffney E.F. The extent of apoptosis in different of high grade prostatic carcinoma // *Histopathology.* – 1994. – Vol. 25. – P. 269 – 274.
100. Gaffney E.F., O'Neil A.J., Straunton M.J. In situ end-labelling light microscopical assessment and ultrastructure of apoptosis in lung carcinoma // *J. Clin. Pathol.* – 1995. – Vol. 48. – P. 1017 – 1021.
101. Gavrieli Y., Sherman Y., Ben-Sasson S.A. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation // *J. Cell. Biol.* – 1992. – Vol. 119. – P. 493 – 501.
102. Gerschenson L.E., Rotello R.J. Apoptosis – a different type of cell death // *FASEB J.* – 1992. – Vol. 6. – P. 2450 – 2455.
103. Griffith T.S., Ferguson T.A. The role of Fas L- induced apoptosis in immune privilege // *Immunol. Today.* – 1997. – Vol. 18. – P. 240 – 244.
104. Groux H., Torpier G., Monte D. et al. Activation – induced death by apoptosis in CD4+T cells from human immunodeficiency virus – infected asymptomatic individuals // *J. exp. Med.* – 1992. – Vol. 175. – P. – 331 – 340.
105. Hockenbery D.M. The bcl – 2 oncogen and apoptosis // *Sem. Immunol.* – 1992. – Vol. 4. – P. 413 – 420.
106. Horvitz R. Genetic control of programmed cell death in the nematode *Caenorhabditis elegans* // *Cancer Res.* – 1999. – Vol. 59, suppl. – P. 1701s – 1706s.

107. Kaneko H., Saito K., Hashimoto H. et al. Preferential elimination of CD28+ T cell in SLE and the relation with activation – induced apoptosis // Clin. exp. Immunol. – Vol. 106. – P. 218 – 229.
108. Kawabe Y., Ochi A. Programmed cell death and extrathymic reduction of V β 8+ CD4+ T cell in mice tolerant to st. Aureus enterotoxin B // Nature. – 1991. – Vol. 349. – P. 245 – 248.
109. Kerr J.F.R., Wyllie A.H., Curie A.R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics // Brit. J. Cancer. – 1972. – Vol. 26. – P. 239 – 257.
110. Krammer P.H. CD95 (APO – 1/FAS) – mediated apoptosis: live and let die // Adv. Immunol. – 1999. – Vol. 71. – P. 163 – 210.
111. Kornblau S.M. The role of apoptosis in the pathogenesis, prognosis, and therapy of hematological malignancies // Leukemia. – 1998. – Vol. 12, suppl. 1. – S. 41 – 46.
112. Kroemer G. The pharmacology of T cell apoptosis // Adv. Immunol. – 1995. – Vol. 58. – P. 211 – 296.
113. Kroemer G., Zamzani N., Susin S.A. Mitochondrial control of apoptosis // Immunol. Today. – 1997. – Vol. 18. – P. 44 – 51.
114. La Ferla F.M., Tinkle B.T., Bieberich C.J. et al. The Alzheimer's A β peptide induces neurodegeneration and apoptotic cell death in transgenic mice // Nature Genetics. – 1995. – Vol. 9. – P. 21 – 30.
115. Leist M., Gartner F., Jilg S., Wendel A. Activation of the 55 kDa TNF receptor is necessary and sufficient for TNF – induced liver failure, hepatocyte apoptosis, and nitrite release // J. Immunol. – 1995. – Vol. 154. – P. 1307 – 1316.
116. Levine A.J., Perry M.E., Chang A. et. al. The role of the p53 tumour – suppressor gene in tumorigenesis // Brit. J. Cancer. – 1994. – Vol. 69. – P. 409 – 416.

117. McCloskey T.W., Oyaizu N., Coronezi M., Pahwa S. Use of a flow cytometric assay to quantitate apoptosis in human lymphocytes // Clin. Immunol. Immunopath. – 1994. – Vol. 71. – P. 14 – 18.
118. McConkey D.J., Zhivotovsky B., Orrenius S. Apoptosis – molecular mechanism and biomedical implications // Molec. Aspects Med. – 1996. – Vol. 17. – P. 1 – 110.
119. McDonnell T.J., Deane N., Platt F.M. et al. Bcl -2 – immunoglobulin transgenic mice demonstrate extended B cell survival and follicular lymphoproliferation // Cell. – 1989. – Vol. 57. – P. 79 – 88.
120. Nagata S., Goldstein P. The Fas death factor // Science. – 1995. – Vol. 267. – P. 1449 – 1456.
121. Nakamura S., Sugita M., Matoda H. et. al. Insufficient expression of Fas antigen on helper T cell in Behcet's disease // Brit. J. Ophthalmology. – 1996. – Vol. 80. – P. 174 – 176.
122. Oltvai Z.N., Korsmeyer S.J. Checkpoints of dueling dimmers foil death wishes // 1994. – Vol. 79. – P. 189 – 192.
123. Onici Y., Kizaki H. Apoptosis and diseases // Hum. Cell. – 1994. – Vol. 7. – P. 27 – 32.
124. Puck J.M. X – linked immunodeficiencies // Adv. Hum. Genet. – 1993. – Vol. 21. – P. 107 – 135.
125. Pellegrini M., Strasser A. A portrait of the Bcl -2 protein family: life, death, and the whole picture // J. clin. Immunol. – 1999. – Vol. 19. – P. 365 – 377.
126. Rathmell J.C., Thompson C. B. The central effectors of cell death in the immune system // Ann. Rev. Immunol. – 1999. – Vol. 17. – P. 781 – 828.
127. Rowan S., Fischer D.E. Mechanism of apoptotic cell death // Leukemia. – 1997. – Vol. 11. – P. 457 – 465.

128. Russel J.H. Activation – induced apoptosis of nature T cell in the regulation of immune responses // *Curr. Opin. Immunol.* – 1995. – Vol. 7. – P. 382 – 388.
129. Saikumar P., Dong Z., Weinberg J.M., Venkatachalam M.A. Mechanism of cell death in hypoxia/reoxygenation injury // *Oncogene.* – 1998. – Vol. 17. – P. 3341 – 3349.
130. Salmon M., Pilling D., Borthwick N.J., Akbar A.N. Inhibition of T cell apoptosis – a mechanism for persistence in chronic inflammation // *Immunologist.* – 1997. – Vol. 5. – P. 87 – 92.
131. Saphier C.J., Yeh J. Altered apoptosis levels in hearts of human fetuses with Down syndrome // *Amer. J. Obstet. Gynecol.* – 1998. – Vol. 179. – P. 962 – 965.
132. Skalka M., Matyasova J., Cejkova M. DNA in chromatin of irradiated lymphoid tissues degrades in vivo into regular fragments // *FEBS Lett.* – 1976. – Vol. 72. – P. 271 – 274.
133. Searle J., Lawson T.A., Abbott P.J. et al. An electromicroscopic study of the mode of cell death induced by cancer – chemotherapeutic agents in population of proliferating normal and neoplastic cell // *J. Pathol.* – 1975. – Vol. 115. – P. 129 – 138.
134. Sprent J., Webb S.R. Intrathymic and extrathymic clonal deletion of T cell // *Curr. Opin. Immunol.* – 1995. – Vol. 7. – P. 196 – 205.
135. Steller H. Mechanism and genes of cellular suicide // *Science.* – 1995. – Vol. 267. – P. 1145 – 1149.
136. Strasser A., Harris A.W., Cory S. Bcl – 2 transgene inhibits T cell death and perturbs thymus self – censorship // *Cell.* – 1991. Vol. 67. – P. 889 – 899.
137. Takashi R., Tanaka M., Brannan C.I. et al. Generalized lymphoproliferation syndrome in mice caused by a point mutation in the Fas ligand // *Cell.* – 1994. – Vol. 76. – P. 969 – 976.

138. Thornberry N.A., Lazebnik Y. Caspases: enemies within // *Science*. – 1998. – Vol. 281. – P. 1312 – 1316.
139. Trulson J.A., Millhauser G.L. The effect of mutations on peptide models of the DNA binding helix of p53: evidence for a correlation between structure and tumorigenesis // *Biopolymers*. – 1999. – Vol. 49. – P. 215 – 224.
140. Utz X., Hottelet M., Schur P.H., Anderson P. Proteins phosphorylated during stress – induced apoptosis are common targets for autoantibody production in patients with SLE // *J. exp. Med.* – 1997. – Vol. 185. – P. 843 – 854.
141. Van Engeland M., Nieland L.J.W., Ramaekers F.C.S. et al. Annexin V – affinity assay: a review on an apoptosis detection system based on phosphatidylserine exposure // *Cytometry*. – 1998. – Vol. 31. – P. 1 – 9.
142. Von Freeden Jeffry U., Solvason N., Howard M., Murray R. The earliest T lineage – committed cells depend on IL-7 for Bcl-2 expression and normal cell cycle progression // *Immunity*. – 1997. – Vol. 7. – P. 147 – 154.
143. Watanabe – Fukunaga R., Brannan C.I., Copeland N.G. et al. Lymphoproliferation disorder in mice explained by defects in Fas antigen that mediates apoptosis // *Nature*. – 1992. – Vol. 356. – P. 314 – 317.
144. Waterhouse N.J., Green D.R. Mitochondria and apoptosis: HQ or high – security prison? // *J. Clin. Immunol.* – 1999. – Vol. 19. – P. 378 – 387.
145. Wedi B., Raap U., Lewrick H., Kapp A. Delayed eosinophil programmed cell death in vitro: a common feature of inhalant allergy and extrinsic and intrinsic atopic dermatitis // *J. Allergy clin. Immunol.* – 1997. – Vol. 100. – P. 536 – 543.
146. Winoto A. Cell death in the regulation of immune responses // *Curr. Opin. Immunol.* – 1997. – Vol. 9. – P. 365 – 370.
147. Wong B., Choi Y. Pathways leading to cell death in T cells // *Curr. Opin. Immunol.* – 1997. – Vol. 9. – P. 358 – 364.

148. Wyllie A.H. Glucocorticoid – induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. *Int. Rev // Cytol.* – 1980. – Vol. 68. – P. 251 – 306.
149. Zhyvotovskyy B., Wade D., Nicotera P., Orrenius S. Role of nuclease in apoptosis // *Int. Arch. Allergy Immunol.* – 1994. – Vol. 105. – P. 333 – 338.
150. Zhyvotovskyy B., Gahn A., Ankerkrone M. et al. Multiple proteases are involved in thymocyte apoptosis // *Exp. Cell Res.* – 1995. – Vol. 221. – P. 404 – 412.

В заключение автор считает необходимым выразить благодарность своему Учителю – Заслуженному деятелю науки России, академику РАЕН, доктору медицинских наук, профессору, заведующему кафедрой патологической физиологии Уральской государственной медицинской академии

АНАТОЛИЮ ПЕТРОВИЧУ ЯСТРЕБОВУ

за выбор темы диссертационного исследования, за постоянное внимание к работе и значительную консультативную помощь при ее выполнении.