



**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение

высшего образования

**«ЮЖНО-УРАЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ГУМАНИТАРНО-ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

(ФГБОУ ВО «ЮУрГГПУ»)

ЕСТЕСТВЕННО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

КАФЕДРА ОБЩЕЙ БИОЛОГИИ И ФИЗИОЛОГИИ

**ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА
СИСТЕМУ КРОВИ БИООБЪЕКТОВ**

**Выпускная квалификационная работа
по направлению 44.03.05 – «Педагогическое образование»**

Проверка на объем заимствований:

84,8 % авторского текста

Выполнила:

Работа рекомендована к защите

Студентка группы ОФ-501/066-5-1

«26» мая 2017 г.

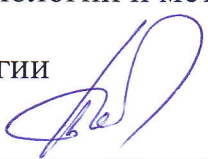
Цвирко Ольга Петровна 

зав. кафедрой биологии и методики

Научный руководитель:

обучения биологии

к.б.н., доцент Шилкова Т.В. 

Байгужин П.А. 

Челябинск

2017 год

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	4
Глава 1. Современные представления об ионизирующем излучении.....	6
1.1. Характеристика ионизирующего излучения как фактора поражения	6
1.1.1. Виды и источники ионизирующего излучения	6
1.2. Биологическое действие ионизирующего излучения	11
1.2.1. Влияние ионизации среды на систему крови биообъектов в современном аспекте	13
1.2.1.1. Характеристика гемо - цитопоза в процессе онтогенеза ..	13
1.2.2. Эффекты влияния ионизирующего излучения на органы гемо-иммунопоэза	16
1.2.3. Динамика показателей периферической крови при воздействии ионизирующего излучения	21
Глава 2. Организация и методы исследования.....	28
2.1. Организация исследования	28
2.2. Методы исследования.....	28
2.2.1. Метод экзотеста	28
2.2.2. Гистологические методы исследования	29
2.2.3. Статистическая обработка полученных данных	
.....	30

Глава 3. Исследование влияния ионизирующего излучения на систему кроветворения.....	33
3.1. Дифференцировочный потенциал колониеобразующих единиц селезёнки на разных сроках облучения	33
3.1.1 Подсчет монопотентных колоний КОЕ-с при облучении мышей ⁹⁰ Sr.....	33
3.1.2 Подсчет бипотентных колоний КОЕ-с при облучении мышей ⁹⁰ Sr.....	35
3.1.3 Подсчет полипотентных колоний КОЕ-с при облучении мышей ⁹⁰ Sr.....	36
4. Использование методического материала исследования при проведении учебного занятия	38
Выводы.....	40
Заключение	41
Список использованных источников	43
Приложения	48

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время, в условиях интенсивно развивающихся промышленного производства, энергетики, сельского хозяйства, окружающая природная среда подвергается загрязнению отходами этих производств. В частности, во многих отраслях промышленности широко используется ионизирующее излучение, которое может приводить к функциональным нарушениям в организме биообъектов.

Человек, как биологический вид, так же, как и другие живые организмы, подвергается вредному воздействию ионизирующего излучения. При этом в каждой системе организма человека наблюдаются изменения.

Система крови является одной из самых чувствительных к действию загрязняющих вредных факторов среды. Кровь, как высокофункциональная и морфодинамичная система, быстро реагирует на различные воздействия факторов внешней среды, в том числе на действие ионизирующего излучения. Это значит, что ее структурно-функциональные особенности могут служить индикатором состояния биообъектов, при воздействии ионизирующего излучения. Так как система крови является важнейшей системой для обеспечения функционирования всех систем организма, изменения ее структурных и функциональных показателей, вследствие негативных факторов среды могут привести к изменениям нормального функционирования других систем организма или к летальному исходу.

Работа является актуальной, так как результаты исследования являются значимыми для практики основ клеточных технологий в

соответствии с программой фундаментальных исследований РАН на 2013-2020 годы.

Объектом данной работы является система крови человека и животных.

Предмет работы: изменения в системе крови биообъектов при воздействии ионизирующего излучения.

Цель исследования: изучить эффекты влияния ионизирующего излучения на систему крови биообъектов

Задачи:

1. Изучить динамику показателей периферической крови биообъектов, подвергнутых воздействию ионизирующего излучения (по материалам литературных источников);

2. Выявить изменения в стволовом пуле системы гемопоэза при облучении лабораторных животных ^{90}Sr .

3. Разработать учебное занятие с использованием материалов исследования.

Методы:

1. анализ научной литературы по теме исследования;

2. метод анализа гистологических срезов;

3. методы статистической обработки данных

Глава 1. Современные представления об ионизирующем излучении

1.1. Характеристика ионизирующего излучения как фактора поражения

1.1.1. Виды и источники ионизирующего излучения

Все живое на нашей планете постоянно подвергается действию естественного радиационного фона, который образуют: космическая радиация, излучение радиоактивных элементов земной коры и излучение элементов, попадающих в организм живых объектов в процессах дыхания и пищеварения [6].

Ионизирующее излучение – это потоки частиц и квантов электромагнитного излучения, прохождение которых через вещество приводит к ионизации и возбуждению атомов или молекул этого вещества [7].

Ионизирующее излучение состоит из излучений нескольких видов: альфа-, бета- и гамма-излучение. Каждое из них различается по способности проникновения в ткани организма.

Альфа-излучение – это излучение тяжелых, положительно заряженных альфа частиц, которыми являются ядра атомов гелия. Альфа – частицы испускаются при распаде более сложных ядер, с относительно невысокой скоростью, в среднем 20 тыс. км/с. Так как альфа – частицы очень тяжелые, при контакте с веществом, они сталкиваются с молекулами этого вещества, начинают с ними взаимодействовать, теряя свою энергию и поэтому их проникающая способность невелика. Воздействие альфа-излучения на живой организм приводит к развитию повреждений на молекулярном и клеточном уровнях организации. Из всех видов ионизирующего излучения, альфа – излучение обладает наименьшей

проникающей способностью, но последствия облучения живых тканей данным видом, по сравнению с другими видами излучения наиболее тяжелые и значительные. Облучение может происходить при попадании радиоактивных элементов внутрь организма с воздухом, водой или пищей, а также через повреждения покровных тканей организма. При попадании в организм, данные элементы с током крови переносятся к тканям и органам, где накапливаются и оказывают на них энергетическое воздействие. Многие альфа - изотопы имеют продолжительный срок жизни, поэтому они обладают способностью вызывать в клетках серьезные изменения и приводить к изменению клеток, тканей, органов и к возникновению мутаций [1, 9].

Бета – излучение – это излучение, возникающее при превращении одного элемента в другой в ядре атома вещества с изменением свойств протонов и нейтронов. При бета – излучении, происходит превращение нейтрона в протон или протона в нейтрон. При таком преобразовании происходит излучение электрона или позитрона, в зависимости от вида превращения. Скорость излучаемых элементов равна примерно 300 000 км/с. Бета – излучение обладает более высокой проникающей способностью, чем альфа излучение, так как имеет более высокую скорость излучения и малые размеры излучаемых элементов, но при этом обладает меньшей способностью ионизировать вещество по сравнению с альфа – излучением. Бета – излучение может проникать сквозь одежду и частично сквозь живые ткани. При прохождении через более плотные структуры вещества, начинает с ним интенсивно взаимодействовать и теряет большую часть своей энергии. Бета – излучение, в зависимости от интенсивности, может наносить значительный вред живому организму на расстоянии нескольких десятков метров от источника радиации. Радиоактивный бета – изотоп, проникает внутрь живого организма, накапливается в тканях и органах, оказывая на них энергетическое

воздействие, приводит к модификациям в структуре тканей и со временем вызывает существенные их повреждения.

Некоторые химические элементы при распаде активно излучают бета-частицы (стронций, цезий, криптон).

Стронций является типичным щелочноземельным элементом. Основная его масса в земной коре находится в рассеянной форме [24].

Период полураспада стронция составляет 29 лет. При попадании стронция в организм человека, концентрация его в крови уже через 15 минут достигает значительной величины, а весь процесс завершается через 5 часов. Стронций при этом накапливается в основной части в костях. Облучению подвергаются: костная ткань, костный мозг и система крови человека. Вследствие этого развивается анемия. Многочисленными исследованиями установлено, что стронций может находиться в костях новорожденного, попадая туда через плаценту в течение всего периода беременности, а в последний месяц перед рождением его концентрация увеличивается в 8 раз.

Одним из важнейших факторов, обуславливающих характер облучения жителей Уральского региона, является инкорпорированный ^{90}Sr [42]. Период полувыведения ^{90}Sr из организма человека более 30 лет. Ускорение по выведению труднейшая задача, и в настоящее время не существует высокоэффективных средств для быстрого выведения данного радиоактивного элемента из организма [26].

Цезий-137 является одним из самых тяжелых радиоактивных веществ для организма человека. Период его полураспада 30 лет. Цезий-137 накапливается в растениях, попадает в пищевые продукты, затем после употребления продукта быстро всасывается в желудочно-кишечном тракте человека. Около 80% данного вещества откладывается в мышечных тканях. Период полувыведения цезия-137 из организма человека: у взрослых от 2 до 6,5 месяцев, у детей от 1,5 до 2 месяцев, а у новорождённых до 2 недель [31].

Гамма – излучение – это энергетическое электромагнитное излучение в виде фотонов. Гамма – излучение проявляется в виде излучаемой электромагнитной энергии в виде фотонов, высвобождающихся при трансформации энергетического состояния ядра атома. Гамма – лучи испускаются ядром со скоростью света. Воздействуя друг на друга, нейтроны и протоны в ядре приходят к состоянию, когда силы взаимодействия уравниваются, а излишки энергии испускаются атомом в виде гамма излучения.

Гамма – излучение обладает высокой проникающей способностью. Проникает сквозь одежду, живые ткани, немного сложнее через плотные структуры вещества. Основная опасность гамма излучения - это его способность преодолевать большие расстояния и оказывать воздействие на живые организмы за несколько сотен метров от источника гамма излучения [1].

Источник ионизирующего излучения – это объект, который включает в себя радиоактивное вещество или техническое устройство, которое формирует или способно формировать ионизирующее излучение [11].

Все источники ионизирующего излучения, в зависимости от происхождения, подразделяются на: естественные (космические лучи, гамма-излучение от земных пород, продукты распада радона и тория в воздухе и другие естественные радионуклиды, присутствующие в окружающей среде) и искусственные (рентгеновское излучение, используемое в медицине, радиоактивные осадки при использовании ядерного оружия, выбросы радионуклидов с отходами атомной станции в окружающую среду, а также гамма-излучение, применяемое в промышленности) [33].

Основную часть облучения население Земли получает от естественных источников радиации. В среднем они определяют 80% годовой эффективной дозы, получаемой людьми, в основном вследствие

внутреннего облучения. Уровни естественного излучения в среднем составляют около 2,4 мЗв в год.

Искусственные источники радиации связаны с повышающимся использованием ядерных технологий в медицине, промышленности, энергетике. Индивидуальные дозы, получаемые населением от техногенных источников различны. Основной вклад в дозу излучения от техногенных источников вносят медицинские процедуры и методы лечения, связанные с использованием радиации [5].

Ионизирующее излучение в медицине может применяться в диагностических целях. Наиболее известным способом использования излучения является принцип рентгенографии, основанный на способности рентгеновских лучей проникать сквозь ткани организма. Результат регистрируется на фотопленке или мониторе компьютера.

Для диагностики ряда медицинских нарушений применяют метод введения радиоактивных изотопов в организм человека. Благодаря высокой восприимчивости счетчиков, определяющих излучение, в организм человека вводят небольшое количество радиоактивных веществ, что не нарушает оптимального равновесия веществ.

Годовая эффективная эквивалентная доза от данных видов исследований, по мнению ученых, составляет 20 мкЗв на человека.

В настоящее время ионизирующие излучения используют также для борьбы со злокачественными опухолями.

Средняя эффективная эквивалентная доза, получаемая от всех источников облучения в медицине около 1 мЗв на каждого жителя, то есть примерно половина средней дозы от естественных источников [2, 14].

Попадание радиоактивных веществ в организм человека обусловлено радиоактивным загрязнением биосферы из-за производства и испытаний ядерного оружия, атомной энергетике, активного применения ионизирующих излучений. Вследствие этого средняя доза облучения человека удваивается, и близится к величине, которая является опасной

для человека. Поэтому в настоящее время недопустимы дополнительные облучения людей, поскольку они могут приумножить риски возникновения заболеваний [31].

1.2. Биологическое действие ионизирующего излучения

При поглощении энергии ионизирующего излучения в организме млекопитающих отмечаются разнообразные морфологические и физиологические нарушения, приводящие к развитию лучевой болезни, протекающей в двух формах: острой или хронической.

В зависимости от поглощенной дозы выделяют следующие степени острой лучевой болезни организмов (таб.1):

Таблица 1

Степени острой лучевой болезни [8]

Степени острой лучевой болезни	Доза, Дж/ кг
легкая (первая) степень	от 1 до 2,5
средняя (вторая)	2,5—4
тяжелая (третья)	4—10
крайне тяжелая (четвертая)	от 10 и выше

Период формирования острой лучевой болезни состоит из четырех фаз: фаза первичной реакции; фаза кажущегося клинического благополучия (латентная); фаза выраженных клинических проявлений (разгар болезни); фаза непосредственного восстановления.

Фаза первичной реакции при высоких дозах (10 Дж/кг) сопровождается формированием шокоподобного состояния с падением артериального давления, кратковременной потерей сознания, модификацией картины крови. В первые сутки в периферической крови обнаруживается нейтрофильный лейкоцитоз со сдвигом влево, абсолютная и относительная лимфопения; в костном мозге происходит снижение

общего числа миелокариоцитов, уменьшение митотического числа и общего числа молодых форм клеток [8,21].

Фаза кажущегося клинического благополучия характеризуется отсутствием выраженных клинических симптомов. Продолжительность этой фазы находится в обратной зависимости от величины поглощенной дозы, а при дозе свыше 10 кДж/кг отсутствует. В этот период формируется поражение кроветворных органов, обнаруживается лимфопения, начальное снижение в крови нейтрофилов [21].

На фазе выраженных клинических изменений проявляется весь симптомокомплекс лучевой болезни. Проявляется геморрагический синдром. При этом происходят многочисленные кровоизлияния в органы желудочно-кишечного тракта, сердце, головной мозг, легкие, в отдельные эндокринные железы. Кровоточивость обусловлена тромбоцитопенией.

В зависимости от величины поглощенной дозы радиации и индивидуальной реакции организма на облучение наступает либо терминальная фаза, либо фаза непосредственного восстановления.

Хроническая лучевая болезнь происходит при продолжительном облучении организма в малых дозах. Выделяют два варианта синдромов: обусловленный общим облучением и обусловленный местным облучением.

Синдром, обусловленный общим облучением, может быть следствием длительного общего, относительно равномерного или неравномерного облучения.

Синдром, обусловленный местным облучением хронической лучевой болезни, может быть вызван облучением отдельных участков тела при воздействии радиоактивных изотопов с избирательным распределением по тканям и органам, а также при местном внешнем облучении. При этом условно выделяют три стадии заболевания: легкая, средняя, тяжелая [21].

Клинические проявления хронической лучевой болезни растянуты во времени, характеризуются фазностью течения. Хроническая лучевая

болезнь развивается при суммарных дозах 0,7-1,0 Дж/кг и мощности излучения 0,001-0,005 Дж/кг за одни сутки [8].

Таким образом, человек ежедневно подвергается воздействию ионизирующего излучения из окружающих его источников. Любой вид и любая доза ионизирующего излучения могут вызвать нарушения нормального функционирования органов, систем и организма в целом.

1.2.1. Влияние ионизации среды на систему крови биообъектов в современном аспекте

1.2.1.1. Характеристика гемо - цитопоэза в процессе онтогенеза

Выделяют два вида кроветворения (по наличию гемопоэтических клеток):

1. Миелоидное кроветворение (эритропоэз, гранулоцитопоэз, тромбоцитопоэз, моноцитопоэз).
2. Н-лимфоидное кроветворение (Т-лимфоцитопоэз, В-лимфоцитопоэз) [37].

Различают эмбриональный и постэмбриональный периоды гемопоэза.

Эмбриональный период гемопоэза представляет собой гистогенез крови. Постэмбриональный гемопоэз представляет собой естественный процесс физиологической регенерации крови как ткани. Эмбриональный период гемопоэза происходит поэтапно, сменяя различные органы кроветворения. Соответственно эмбриональный гемопоэз подразделяется на три стадии: желточный, гепато-тимусо-лиенальный, медулло-тимусо-лимфоидный [3].

Желточный этап осуществляется в мезенхиме желточного мешка, начиная с второй-третьей недели эмбриогенеза, и завершается к концу третьего месяца. Первоначально в мезенхиме желточного мешка,

вследствие пролиферации мезенхимальных клеток, формируются очаговые скопления отростчатых мезенхимальных клеток. Затем происходит дифференцировка этих клеток в двух направлениях: периферические клетки островка становятся более плоскими, объединяются между собой и формируют эндотелиальную выстилку кровеносного сосуда; центральные клетки округляются и преобразуются в стволовые клетки.

Из этих клеток интраваскулярно, начинается процесс образования первичных эритроцитов (эритробластов, мегалобластов). При этом доля стволовых клеток развивается экстраваскулярно и из них начинают формироваться зернистые лейкоциты, которые вслед за тем мигрируют в сосуды.

На третьей неделе начинают формироваться сосуды в мезенхиме тела зародыша, в виде пустых щелевидных образований. Затем сосуды желточного мешка соединяются с сосудами тела зародыша. По этим сосудам стволовые клетки мигрируют в тело зародыша и заселяют закладки будущих кроветворных органов, в которых затем происходит кроветворение.

Гепато-тимусо-лиенальный этап гемопоэза осуществляется сначала в печени, позже в тимусе, а затем и в селезенке. В печени происходит в основном миелоидное кроветворение, начиная с пятой недели и до конца пятого месяца, а затем постепенно снижается и к концу эмбриогенеза полностью прекращается. Тимус закладывается на седьмой-восьмой неделе, а позже в нем начинается Т-лимфоцитопоэз, который длится до конца эмбриогенеза, затем в постнатальном периоде до его инволюции (в 25-30 лет). Процесс формирования Т-лимфоцитов в этот момент носит название антиген-независимая дифференцировка [37].

Селезенка закладывается на четвертой неделе, с седьмой-восьмой недели она заселяется стволовыми клетками и в ней начинается универсальное кроветворение, то есть и миело- и лимфопоэз. Особенно активно кроветворение в селезенке проходит с пятого по седьмой месяцы

внутриутробного развития плода, затем миелоидное кроветворение постепенно угнетается и к концу эмбриогенеза оно полностью завершается. Лимфоидное кроветворение сохраняется в селезенке до конца эмбриогенеза, а затем продолжается в постэмбриональном периоде. Следовательно, кроветворение на втором этапе в вышеуказанных органах реализуется почти одновременно, только экстравакулярно, но его интенсивность и качественный состав в разных органах различны. На медулло-тимусо-лимфоидном этапе кроветворения закладка красного костного мозга начинается со второго месяца, кроветворение в нем возникает с четвертого месяца, а с шестого месяца он является главным органом миелоидного и частично лимфоидного кроветворения, то есть является универсальным кроветворным органом. В то же время в тимусе, в селезенке и в лимфатических узлах происходит лимфоидное кроветворение. Если красный костный мозг не в состоянии удовлетворить возросшую потребность в форменных элементах крови, то гемопоэтическая активность печени, селезенки может активизироваться [3, 37].

Постэмбриональный период кроветворения - осуществляется в красном костном мозге и во всех лимфоидных органах. Сущность процесса кроветворения заключается в пролиферации и поэтапной дифференцировке стволовых клеток в форменные элементы крови.

Согласно унитарной теории процесс кроветворения начинается со стволовой кроветворной клетки. Она самоподдерживает популяцию на протяжении всей жизни, полипотентна, способна дифференцироваться во все клетки крови. По схеме гемопоэза выделяют 6 классов дифференцировки. К первому классу относятся стволовые клетки; ко второму - полустволовые клетки, способность к дифференцировке у которых сужена; к третьему - унипотентные клетки, каждая из которых дает развитие только одному типу клеток крови; к четвертому - бласты

(проэритробласт, 3 миелобласта, монобласт, мегакариобласт, Т- и В-лимфобласты). К пятому – созревающие, или дифференцирующиеся, морфологически хорошо различимые клетки; к шестому - зрелые клетки крови. Дифференцировка в клетках 5-го класса при эритропоэзе заключается в том, что сначала в их цитоплазме повышается количество РНК и рибосом (базофильный эритробласт), затем синтезируется и накапливается все больше гемоглобина (полихроматофильный эритробласт), затем рибосомы пропадают, а гемоглобин остаётся (оксифильный эритробласт). Потом снижаются размеры и выталкивается ядро, но остаются остатки органелл (ретикулоцит) и, наконец, исчезают органеллы, и клетка становится эритроцитом [37].

При гранулоцитопоэзе, завершающимся формированием зрелых нейтрофильных, базофильных и эозинофильных лейкоцитов, развитие идет по схеме: миелобласт – промиелоцит – миелоцит – метамиелоцит – палочкоядерный и сегментоядерный лейкоцит. По мере дифференцировки в клетках накапливается характерная зернистость и трансформируется форма ядра от округлой (промиелоцит), затем бобовидной (метамиелоцит) до палочко- и сегментоядерной в зрелых клетках; исчезает способность делиться (начиная с метамиелоцита); снижаются размеры.

Тромбоцитопоэз происходит по схеме: мегакариобласт – промегакариоцит — мегакариоцит – тромбоцит. При этом сначала резко увеличиваются размеры клетки (образуются многоядерные симпласты) от которых затем отщепляются участки цитоплазмы - тромбоциты. Моноцитопоэз протекает по схеме: монобласт - промоноцит - моноцит.

Лимфоцитопоэз протекает по схеме лимфобласт – пролимфоцит – малый лимфоцит. Таким образом, только зрелые форменные элементы попадают из красного костного мозга в кровь [3, 16, 37].

1.2.2. Эффекты влияния ионизирующего излучения на органы гемо- иммунопоэза

В настоящее время значительное количество научно-исследовательских работ направлено на исследование изменений в системе крови под влиянием ионизирующего излучения [4, 8, 15, 21, 28, 41].

Главным звеном патогенеза радиационного поражения критических систем является комплекс структурно – метаболических нарушений в клетке, приводящих к нарушению ее функций или гибели. В этом отношении кроветворные органы и клетки периферической крови являются наиболее радиочувствительными. Воздействие ионизирующих излучений инициирует в организме комплекс патологических реакций, результатом которого может стать нарушение функций органов гемопоэза [30].

Степень изменения в органах гемопоэза и в периферической крови находится в прямой зависимости от дозы радиации. Малые стимулирующие дозы облучения приводят к усилению костно – мозгового кроветворения. При этом увеличивается число форменных элементов крови (эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов) и количество гемоглобина. Усиление функции костного мозга не изменяет гематологический профиль. Сдвиги в системе крови начинают проявляться при воздействии сублетальными дозами облучения, и по мере их возрастания усиливается степень нарушений [30].

Шибкова Д. З. и Ефимова Н. В. (2006) в исследовании влияния ионизирующего излучения на стволовые кроветворные клетки установили, что при неравномерном β -облучении со снижающейся мощностью дозы в селезенке облученных животных выявлены процессы накопления мегакариоцитарных предшественников и усиления их общей клеточной продукции [41, 42].

Киришин В. А. и соавторы (2002) в своих исследованиях отмечают, что при общем внешнем облучении дозой выше 100 Р у сельскохозяйственных животных наступает изменение костно-мозгового кроветворения. В этом случае развивается лучевая болезнь — подавляется гемопоэз, уменьшается число клеток в периферической крови, снижается общее количество клеток в 1 мм³ костно-мозгового пунктата. Регистрируются изменения и в самих клетках: лизис, пикноз и гиперсегментоз ядер, вакуолизация ядра и протоплазмы, появление гигантских гиперсегментированных гранулоцитов и других форм [18].

Куница В. Н. (2015) в исследовании действия ионизирующего излучения на лимфоидную ткань кишечника крысы установил, что облучение приводит к значительным структурным изменениям лимфоидных образований слепой кишки. Происходит уменьшение плотности расположения клеток лимфоидной ткани в собственной пластинке слизистой оболочки, исчезают лимфоидные узелки. Повышается содержание деструктивно-измененных клеток, уменьшается количество малых лимфоцитов, подавляется пролиферация, снижаются процессы созревания и дифференцировки лимфоцитов в антителпродуцирующие плазматические клетки [20]. При этом фаза разгара лучевого повреждения характеризуется сильной депрессией лимфоцитов, менее выраженным угнетением гранулоцитов и малым изменением эритроцитов. Напротив, фаза восстановления проявляется умеренной гранулоцитопенией, абсолютным или относительным лимфоцитозом и анемией различной степени [22].

Для оценки степени тяжести нарушений костно-мозгового кроветворения Верхолетов В.А. (1981) предложил использовать показатель состояния костного мозга — индекс нейтрофильный.

Индекс нейтрофильный представляет собой количественное соотношение сегментно- и палочкоядерных нейтрофилов в мазке костного мозга. Он характеризует интенсивность регенерации клеток. При этом

относительное содержание сегментоядерных форм увеличивается, в результате возрастает соотношение сегментно- и палочкоядерных нейтрофилов. По степени этого увеличения можно судить о глубине сдвигов в миелопоэзе и в костно-мозговом кроветворении в целом, которое определяется дозой облучения и функциональным состоянием кроветворной системы [24, 25].

Сравнительно небольшие дозы в 2 - 10 Гр вызывают гибель клеток костного мозга непосредственно в момент облучения или в митозах, при этом клетки теряют способность к делению. Генные перестройки в них в виде генных мутаций и хромосомных aberrаций часто не мешают делению клетки. Элиминация мутантных клеток происходит медленнее, чем образование новых клеток, поэтому всегда имеется риск образования опухолей, особенно лейкозов [23].

В костном мозге обнаруживаются следующие изменения: аплазия, фиброз, жировое его перерождение с островками кроветворной ткани, состоящей из зрелых гранулоцитов, через 6 месяцев после облучения обнаруживаются скопления ретикулярных клеток. Гипоплазия и аплазия костного мозга наблюдается в течение первых суток после облучения, что связано с массовой гибелью клеток. Нарушения выявляются сначала в гранулоцитопоэзе, затем в тромбоцитопоэзе, значительно позднее - в эритропоэзе [37].

Многими исследователями отмечается обеднение костного мозга ранними предшественниками кроветворения, так как эти клетки являются малодифференцированными, интенсивно делящимися и радиочувствительными [29, 41, 42]. Поздние предшественники клеток периферической крови менее радиочувствительные, кроме предшественников лейкоцитов и эритроцитов. Из-за резкого сокращения числа предшественников продукция зрелых форм в костном мозге временно снижается. Падение числа форменных элементов крови сопровождается включением компенсаторных механизмов, выражающихся

в ускорении созревания клеток в костном мозге, уменьшении их жизнеспособности [15].

Поровский Я. В. (2009) исследовал костный мозг однократно в конце 11, 14, 15, 22 лет хронического воздействия ионизирующего излучения в суммарных дозах 24,25; 103,96; 111,84; 74,09 мЗв у двух мужчин и двух женщин — работников ядерного реактора.

При анализе соотношения в костном мозге численности клеток гранулоцитарного ряда с различной степенью зрелости при увеличении суммарной дозы и экспозиции ионизирующего излучения наблюдались изменения в количестве клеток пролиферирующего и не пролиферирующего пулов, выходящие за пределы нормы.

По мере увеличения суммарной дозы и экспозиции ионизирующего излучения отмечалось снижение количества миелобластов, промиелоцитов, нейтрофильных миелоцитов и метамиелоцитов, повышение количества сегментоядерных нейтрофилов, палочкоядерных эозинофилов и недифференцированных бластов [32].

В настоящее время опытным путем установлено, что развивающиеся изменения в стволовой системе облученных являются определяющими для исхода лучевого поражения.

Савина Н.П. и соавторы(1996) проводили исследования поражения органов кроветворения у людей в связи с аварией на Чернобыльской АЭС. Установлено, что у ликвидаторов аварии и у лиц, проживающих на загрязненной территории наблюдаются морфофункциональные нарушения органов кроветворения. Обследование пострадавших от острой лучевой болезни (3,7-13,7 Гр) в результате аварии на Чернобыльской АЭС показало, что прослеженная динамика морфологических изменений укладывается в рамки 3-х периодов: апластического состояния, начальных признаков восстановления и активного восстановления с сохранностью восстановительных потенций в зависимости от дозных нагрузок, тяжести ожоговых поражений [34].

Ефимовой Н. В. (2007) было исследовано состояние стволового пула (КОЕс) костного мозга, селезенки и периферической крови мышей линии СВА в ранние (1-30-е сут) и отдаленные (180-360-е сут) сроки после однократного введения ^{90}Sr в концентрации 29,6 кБк/г.

Полученные результаты свидетельствовали о том, что выживание организма в условиях воздействия высоких доз ^{90}Sr обеспечивается гетерохронным включением компенсаторных механизмов в стволовом кроветворном пуле: увеличением пролиферативного потенциала КОЕс, их репопуляцией, изменением спектра дифференцировочного потенциала и активацией кроветворения в селезенке [14].

Таким образом, под действием ионизирующего излучения могут возникать нарушения кроветворения на различных этапах клеточного обновления. Может быть временное нарушение деления клеток, гибель малодифференцированных клеток, нарушение продолжительности созревания, жизни большинства зрелых функционирующих клеток. Поражения кроветворных органов и органов иммунопоза могут привести к тяжелым последствиям для всего организма в целом: от заболеваний до летального исхода.

1.2.3. Динамика показателей периферической крови биообъектов при воздействии ионизирующего излучения

Ионизирующее излучение вызывает нарушения не только кроветворных органов, но и изменение показателей периферической крови.

При воздействии ионизирующего излучения в периферической крови человека и животных быстро развиваются количественные и качественные изменения.

В ряде исследований установлено, что при воздействии ионизирующего излучения количественный состав лейкоцитов изменяется по фазам:

1. Первая фаза (в первые минуты, часы после облучения) наблюдается кратковременное незначительное уменьшение числа лейкоцитов.

2. Вторая фаза (через 6-8 часов после облучения) происходит увеличение числа лейкоцитов на 10-15 % от исходного уровня.

3. Третья фаза (к концу суток) - количество лейкоцитов резко снижается до исходного уровня и удерживается на нем.

Продолжительность возрастания числа лейкоцитов зависит от дозы облучения. При сублетальных дозах – увеличение до 3-5 суток, а при больших — не происходит увеличение. Наиболее выраженное снижение числа лейкоцитов при облучении взрослых организмов полумлетальными дозами отмечается на 2-3 неделе после воздействия. В данный период число лейкоцитов снижается в 3 раза и более по отношению к уровню контроля. Восстановительный период, в течение которого число лейкоцитов достигает исходной величины, составляет 2-3 месяца.

Гибель лейкоцитов в первые 1-2 часа происходит вследствие вегетативно-сосудистых реакций перераспределения крови, так как гибель клеток в данный период незначительная и это не может остро влиять на общее число лейкоцитов. В последующие сроки изменения числа лейкоцитов, связаны с нарушениями костномозгового кроветворения. Степень и фазность изменения общего числа лейкоцитов при воздействии ионизирующего излучения находятся в прямой зависимости от дозы радиации. При больших дозах первые две фазы проявляются в слабой степени, а фаза угнетения (уменьшения) начинается раньше и выражена сильнее. У молодых организмов изменение содержания лейкоцитов наступает раньше и от меньших доз радиации, чем у взрослых, а

восстановление показателей происходит быстрее и относительно полнее [23].

Сафоновой В. Ю. (2004) были проведены опыты на крысах по изучению длительного влияния низких уровней радиации на гематологические показатели животных. Для моделирования воздействия радиационных факторов использовали гамма-облучение изотопных источников цезия-137.

Животных облучали дозой при мощности 0,39 мГр/час в течение 30, 60, 90, 120 дней. При этом суммарная доза составила 0,28; 0,56; 0,84; и 1, 20 Гр. Изучив показатели крови крыс, было выявлено, что в периферической крови общее количество лейкоцитов имеет тенденцию к снижению. Через 30 дней облучения количество лейкоцитов находилось в пределах $5,82 \pm 0,35 \times 10^9/\text{л}$, что составляет 68,4 % по отношению к биологическому контролю. Спустя два месяца этот показатель находился в пределах $4,20 \pm 0,17 \times 10^9/\text{л}$, что ниже контроля на 50,6 %. По истечении 120 дней динамика общего роста лейкоцитов сохранялась, и их количество достигало $6,07 \pm 0,20 \times 10^9/\text{л}$ при $8,50 \pm 0,34 \times 10^9/\text{л}$ в биологическом контроле [35].

Наиболее радиочувствительной клеткой крови является лимфоцит, поэтому изменения количества лимфоцитов — объективный показатель степени лучевого поражения организма. Продолжительность жизни лимфоцитов в крови здоровых животных может быть от нескольких часов до 1-2 суток

При воздействии радиации уменьшается в первую очередь содержание лимфоцитов по сравнению с другими видами лейкоцитов, причем фазности в первоначальных изменениях не наблюдается. Уменьшение содержания лимфоцитов отмечается уже при облучении дозой в 1 Гр. По мере увеличения дозы лимфопенический эффект усиливается. При облучении дозой ЛД_{50/30} наибольшее снижение количества лимфоцитов наблюдается через 1-3 суток. В этот период

отмечаются и морфологические изменения лимфоцитарных клеток: нарушается соотношение малых, средних и больших форм, начинают преобладать малые лимфоциты, появляются двухъядерные клетки, зернистость и вакуолизация ядра и протоплазмы, изменяется активность ферментов.

Изменения лимфоцитов в крови обычно соответствуют изменениям их в селезенке, лимфоузлах, лимфофолликулах стенки кишечника, зубной железе и других органах [21].

В опытах Загуменновой О. Н. (2012) по изучению влияния ионизирующего излучения на лимфоциты при облучении лимфоцитов в дозе 2 Гр в стадии интерфазы задержки продвижения клеток по клеточному циклу практически не наблюдалось. Клетки, облученные незадолго до репликативного синтеза, отмечались длительной задержкой деления. При тотальном облучении организма лимфоциты оказались немного менее устойчивыми (если считать, что 1Гр=100 Р): уже при 100 Р наблюдалась гибель клеток лимфоидной ткани. В дозах, меньших 100 Р наблюдалось увеличение количества лимфоцитов в костном мозге, при этом их количество снижалось в селезенке и зубной железе. Снижение числа лимфоцитов отмечалось в костном мозге при лучевой болезни, после интенсивной лучевой терапии. Все вышесказанное, говорит об усилении их деления в дозах до 100 Р и резком снижении митотической активности при более высоких дозах [15].

У многих млекопитающих нейтрофилы составляют наибольшую часть лейкоцитов (до 60-70 %). У животных после лучевого воздействия в изменении количества нейтрофильных лейкоцитов выделяют 5 фаз:

I — фаза первоначального нейтрофилеза, наступающая в результате быстрого выхода клеток из костного мозга. Степень выраженности и продолжительности ее зависит от дозы облучения, вида животных;

II — фаза первого опустошения. Число нейтрофилов в этот период уменьшается до 10-20 % от исходного уровня, в тяжелых случаях — еще

больше, продолжаясь до гибели. Появление этой фазы объясняется прекращением выхода нейтрофилов из костного мозга и гибелью клеток вне сосудов;

III — фаза abortивного подъема, максимум ее отмечается на 7-17-й день. В данный период количество нейтрофилов может достигать 70-80 % исходного значения. К этому времени возобновляется пролиферация выживших костномозговых клеток, большая часть которых была повреждена и стала неспособной к многократному полноценному делению. Прекращается митоз клеток, что приводит ко второму опустошению;

IV — фаза второго опустошения. Обычно оно бывает выражено сильнее и более продолжительно, чем во второй фазе;

V — фаза восстановления, развивается медленно и характеризуется началом репопуляции костного мозга.

Одновременно с фазными изменениями общего количества нейтрофилов изменяется и соотношение форм клеток. В фазы подъема увеличивается процент молодых форм — юных и палочкоядерных, то есть отмечается сдвиг влево. В периоды опустошения преобладают сегментоядерные формы — сдвиг ядра лейкоцитарной формулы вправо. В эти периоды в крови появляются патологические формы — клетки с гиперсегментированными, пикнотичными или лизирующими ядрами, с вакуолями в ядре и цитоплазме, наступают биохимические изменения.

Сроки восстановительных процессов нейтрофильных (псевдоэозинофильных) клеток по сравнению с лимфоцитами растянуты и могут проходить со значительными колебаниями.

При действии сублетальных доз больших сдвигов в содержании эозинофилов в крови не установлено. Облучение в полублетальных дозах приводит к снижению их количества, за которым следует медленное восстановление. В хронических случаях радиационного воздействия часто развивается эозинофилез.

Базофилы характеризуются высокой радиочувствительностью. При облучении дозами 1 Гр и выше в течение первых суток резко падает их количество; на высоте лучевой реакции они из крови исчезают. Относительно других форменных элементов крови восстановительный период количества этих клеток затягивается.

При облучении содержание моноцитов изменяется значительно меньше, чем других групп лейкоцитов. При облучении в полублетальных дозах количество моноцитов уменьшается на третьи сутки с максимумом депрессии к концу недели, после чего содержание их восстанавливается [14, 30, 38].

При облучении животных в сублетальных дозах количество эритроцитов в крови практически не изменяется, не происходит также существенного снижения уровня гемоглобина. Однако при исследовании ретикулоцитов выявляются изменения возрастного состава эритроцитарных клеток. Так, ретикулоцитов у облученных животных на вторые-третьи сутки становится меньше на 10-20 %, а с пятых суток содержание их увеличивается до нормы или выше; периодические колебания удерживаются на таком уровне до выздоровления. Повышение количества ретикулоцитов в крови облученного организма свидетельствует об активации эритропоэза, сокращении продолжительности жизни эритроцитов и нарушении их функционально-морфологических структур. Ускорение эритропоэза при облучении сублетальными дозами обеспечивает достаточно высокую компенсацию и восстановление картины красной крови. В случае облучения летальными дозами снижение содержания эритроцитов в крови ускоряется вследствие кровоизлияний, в результате чего возникает так называемая постгеморрагическая анемия [24].

Изменения в картине красной крови наиболее характерны при воздействии полублетальными дозами. В течение первых трех суток после облучения наблюдается увеличение количества клеток и содержания

гемоглобина в 1 мм^3 крови на 10-15 %, затем следует период развития анемии с максимумом проявления ее на 15-20 сутки, когда содержание эритроцитов и гемоглобина снижается в 2-3 раза и более против нормы. Одновременно с количественными сдвигами наблюдаются морфологические и биохимические нарушения в эритроцитах. В период анемии появляются пойкилоциты, клетки с пикнотичными ядрами, двухъядерные, с наличием вакуолизации ядра, цитоплазмы и токсической зернистости в ней. Увеличиваются средние размеры эритроцитов; в крови появляются в некоторых случаях эритро- и нормобласты. Цветной показатель или остается без изменений, или несколько увеличивается. Восстанавливается картина крови у животных медленно, в течение 2-5 месяцев [18].

Г. Д. Байсоголов (2000), в ходе исследования влияния ионизирующего излучения на эритроциты, отмечает увеличение СОЭ. Предполагается, что это может быть следствием снижения числа эритроцитов, снижения отрицательного заряда мембраны в сторону более положительного. При снижении количества ретикулоцитов СОЭ снижается, т.к. ретикулоцит имеет более отрицательный поверхностный заряд, чем эритроцит. По-видимому, в радиационном увеличении СОЭ основную роль играет снижение числа эритроцитов и изменение заряда их мембран [4].

По радиочувствительности тромбоциты занимают среднее положение между лейкоцитами и эритроцитами. При облучении среднелетальными дозами количество тромбоцитов до 5 дня удерживается относительно на одном уровне, а затем резко падает, опускаясь до минимума на 9-10 сутки. В эти сроки у животных, больных острой лучевой болезнью, появляются геморрагии, а при больших дозах развивается геморрагический синдром.

В облученном организме тромбоциты помимо количественных сдвигов претерпевают и качественные изменения, которые приводят к

нарушениям процессов поглощения протромбина и продолжительности свертывания крови, рекальцификации плазмы и другим дефектам.

Восстановление числа тромбоцитов наблюдается на 35-45 день после облучения [28].

Таким образом, под действием ионизирующего излучения в системе крови могут возникнуть количественные и качественные изменения, приводящие к нарушению нормального функционирования органов, систем органов и целого организма.

Глава 2. Организация и методы исследования

2.1. Организация исследования

Материалы исследования были собраны и предоставлены доктором биологических наук, профессором Ефимовой Н. В.

Работа выполнялась на базе УНПЦ РМ (г. Челябинска) и лаборатории «Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным условиям среды» (ЮУрГГПУ) при участии Шибковой Д. З. (доктор биологических наук, профессор). Было проведено две серии опытов, в результате которых получены данные по двум экспериментальным группам.

В эксперименте использовались мыши СВА в исходном возрасте 3 месяца, массой 22-24 грамма, выращенные в виварии УНПЦ РМ г. Челябинска.

У мышей линии СВА наибольшее количество белка в сыворотке крови $66,9 \pm 2$ г/л и они являются более резистентными по отношению к действию проникающей радиации [26].

В экспериментах мышей разделяли на доноров кроветворных клеток и реципиентов, служащих «культуральной средой» для донорских клеток. В качестве доноров использовали самцов линии СВА, а в качестве реципиентов самок этой же линии.

2.2. Методы исследования

2.2.1. Метод экзотеста

Процедура проведения метода экзотеста проводилась в точном соответствии с модификацией, предложенной А. Е. Переверзевым [29].

Животных - доноров забивали декапитацией с предварительным введением гепарина (50 ед / мышь). Из бедренной кости извлекали костный мозг. Мышей – реципиентов облучали смертельной дозой для полного подавления гемопоэтической функции. Затем вводили им внутривенно суспензию клеток костного мозга мышей – доноров (Приложение 1).

Мыши – реципиенты выживали за счет введения клеток в их организм, часть из которых образовывала на селезенке макроскопические колонии. Эти колонии образуются за счет того, что малодифференцированные клетки кроветворной ткани донора интенсивно делятся, формируя так называемые "очаги Мак-Куллоха".

Данные колонии выглядят светлыми дискретными очажками диаметром 1-2 мм [16].

2.2.2. Гистологические методы исследования

Микроучет колоний проводили на гистологических срезах.

После изъятия селезенки из тела декапитированной мыши, ее подвергали фиксации. В качестве фиксатора использовалась смесь 100% спирта и ледяной уксусной кислоты в соотношении 3:1. Зафиксированный материал хранили в 70-градусном спирте. Для приготовления срезов, материал подвергали уплотнению путем обезвоживания в спиртах увеличивающейся концентрации. При этом использовали спирт 80 градусов (1 час) и 96 градусов (2 порции по 30 минут).

Для удаления спирта и подготовки к пропитыванию парафином, материал обрабатывали смесью спирта 100-градусного и эфира (1:1) 30 минут, затем помещали в касторовое масло 2% на одни сутки.

После этого материал погружали в смесь парафина и эфира (1:1) и помещали в термостат на один час.

Затем парафин нагревали, заливали в формочку и помещали в нее материал. Формочку охлаждали водой.

С помощью санного микротомы с селезенки сделали три среза: два субкапсулярных и один центральный. Срезы наклеивали на предметные стекла, обработанные раствором яичного белка с глицерином (2:1).

Подготовленные срезы окрашивали гематоксилин-эозином.

Подготовленные срезы исследовали под микроскопом, регистрировали количество микроколоний, их клеточный состав.

Подготовленные гистологические срезы микроскопировали, регистрируя количество микроколоний, их и клеточный состав. Картирование селезеночных колоний производили с помощью микроскопа стереоскопического МБС-9. Определяли средний и общий объемы колоний.

Гистологический тип колоний идентифицировали на микроскопе МИКМЕД-1 (окуляр x10, x15, объектив x20, x40, общее увеличение x200-x600). Определялось число колоний каждого вида: монопотентные (мегакариоцитарные, эритроидные, гранулоцитарные), бипотентные (эритроидно-гранулоцитарные, гранулоцитарно-мегакариоцитарные, эритроидно-мегакариоцитарные), трипотентные (эритроидно-гранулоцитарно-мегакариоцитарные) и их общее число.

Полученные данные были подвергнуты статистической обработке методами вариационной статистики.

2.2.3. Статистическая обработка полученных данных

Обработка полученных результатов осуществлялась при помощи методов обработки статистических данных.

В случае экзогенного колониеобразования принимали допущения, что выход числа колоний под влиянием какого-либо фактора есть дискретная величина, распределенная по нормальному закону. Расчёт достоверности производили общеизвестными способами. Между полученным результатом и фактическим значением может возникать погрешность, которая подвергается математическому расчету для определения степени точности каждого метода в отдельности [12, 20].

1. Вычисляли арифметическое значение вариант (M):

$$M = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n} = \frac{1}{n} * \sum_{i=1}^n x_i \quad (1)$$

где x_1, x_2, x_n – варианты признака

n – величина выборки

2. Для более точной характеристики рассеяния варианты рассчитывали среднее квадратичное (стандартное) отклонение распределения, которое рассчитывали по формуле:

$$\sigma = \sqrt{\frac{(M-x_1)^2 + (M-x_2)^2 + \dots + (M-x_n)^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (M-x_i)^2}{n-1}} \quad (2)$$

где M – среднее арифметическое

x_1, x_2, x_n – варианты признака

n – величина выборки

3. Находили разность (без учета знака) между средним (M) и каждой вариант (X) и эти разности возводили в квадрат. Сумму делили на число вариант без единицы. Из частного извлекали квадратный корень.

4. Для характеристики неточности, вычисляли ошибку средней арифметической (стандартную ошибку) по формуле:

$$m = \frac{\delta}{\sqrt{n}} \quad (3)$$

где σ - среднее квадратичное (стандартное) отклонение распределения

n – величина выборки

5. Для расчета коэффициента вариации использовали формулу:

$$\gamma = \frac{\delta}{M} * 100\% \quad (4)$$

где σ - среднее квадратичное (стандартное) отклонение распределения

M – среднее арифметическое

6. Для установления случайности колебания величин вариант использовали критерий надежности Стьюдента:

$$t = \frac{|M_1 - M_2|}{\sqrt{M_1^2 + M_2^2}} \quad (5) \quad [20, 40].$$

M – среднее арифметическое

Глава 3. Исследование влияния ионизирующего излучения на органы кроветворения

3.1 Дифференцировочный потенциал КОЕ-с на разных сроках облучения

3.1.1 Подсчет монопотентных колоний КОЕ-с при облучении мышей ^{90}Sr

На первом этапе исследования проводили анализ динамики монопотентных колоний КОЕ-с у облученных животных на разных сроках облучения. Полученные результаты в ходе анализа соотношения гистологических типов КОЕ-с костного мозга представлены в таблице №2 (Приложение 4).

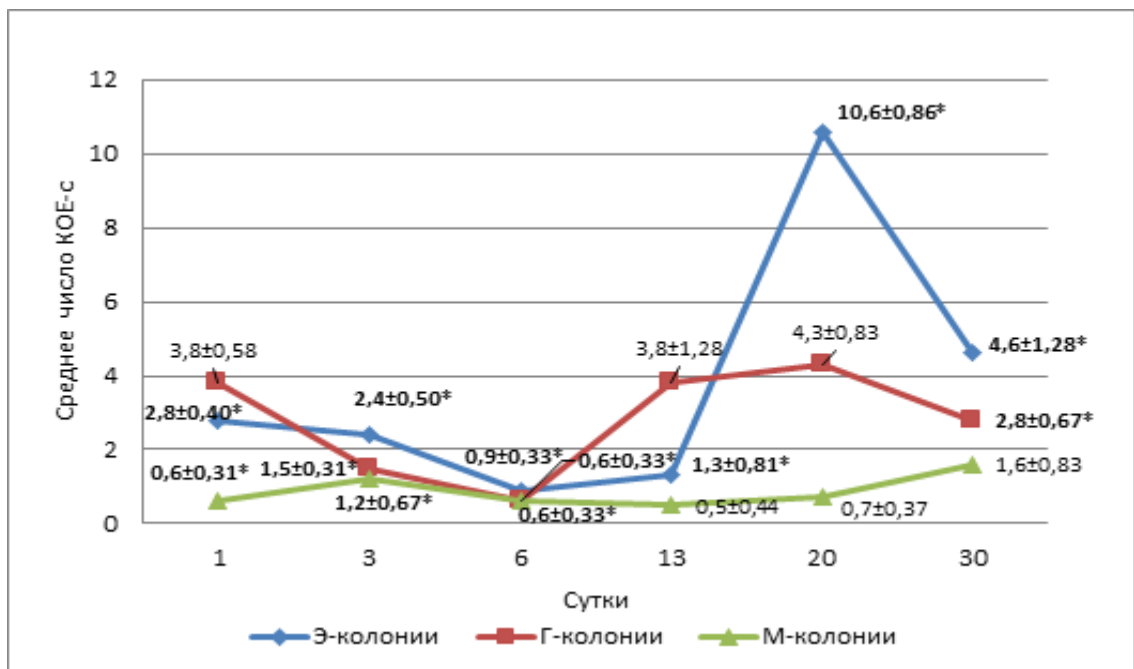


Рис.1 Динамика монопотентных КОЕ-с различного типа (Э, Г, М) на разных сроках облучения.

Примечание: *различия достоверны по сравнению с контрольной группой животных ($p \leq 0,05$).

В исследовании для сравнительной оценки динамики КОЕ-с у облученных животных на разных сроках облучения были использованы показатели у интактных животных данных возрастных групп (Ефимова Н.В., 2005). Данные по контрольной группе (интактные животные) представлены в таблице №2 (Приложение 3).

В первые сутки облучения среди монопотентных КОЕ-с происходит достоверное снижение числа эритроидных и мегакариоцитарных КОЕ-с на 82 % и 84% ($p \leq 0,05$) соответственно по сравнению с контрольной группой животных. Мы предполагаем, что это может быть связано с их гибелью вследствие радиационного воздействия.

На 3 и 6 сутки наблюдается достоверное снижение числа всех типов монопотентных КОЕ-с по сравнению с интактными животными.

На 13 и 20 сутки происходит достоверное снижение числа эритроидных КОЕ-с по сравнению с контролем на 92% и 40 % ($p \leq 0,05$) соответственно.

На 30 сутки достоверно снижается число гранулоцитарных КОЕ-с на 51% ($p \leq 0,05$) по сравнению с интактными мышами.

По сравнению с первыми сутками, на 30 сутки происходит увеличение числа эритроидных КОЕ-с на 64%, снижение числа гранулоцитарных КОЕ-с на 26% и увеличение числа мегакариоцитарных КОЕ-с на 66%.

Мы предполагаем, что снижение числа всех монопотентных колоний может быть связано с их гибелью вследствие радиационного воздействия.

Увеличение количества колоний может быть связано с накоплением предшественников кроветворения в стволовом кроветворном пуле при достижении значительного количества КОЕ-с соответствующего типа.

Полученные данные не противоречат результатам исследования Ефимовой Н.В. (2005), в котором было установлено сокращение числа

эритроидных КОЕ-с в 1-13 сутки, увеличение на 20 сутки и повторное снижение на 30 сутки; снижение числа гранулоцитарных КОЕ-с на 1-6 сутки, прирост на 13 сутки и дальнейшее снижение на 30 сутки; наибольшее угнетение мегакариоцитарного ростка по сравнению с другими ростками кроветворения.

3.1.2 Подсчет бипотентных колоний КОЕ-с при облучении мышей ^{90}Sr

На втором этапе исследования проводили подсчет и дифференцирование бипотентных колоний КОЕ-с у облученных животных на разных сроках облучения (Приложение 4).

Учет динамики бипотентных КОЕ-с не выявил наличие достоверных изменений числа разных типов КОЕ-с по сравнению с начальными стадиями облучения.

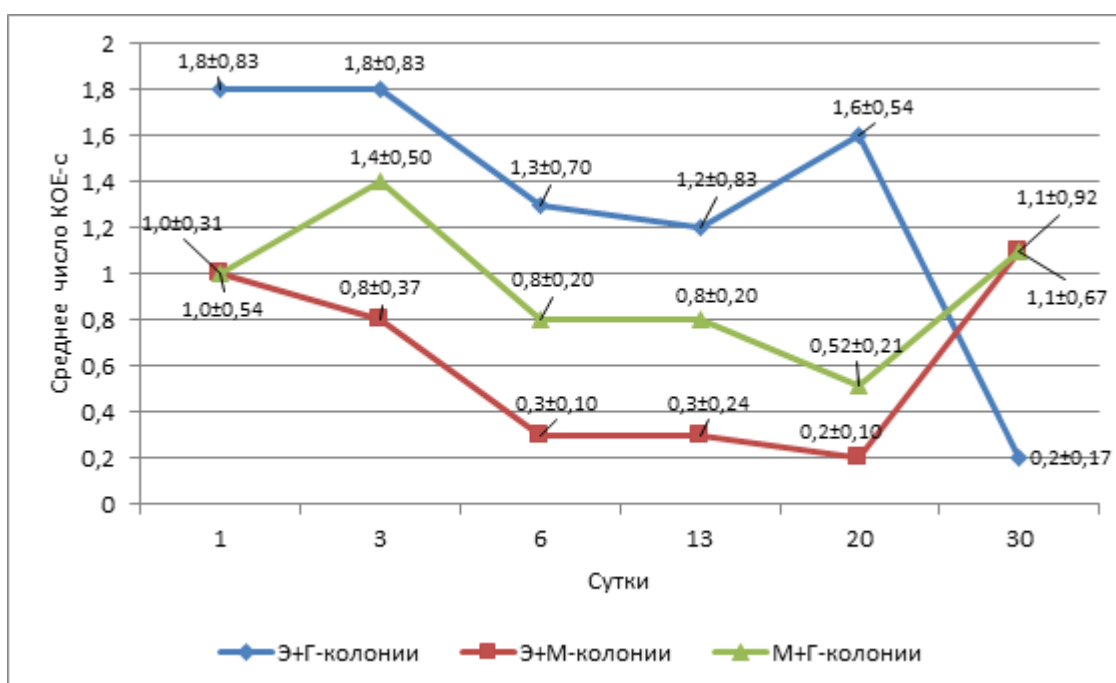


Рис.2. Динамика бипотентных КОЕ-с на разных сроках облучения

Примечание: *различия достоверны по сравнению с показателями на первых сутках облучения ($p \leq 0,05$).

Согласно данным (рис.2) наблюдается тенденция снижения эритроидно-гранулоцитарных колоний на 6-13 сутки на 33% (13 сутки) по сравнению с данными на первых сутках облучения. Наиболее выраженные изменения наблюдались на 30 сутки в виде снижения числа эритроидно-гранулоцитарных КОЕ-с (на 89%).

Динамика числа эритроидно-мегакариоцитарных и мегакариоцитарно-гранулоцитарных КОЕ-с имеет сходство на разных стадиях облучения. На 6-20 сутки происходит снижение числа КОЕ-с, а на 30 сутки облучения – рост числа колоний. Предполагаем, что это может быть связано с выходом стволовых клеток в дифференцировку с целью нормализации количественного состава эритроидного и гранулоцитарного ростков кроветворения.

3.1.3 Подсчет полипотентных колоний КОЕ-с при облучении мышей ^{90}Sr

На третьем этапе проводили изучение динамики полипотентных колоний КОЕ-с (рис. 3.)

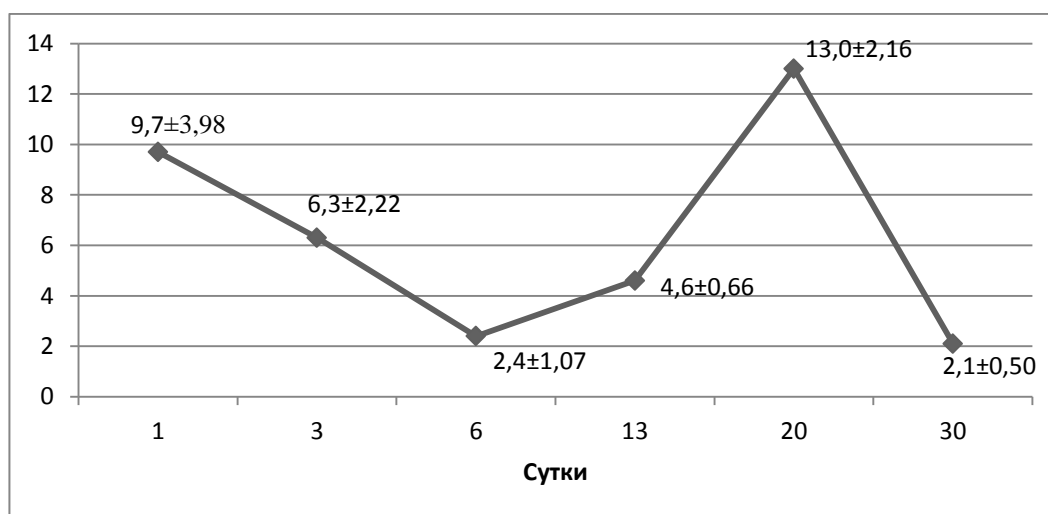


Рис.3 Динамика полипотентных КОЕ-с на разных сроках облучения

Примечание: $p \leq 0,05$ по сравнению с 1 сутками облучения

Согласно данным (рис.3) достоверных изменений числа полипотентных КОЕ-с по сравнению с начальными стадиями облучения (1 сутки) не происходит. Отмечается тенденция к снижению количества полипотентных колоний в период с 3-х по 6-е сутки на 36% и 75% соответственно по сравнению с показателями на первых сутках у облученных животных, а также на 30-е сутки на 78%.

Снижение числа полипотентных колоний может быть связано с высокой чувствительностью колониеобразующих клеток к воздействию ионизирующего излучения и угнетению способности этих клеток формировать колонии.

Таким образом, в ходе выявления влияния ионизирующего излучения на дифференцировочный потенциал КОЕ-с мышей линии СВА при облучении ^{90}Sr установлено, что происходит достоверное снижение числа монопотентных КОЕ-с по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует об их повышенной радиочувствительности. Динамика числа бипотентных и полипотентных КОЕ-с не претерпевает достоверных изменений.

Полученные результаты могут быть связаны с адаптационно – компенсаторными механизмами системы кроветворения, которые позволяют обеспечить функционирование организма в условиях воздействия негативных антропогенных факторов среды, в частности, ионизирующего излучения.

Глава 4. Использование методического материала исследования при проведении учебного занятия

Полученные в ходе исследования данные можно использовать при преподавании биологии и ОБЖ в школе.

В курсе биологии возможно использование при рассмотрении тем:

«Малокровие», «Форменные элементы крови. Кроветворение», «Влияние факторов среды на развитие и здоровье человека», «Экологические кризисы. Основы рационального природопользования».

В курсе ОБЖ возможно использование при рассмотрении тем:

«Аварии с выбросом радиоактивных веществ», «Радиация вокруг нас», «Аварии на радиационно-опасных объектах», «Последствия радиационных аварий».

Материалы исследования данной работы были использованы при написании методической разработки урока по ОБЖ, которая была внедрена в учебный процесс МАОУ СОШ №15 г. Челябинска (Приложение 5).

На базе полученных в ходе исследования результатов был разработан и проведен урок биологии по теме «Форменные элементы крови. Кроветворение».

Данный урок представляет собой комбинированный урок в 8 классе с использованием современных педагогических технологий: мультимедиа, видео трансляции, что способствует индивидуализации обучения, оказывает эмоциональное воздействие на школьников, тем самым повышая эффективность обучения (Приложение 2).

ВЫВОДЫ

В ходе определения влияния ионизирующего излучения на систему крови биообъектов установлено:

1. Ионизирующее излучение оказывает влияние на качественные и количественные изменения показателей периферической крови, которые характеризовались снижением общего количества лейкоцитов и сокращением доли лимфоцитов в лейкограмме животных.
2. При облучении ^{90}Sr наблюдались изменения дифференцировочного потенциала КОЕ-с у мышей линии СВА. Динамика числа монопотентных (эритроидных, гранулоцитарных, мегакариоцитарных) КОЕ-с носила фазный характер:

- В 1-13 сутки выявлено достоверное снижение числа КОЕ-с: эритроидных и мегакариоцитарных (1 сутки), на 3 и 6 сутки – всех монопотентных КОЕ-с, эритроидных (13 сутки);

- На 20 сутки характерно увеличение числа КОЕ-с (по сравнению с 1 сутками);

- На 30 сутки – снижение числа эритроидных и гранулоцитарных КОЕ-с.

Учёт динамики бипотентных КОЕ-с не выявил наличие достоверных изменений числа разных типов КОЕ-с по сравнению с начальными стадиями облучения. Согласно полученным данным, наиболее выраженные изменения происходят с эритроидно-гранулоцитарными КОЕ-с на 30 сутки в виде резкого снижения числа КОЕ-с по сравнению с начальными сроками облучения. На 3-20 сутки происходит снижение числа гранулоцитарно-мегакариоцитарных и эритроидно-мегакариоцитарных колоний.

Согласно полученным результатам достоверных изменений числа полипотентных КОЕ-с по сравнению с начальными стадиями облучения (1

сутки) не происходит. Отмечается тенденция к снижению количества полипотентных колоний в период с 3-х по 6-е сутки на 36% и 75% соответственно, по сравнению с показателями на первых сутках у облученных животных, а также на 30-е сутки на 78%.

Таким образом, выявленные изменения свидетельствуют о том, что популяции клеток системы гемо-иммунопоза являются наиболее радиочувствительными.

3. На основе полученных в работе результатов исследования разработана и внедрена в учебный процесс МАОУ СОШ №15 г. Челябинска методическая разработка урока биологии по теме «Форменные элементы крови. Кроветворение».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Система крови является одной из самых чувствительных систем организма. При нарушении структур и функций системы крови, нарушаются функции других систем организма.

Клетки кроветворных органов и периферической крови наиболее чувствительны к действию ионизирующего излучения.

Анализ литературных источников показал, что показатели периферической крови биообъектов, подвергнутых воздействию ионизирующего излучения, меняются в зависимости от дозы и сроков облучения животных. Динамика показателей периферической крови носит фазный характер:

- I. В первую фазу (первые часы после облучения) отмечается незначительное снижение числа форменных элементов (в среднем на 5%);
- II. Во вторую фазу (6-8 часов после облучения) происходит увеличение числа форменных элементов в среднем на 15%;
- III. Третья фаза (к концу суток) характеризуется снижением числа форменных элементов до исходного уровня (контроль) и поддержание на нем.

При облучении происходит изменение соотношения ростков кроветворения. В исследовании были выявлены процессы перестройки в стволовом пуле системы гемопоэза при облучении мышей ^{90}Sr и изменения количества КОЕ-с на разных сроках облучения, что свидетельствует о развитии компенсаторно-приспособительных реакций в системе кроветворения на воздействие ионизирующего излучения.

Изменения в костномозговом кроветворении, возникающие под действием ионизирующего излучения, могут приводить к изменениям в

системе крови, которая является связующим звеном между всеми тканями и органами живого организма.

Результаты исследования можно использовать для разработки учебных занятий по биологии и безопасности жизнедеятельности на темы «Форменные элементы крови. Кроветворение», «Влияние ионизирующего излучения на организм человека и животных».

Из всего вышеизложенного в работе можно сделать вывод о том, что в результате влияния негативных факторов внешней среды в системе крови биообъектов происходят существенные изменения, которые могут привести к нарушению функционирования систем организма, к возникновению заболеваний, и как следствие, к летальному исходу.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Doza.pro [Электронный ресурс] – 2016. – Режим доступа: https://doza.pro/art/types_of_radiation.html
2. PhysicExplorer [Электронный ресурс] – 2016. – Режим доступа: http://www.physic-explorer.ru/izluchenie_v_mediticine-476-1.html
3. Афанасьев, Б. В. Родоначальные кроветворные клетки человека [Текст] / Б.В. Афанасьев, В.А. Алмазов. - Л.: Наука, 1985. – 367 с.
4. Байсоголов, Г. Д. Динамика показателей периферической крови у больных хронической лучевой болезнью после прекращения лучевого воздействия [Текст] / Г. Д. Байсоголов // Радиация и риск. - 2000. - №1. - С.45-51
5. Бекман, И. Н. Ядерная индустрия: курс лекций [Текст] / И. Н. Бекман. - М.: изд-во МГУ, 2005. – 458 с.
6. Блинов, Л. Н. Экологическая обстановка и здоровье человека [Текст] / Л. Н. Блинов, И. Л. Первилова, А. В. Юмашева // Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. - 2010. - №1. - С. 15 - 22
7. Большой энциклопедический словарь [Электронный ресурс] – 2016. – Режим доступа: <http://enc-dic.com/word/i/Iohiziruyuschie-izluchehiya-16272.html>
8. Борисова, В. В. Биологические эффекты при длительном поступлении радионуклидов [Текст] / В. В. Борисова, Т. М. Воеводина, А. В. Федорова // Радиационная биология. Радиоэкология. - М.: Энергоатомиздат, 1988. – 165 с.

9. Буланова, К. Я. Системный подход в радиобиологических исследованиях [Текст] / К. Я. Буланова, Л. М. Лобанок // Радиационная биология. Радиоэкология. - 2004. - №1. - С. 5 - 14
10. Вангородский, С. Н. Основы безопасности жизнедеятельности: 8 класс [Текст] / С. Н. Вангородский. - М.: 2011. - 334 с.
11. Варов, В. К. Российская энциклопедия по охране труда [Текст] / В. К. Варов, Л. А. Воробьев, А. Ф. Зубков, Н. Ф. Измеров. - М.: изд-воНЦ ЭНАС, 2010. – 560 с.
12. Дубнов, П. Ю. Экологические проблемы на пороге 21 века [Текст] / П. Ю. Дубнов // Стратегия гражданской защиты: проблемы и исследования. - 2010. - №2. - С. 44 – 52
13. Ефимова, Н. В. Компенсаторно-приспособительные реакции стволового кроветворного пула мышей линии СВА при однократном введении ^{90}Sr [Текст] / Н. В. Ефимова, Д. З. Шибкова, Е. И. Толстых, О. Г. Андреева // Радиационная биология. Радиоэкология. - 2005. - №1. - С. 180 - 190
14. Ефимова, Н. В. Состояние стволовых кроветворных клеток мышей линии СВА на разных этапах онтогенеза [Текст] / Н. В. Ефимова, Д. З. Шибкова, О. Г. Андреева // Вестник ЧГПУ. – 2005. - №6
15. Загуменнова, О. Н. Исследование субпопуляции лимфоцитов людей, подвергшихся хроническому радиационному воздействию [Текст] / О. Н. Загуменнова, Е. В.Мальшева, А. В. Гулин // Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки. - 2012. - №1. - С. 23 – 29
16. Зиматкин, С. М. Курс лекций по гистологии, цитологии и эмбриологии [Текст] / С.М. Зиматкин. - Гродно.: изд-во ГрГМУ, 200. – 105 с.

17. Ионизирующие излучения и человек [Электронный ресурс] – 2016. – Режим доступа: <http://www.eco.nw.ru/lib/data/07/4/020407.htm>
18. Киршин, В.А. Действие ионизирующих излучений на сельскохозяйственных животных [Текст] / В. А. Киршин // Ветеринарная патология. - 2002. - №3. - С. 26 - 31
19. Ковальчук, Л. В. Иммунология: практикум [Текст] / Л. В. Ковальчук, Г. А. Игнатьева, Л. В. Ганковская. - Л.: Наука, 2010. – 176 с.
20. Кочетов, А. Г. Методы статистической обработки медицинских данных [Текст] /А. Г. Кочетов, О. В. Лянг, В. П. Масенко. - М.: РКНПК, 2012. – 42 с.
21. Кудряшов, Ю. Б. Радиационная биофизика [Текст] / Ю. Б. Кудряшов. - М.: изд-во МГУ, 2004. – 442 с.
22. Куница, В. Н. Лимфоидные образования слепой кишки крыс после облучения[Текст] / В. Н. Куница, Н. В. Девятова, Н. А. Новосельская // Современная медицина: актуальные вопросы. - 2015. - №37. - С. 99 - 106
23. Ламзина, М. Г. Оценка показателей крови животных при воздействии ионизирующих и неионизирующих излучений [Текст] / М. Г. Ламзина, А. С. Зенкин // Вестник Брянского государственного университета. - 2012. - №4. - С. 69 – 72
24. Левченко, Е. Н. Стронций России: нереализованные возможности [Текст] / Е. Н. Левченко Л. З. Быховский, Л. П. Тигунов // Минеральные ресурсы России. Экономика и управление. - 2007. - №6. - С. 13-19
25. Мадиева, М. Р. Оценка биологического влияния малых доз ионизирующего излучения на окружающую среду[Текст] / М. Р. Мадиева, Д. Е. Узбеков, Г. О. Терликбаева, О. З. Ильдербаев //

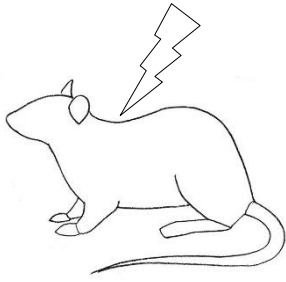
- Международный журнал фундаментальных и прикладных исследований. - 2012. - №1. - С. 54 - 57
26. Медведев, Н. Н. Линейные мышцы: справочное руководство [Текст] / Н. Н. Медведев. - Л.: Медицина, 1964. – 180 с.
27. Мишин, Б. И. Обучение в 5-11 классах по учебнику «Основы безопасности жизнедеятельности под редакцией Ю.Л. Воробьева [Текст] / Б. И. Мишин, М. В. Юрьева. - М.: 2014. – 224 с.
28. Мозолин, Е. М. База данных по действию ионизирующих излучений на сельскохозяйственных животных [Текст] / Е. М. Мозолин, В. Я. Саруханов, С. И. Спиридонов // Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра). - 2012. - №2. - С. 82-89
29. Переверзев, А. Е. Кроветворные колониеобразующие клетки и физиологические стресс - факторы [Текст] / А. Е. Переверзев. - Л.: Наука, 1986. – 280 с.
30. Пестовский, Ю. С. Биологическое действие ионизирующих излучений [Текст] / Ю. С. Пестовский // Всероссийский журнал научных публикаций.- 2013. - №5. - С. 12-18
31. Попова, Е. О. Опасность радиоактивных веществ для организма человека [Текст] / Е. О. Попова // Современные инновации в науке и технике. – 2016. - С. 137-140
32. Поровский, Я. В. Изменение локальной регуляции кроветворения при хроническом воздействии ионизирующего излучения [Текст] / Я. В. Поровский // Бюллетень сибирской медицины. - 2009. - №4. - С. 22 – 29
33. Рентгенотехника [Электронный ресурс] – 2016. – Режим доступа: <http://omegabiz.ru/OborudovanieDlyaRentgena/rentgen-doza-radiacii>

34. Савина, Н. П. Эффекты поражения системы кроветворения человека в связи с аварией на Чернобыльской АЭС [Текст] / Н. П. Савина, С. К. Х // Радиация и риск. - 1996. - №6. - С.246 – 256
35. Сафонова, Ю. В. Некоторые показатели радиочувствительности организма и их коррекция [Текст] / В. Ю. Сафонова // Вестник Оренбургского государственного университета. - 2008. - №4. - С. 26 - 30
36. Словарь-справочник терминов нормативно-технической документации [Электронный ресурс] – 2016. – Режим доступа: http://normative_reference_dictionary.academic.ru/23503/Ионизирующее_излучение
37. Техническая и гуманитарная литература [Электронный ресурс] – 2016. – Режим доступа: <http://www.telenir.net/medicina>
38. Фриденштейн, А.Я. Клеточные основы кроветворного микроокружения [Текст] /А.Я. Фриденштейн, Е.А. Лурия - М.: Медицина, 1980. – 222 с.
39. Фролов, М. П. Основы безопасности жизнедеятельности: 8 класс [Текст] / М. П. Фролов, Ю. Л. Воробьев. - М.: 2012. – 193 с.
40. Чернова, Т. В. Экономическая статистика [Текст] / Т. В.Чернова. - Таганрог: ТРТУ, 1999. –С. 51-55
41. Шибкова, Д. З. Адаптационно-компенсаторные реакции системы кроветворения при хроническом радиационном воздействии [Текст] / Д. З. Шибкова, А. В. Аклеев. - Челябинск: Изд-во ЧГПУ. – 2006. – 328 с.
42. Шибкова, Д. З. Модифицирующее действие радиационного фактора на стволовые кроветворные клетки экспериментальных животных: монография [Текст] / Д. З. Шибкова, Н. В. Ефимова. – Челябинск: Изд-во Челяб. гос. пед. ун-та, 2007. – 201 с.

ПРИЛОЖЕНИЯ

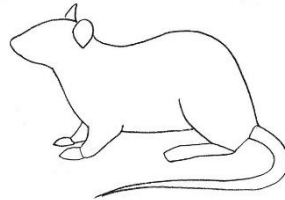
ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Через 9 суток после облучения на поверхности селезенки обнаруживаются колонии. Каждая колония образуется в результате деления одной стволовой клетки



Кроветворение мыши

подавляют гамма-облучением



Мышам-донорам однократно внутрибрюшинно инъецируют стронций-90; контролем служат интактные мыши



Бедренная кость мышей-доноров



Суспензия клеток костного мозга

Трансплантируют суспензию клеток

костного мозга от мышей-доноров;

мышь выживает



ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Тема урока: «Форменные элементы крови. Кроветворение».

Тип урока: комбинированный

Вид урока: смешанный

Методы обучения: объяснительно-иллюстративный, частично – поисковый

Цель методическая: создать условия для формирования знаний по данной теме; развивать способность анализировать полученную информацию

Задачи:

1. Сформировать у учащихся представление об особенностях элементов крови, о процессе гемопоэза и негативном влиянии ионизирующего излучения на систему крови;
2. Развивать мыслительные способности, умения анализировать, делать выводы;
3. Формировать научное мировоззрение, целостную картину мира, воспитывать у учащихся познавательный интерес к предмету

УУД:

1. Познавательные: умения давать определение понятиям, устанавливать причинно-следственные связи, анализировать информацию

2. Регулятивные: умения самостоятельно определять цель занятия, определять способы решения задачи

3. Коммуникативные: умение организовывать и поддерживать сотрудничество с учителем и другими учащимися для достижения общего результата.

Литература

Для учителя	Для учащегося
Учебник «Общая биология» А. А. Каменский, В. В. Пасечник А. В. Пименов, О. В. Гончаров «Пособие по биологии для поступающих в вузы» Настольная книга учителя биологии Г.С. Калимова	Учебник «Общая биология» А. А. Каменский, В. В. Пасечник

Ход урока

Этап урока	Действия учителя	Ход урока	Действия учащихся
1. Организационный момент	Приветствует учащихся, проверяет отсутствующих	Здравствуйте, ребята! Садитесь. Кто отсутствует на уроке?	Приветствуют учителя.
2. Актуализация знаний	Проверка домашнего задания в форме устного опроса у доски	Давайте вспомним, что мы изучали на прошлом уроке. Несколько учащихся отвечает у доски, другие дополняют его ответ.	Отвечают на вопросы

		<p>Вопросы:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Перечислите компоненты внутренней среды организма и назовите их роль; 2. Объясните функции крови; 3. По схеме установите местонахождение компонентов внутренней среды в организме 	
3.Изложение нового материала	Объяснение новой темы, постановка проблемных вопросов, беседа с учащимися	<p>Тема нашего урока тесно связана с предыдущей изученной темой, запишите ее название «Форменные элементы крови. Кроветворение».</p> <p>Давайте вместе сформулируем цель урока</p> <p>Кровь является одним из компонентов внутренней среды организма. Около 50 % в крови – плазма, состоящая на 90 % из воды, остальное содержание плазмы: белки и другие органические вещества и</p>	<p>Слушают новый материал, отвечают на вопросы учителя.</p> <p>Формулируют цель урока.</p> <p>Работают с учебником.</p>

		<p>минеральные соли.</p> <p>Откройте учебник на стр.84 «Состав крови. Плазма крови» и составить схему форменных элементов крови.</p> <p>Кровь является важнейшей системой организма, связывающей все системы.</p> <p>Система крови является одной из самых чувствительных к действию загрязняющих вредных факторов среды. Кровь, как высокофункциональная и морфодинамичная система, быстро реагирует на различные воздействия факторов внешней среды. Давайте рассмотрим на примере воздействия ионизирующего излучения какие изменения претерпевает система крови (Рис 1, 2, 3).</p> <p>Здесь мы видим, что под действием ионизирующего излучения происходит изменения числа всех</p>	
--	--	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--

		<p>предшественников кроветворения. Из этого можно сделать вывод, что органы кроветворения являются наиболее радиочувствительными и действие ионизирующего излучения на них может вызвать необратимые изменения во всех тканях и органах [10, 27, 34, 36].</p>	
<p>Подведение итогов</p>	<p>Задаёт вопросы</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Что такое кровь? 2. Какие форменные элементы входят в состав крови? 3. Какие изменения происходят в крови при воздействии ионизирующего излучения? 	<p>Отвечают на вопросы</p>
<p>Домашнее задание</p>	<p>Выдает домашнее задание</p>	<p>Запишите домашнее задание. Выучить тему урока. Подготовить доклад «Негативное влияние факторов среды на систему крови»</p>	<p>Записывают домашнее задание</p>

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

Таблица 2

Гистологический анализ колоний при тестировании КОЕс-9сут. костного мозга
мышей линии СВА разного возраста [14]

Показатели кроветворе ния	Возраст животных, месяцы					
	3	3,5	4	9	12	15
Клеточность к/м, 10 ⁶ /бедро	12,5± 1,5	14,3±1,8	12,2±0,3	14,3±1,3		11,4±0,8
Концентрац ия КОЕс (x10 ⁶)	44,4± 3,3	39,7±3,4	38,0±1,7	42,0±3,4	40,8±1,6	47,2±2,7
Общее содержание КОЕс	5501, 3±416 ,7	5669,2± 483,3	4640,8± 208,6	6006,0± 478,4	5834,4± 223,4	5380,8± 302,5
Общий объем колоний, мм ³	61,6± 8,1	121,3±1 9,5	139,0±2 8,5	179,9±2 4,8*	179,9±5 7,9	194,4±3 1,4*
Средний объем колоний, мм ³	1,6±0, 2	3,1±0,4	3,7±0,7*	4,6±0,3*	5,1±1,6	4,8±1,2*
Число Э- колоний	16,2± 0,3	17,6±2,0	16,3±1,1	18,5±1,6	20,4±1,4	14,8±1,5
Число Г- колоний	8,3±2, 4	5,5±1,8	5,7±0,8	7,3±0,6	5,0±0,9	7,4±0,5
Число М- колоний	3,9±0, 7	1,1±0,6	1,4±0,6	3,0±0,6	5,6±1,5	3,6±1,0
Число С- колоний	15,7± 1,9	15,4±2,0	15,9±1,1	13,3±2,3	9,8±1,4	21,8±1,5
Отношение Э/Г	2,5±0, 7	3,6±0,6	3,3±0,7	2,7±0,1	5,3±1,8	2,9±1,2
Доля Э- колоний, %	37,0± 2,1	44,4±2,9	43,4±4,6	44,4±3,7	50,5±4,5	31,2±2,3
Доля Г- колоний, %	18,2± 4,2	14,7±0,6	14,9±2,2	17,3±1,1	12,3±2,5	14,6±2,5

Таблица 2 (продолжение)

Доля М-колоний, %	9,1±2,0	2,9±1,7	3,4±1,4	7,0±1,0	13,3±2,9	8,0±2,4
Доля С-колоний, %	35,1±3,1	38,1±2,6	38,3±4,1	31,3±4,3	23,8±2,8	46,2±1,9*
Средний объем Э-колоний, мм ³	1,3±0,2	2,5±0,4	2,4±0,2	4,8±0,4*	5,0±1,6	3,2±1,0
Средний объем Г-колоний, мм ³	0,6±0,1	0,9±0,2	1,0±0,2	0,7±0,1	0,8±0,1	0,9±0,1
Средний объем С-колоний, мм ³	2,3±0,4	4,4±0,5	5,6±1,4	6,4±0,6	7,7±2,3	6,8±1,4*
Среднее число мегакариотов в колонии	5,5±0,3	6,3±2,0	5,2±1,4	8,7±0,5	7,7±1,2	7,7±1,2
Средний объем Э-колоний, мм ³	20,5±3,0	43,9±8,6	39,1±4,0	90,6±13,5*	91,5±10,4*	46,7±15,0
Средний объем Г-колоний, мм ³	5,5±2,2	5,4±1,7	6,0±1,5	5,1±1,2	4,2±1,1	6,3±1,7
Средний объем С-колоний, мм ³	35,6±6,5	72,0±14,9	94,0±28,1	84,3±17,1	84,1±37,6	141,3±20,6*
Общее число мегакариотов	20,8±2,7	9,7±8,0	6,5±3,7	26,5±5,9	49,8±20,6	27,8±8,5

Примечание: Э-эритроидные, Г-гранулоцитарные, М-мегакариоцитарные, С-смешанные колонии; *-различия с контролем (90-е сутки) достоверны при $p \leq 0,05$

ПРИЛОЖЕНИЕ 4

Таблица 3

Гистологический анализ КОЕ-с мышей линии СВА на разных сроках облучения (M±m)

№	Показатель	Сроки облучения (сут)					
		1	3	6	13	20	30
1	Общее количество колоний	103,1±5,88	62,8±5,84	21,5±3,64	62,5±3,58	166,1±5,94	109,1±3,43
2	Число Э-колоний	2,8±0,40*	2,4±0,50*	0,9±0,33*	1,3±0,81*	10,6±0,86*	4,6±1,28*
3	Число Г-колоний	3,8±0,58	1,5±0,31*	0,6±0,33*	3,8±1,28	4,3±0,83	2,8±0,67*
4	Число М-колоний	0,6±0,31*	1,2±0,67*	0,6±0,33*	0,5±0,44	0,7±0,37	1,6±0,83
5	Число Э+Г-колоний	1,8±0,83	1,8±0,83	1,3±0,57	1,2±0,83	1,6±0,54	0,2±0,17
6	Число Э+М-колоний	1,0±0,54	0,8±0,37	0,3±0,10	0,3±0,24	0,2±0,10	1,1±0,67
7	Число М+Г-колоний	1,0±0,31	1,4±0,50	0,8±0,20	0,8±0,20	0,52±0,21	1,1±0,92
8	Число Э+Г+М-колоний	9,7±3,98	6,3±2,22	2,4±1,07	4,6±0,66	13,0±2,16	2,1±0,50
9	Общее количество смешанных колоний	66,25±7,54	31,8±7,45	15,2±4,60	34,5±3,74	87,8±6,61	63,3±4,04
10	% смешанных колоний	64,2±4,24	50,5±2,24	70,7±3,32	55,2±3,69	52,8±2,32	58,0±3,12
11	% Э-колоний	13,9±0,44	6,8±0,26	12,2±2,15	10,4±2,23	31,9±2,54	21,4±5,52

Таблица 3 (Продолжение)

12	% Г-колоний	18,8±0,62	11,4±0,96	6,1±1,10	3,2±0,60	13,1±1,12	13,0±0,92
13	% М-колоний	3,0±0,21	9,7±2,10	4,9±0,62	4,0±2,11	2,1±0,50	7,6±1,35
14	% Э+Г-колоний	10,9±2,25	15,3±0,93	12,2±1,44	9,6±1,05	11,5±2,01	37,4±2,15
15	% Э+М-колоний	3,0±0,44	2,3±0,41	4,9±1,14	2,4±1,11	0,5±0,24	5,3±0,71
16	% М+Г-колоний	3,0±0,25	4,0±0,50	12,2±1,02	6,4±3,12	1,6±0,90	5,3±0,62
17	% Э+Г+М-колоний	9,7±3,65	50,6±3,21	53,7±4,09	36,8±5,02	39,3±2,84	9,9±1,01
18	Сб Э, %	19,4±2,10	47,5±3,25	45,8±2,03	69,9±1,29	15,8±1,09	51,4±5,07
19	Сб Г, %	21,0±0,50	17,7±0,71	24,7±1,49	37,9±0,80	37,4±1,25	44,6±2,86
20	Сб М, %	70,7±3,29	44,6±1,12	24,7±0,55	100,0±2,37	104,6±2,12	93,5±1,41
21	Сб смешанных колоний, %	142,0±1,37	117,4±2,21	95,4±1,50	69,0±1,22	131,0±3,11	30,1±1,07
22	Сб Э+Г-колоний	69,7±2,13	33,6±0,94	75,5±3,32	69,7±2,54	52,3±0,44	106,5±4,01
23	Сб Э+М-колоний,%	122,5±1,66	104,6±2,09	43,3±1,62	91,3±1,35	223,6±6,60	108,3±1,24
24	Сб М+Г-колоний,%	70,7±0,29	81,4±1,11	62,4±3,25	129,6±2,70	81,6±2,23	148,1±0,66
25	Сб Э+Г+М-колоний,%	57,1±1,14	27,9±0,25	36,7±1,02	16,1±1,34	32,3±0,27	43,9±0,54

Примечание: Э-эритроидные, Г-гранулоцитарные, М-мегакариоцитарные, С-смешанные колонии; *-различия с контролем достоверны при $p \leq 0,05$

