

**Н.В. Ефимова, Д.З. Шибкова**

**МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ  
РАДИАЦИОННОГО ФАКТОРА  
НА СТВОЛОВЫЕ КРОВЕТВОРНЫЕ КЛЕТКИ  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ**

**Федеральное агентство по образованию  
Государственное образовательное учреждение  
высшего профессионального образования  
«Челябинский государственный педагогический  
университет»**

**Н.В. Ефимова, Д.З. Шибкова**

**МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ  
РАДИАЦИОННОГО ФАКТОРА  
НА СТВОЛОВЫЕ КРОВЕТВОРНЫЕ КЛЕТКИ  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ**

**Монография**

**Челябинск**

**2007**

**УДК 577.3**  
**ББК 28.071.2**  
**Е 91**

*Ефимова Н.В.* Модифицирующее действие радиационного фактора на стволовые кроветворные клетки экспериментальных животных: монография / *Н.В. Ефимова, Д.З. Шибкова.* – Челябинск: Изд-во Челяб. гос. пед. ун-та, 2007. – 201 с.

ISBN 5-85716-676-4

Монография написана на основе экспериментального исследования состояния стволовых кроветворных клеток (КОЕс) в условиях длительного (до 360 суток) внутреннего  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы, вызванного однократным введением  $^{90}\text{Sr}$  в различных концентрациях. Результаты исследования расширяют представления о компенсаторно-приспособительных реакциях в системе клеточного обновления кроветворения при радиационном воздействии.

Книга представляет интерес для специалистов в области радиобиологии и клинической медицины, студентов медико-биологического профиля высших учебных заведений.

Монография издана при финансовой поддержке Федерального агентства по образованию Российской Федерации (Грант ЗФА/02-06).

Рецензенты: В.И. Павлова, д-р биол. наук, профессор ЧГПУ  
С.Ф. Лихачев, д-р биол. наук, профессор ЧГПУ

ISBN 5-85716-676-4

© Издательство Челябинского государственного педагогического университета, 2007

© Ефимова Н.В., 2007

© Шибкова Д.З., 2007

Научное издание

Наталья Владимировна Ефимова  
Дарья Захаровна Шибкова

МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ РАДИАЦИОННОГО  
ФАКТОРА НА СТВОЛОВЫЕ КРОВЕТВОРНЫЕ КЛЕТКИ  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

Монография

Редактор О.С. Савельева

ISBN 5-85716-676-4

Издательство ЧГПУ  
454080, г. Челябинск, пр. Ленина, 69

Подписано в печать 15.03.2007  
Объем 9,9 уч.-изд.л. Формат 60x84/16  
Тираж 500 экз. Заказ №

Отпечатано с готового оригинал-макета в типографии ЧГПУ  
454080, г. Челябинск, пр. Ленина, 69

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	7
----------------	---

### I. ХАРАКТЕРИСТИКА СТВОЛОВЫХ КРОВЕТВОРНЫХ КЛЕТОК ИНТАКТНЫХ И ОБЛУЧЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

1.1. Характеристика стволовых кроветворных клеток мышей в онтогенезе	
1.1.1. <i>Сравнительная характеристика КОЕс костного мозга, селезенки и периферической крови мышей .....</i>	11
1.1.2. <i>Количественно-качественные изменения в стволовом пуле кроветворных клеток мышей на разных этапах онтогенеза .....</i>	15
1.2. Состояние стволового пула системы клеточного обновления кроветворения при радиационном воздействии	
1.2.1. <i>Радиочувствительность стволовых кроветворных клеток .....</i>	20
1.2.2. <i>Закономерности реакции стволовых кроветворных клеток на хроническое внешнее <math>\gamma</math>-облучение .....</i>	22
1.2.3. <i>Закономерности реакции стволовых кроветворных клеток на радиационное воздействие, вызванное <math>^{90}\text{Sr}</math> .....</i>	36

II. КИНЕТИКА, ПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ И ДИФФЕРЕНЦИРОВОЧНЫЙ ПОТЕНЦИАЛЫ СТВОЛОВЫХ КРОВЕТВОРНЫХ КЛЕТОК (КОЕ <sub>с</sub> ) МЫШЕЙ ЛИНИИ СВА НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА .....	40
---	----

2.1. Сравнительная характеристика КОЕс костного мозга, селезенки и периферической крови мышей линии СВА .....	42
2.2. Возрастная динамика количества, пролиферативного и дифференцировочного потенциалов КОЕс мышей линии СВА .....	47

### III. КОМПЕНСАТОРНО-ПРИСПОСОБИТЕЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ, РЕАЛИЗУЕМЫЕ В СТВОЛОВОМ КРОВЕТВОРНОМ ПУЛЕ (КОЕ<sub>с</sub>) МЫШЕЙ ЛИНИИ СВА В РАННИЕ СРОКИ РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

3.1. Условия моделирования и оценка доз внутреннего $\beta$ -облучения животных .....	60
3.2. Компенсаторно-приспособительные реакции, реализуемые в стволовом кроветворном пуле костного мозга мышей линии СВА в ранние сроки (1–30-е сутки) хронического $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы .....	63
3.3. Компенсаторно-приспособительные реакции, реализуемые в стволовом кроветворном пуле селезенки мышей линии СВА в ранние сроки (1–30-е сутки) хронического $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы .....	74
3.4. Роль миграции стволовых кроветворных клеток в компенсаторно-приспособительных реакциях, реализуемых в стволовом кроветворном пуле костного мозга и селезенки мышей линии СВА в ранние сроки (1–30-е сутки) хронического $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы .....	85

3.5. Системный анализ адекватности компенсаторно-приспособительных реакций в стволовом кроветворном пуле при однократном введении $^{90}\text{Sr}$ в концентрации 29,6 кБк/г .....	93
--	----

#### IV. КОМПЕНСАТОРНО-ПРИСПОСОБИТЕЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ, РЕАЛИЗУЕМЫЕ В СТВОЛОВОМ КРОВЕТВОРНОМ ПУЛЕ МЫШЕЙ ЛИНИИ СВА В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

4.1. Компенсаторно-приспособительные реакции, реализуемые в стволовом кроветворном пуле костного мозга мышей линии СВА в отдаленные сроки (90–360-е сутки) хронического $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы .....	100
4.2. Компенсаторно-приспособительные реакции, реализуемые в стволовом кроветворном пуле селезенки мышей линии СВА в отдаленные сроки (90–360-е сутки) хронического $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы .....	115
4.3. Роль миграции стволовых кроветворных клеток в компенсаторно-приспособительных реакциях, реализуемых в стволовом кроветворном пуле костного мозга и селезенки мышей линии СВА в отдаленные сроки (90–360-е сутки) хронического $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы .....	126
4.4. Системный анализ адекватности компенсаторно-приспособительных реакций в стволовом кроветворном пуле костного мозга облученных животных в отдаленные сроки (360-е сутки) после однократного введения $^{90}\text{Sr}$ в различных концентрациях .....	132

V. ЗАКОНОМЕРНОСТИ КОЛИЧЕСТВЕННО-КАЧЕСТВЕННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В СТВОЛОВОМ ПУЛЕ СИСТЕМЫ КЛЕТОЧНОГО ОБНОВЛЕНИЯ КРОВЕТВОРЕНИЯ НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА В НОРМЕ И ПРИ РАДИАЦИОННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

5.1. Морфофункциональная характеристика КОЕс костного мозга, селезенки и периферической крови мышей линии СВА на разных этапах онтогенеза .....	137
5.2. Компенсаторно-приспособительные реакции стволового пула кроветворных клеток, направленные на поддержание общего объема гемопоэтической ткани в условиях хронического радиационного воздействия с убывающей мощностью дозы	
5.2.1. <i>Характеристика фазности изменений количества КОЕс костного мозга, селезенки и периферической крови у облученных животных .....</i>	142
5.2.2. <i>Пролиферативный потенциал КОЕс костного мозга, селезенки и периферической крови у облученных животных .....</i>	146
5.2.3. <i>Дифференцировочный потенциал КОЕс костного мозга, селезенки и периферической крови у облученных животных .....</i>	149
5.3. Детерминированность количественно-качественных изменений в стволовом кроветворном пуле при радиационном воздействии .....	158
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	167
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК.....	169
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....	200



## ВВЕДЕНИЕ

Исследование биологических эффектов малых доз и интенсивностей ионизирующей радиации имеет большое теоретическое и прикладное значение, в том числе в связи с решением проблемы оценки риска радиационного воздействия. Постулируется дуальный характер эффектов низко интенсивного радиационного воздействия – патогенный (повреждающий) и адаптогенный (раздражающий) [110]. Выявление как специфических, так и неспецифических реакций организма на длительное, сопоставимое с продолжительностью жизни, воздействие радиационного фактора для правильной оценки и интерпретации клинических и эпидемиологических наблюдений возможно лишь в экспериментальных исследованиях на животных. Система гемопоэза в таких исследованиях является наиболее чувствительным индикатором стресс-состояния и удобной моделью для изучения любой регенерирующей ткани [39, 52, 93, 167]. Центральное критическое звено в системе клеточного обновления кроветворения составляют стволовые кроветворные клетки (СКК) [64, 93, 150, 190]. Ранние этапы дифференцировки СКК могут быть критическим моментом для дальнейшего развития каждого из ростков кроветворения и иммунитета [9].

Литературные данные по кинетике КОЕс костного мозга и селезенки при хроническом радиационном воздействии достаточно многочисленны, однако ограничиваются работами по внешнему  $\gamma$ -облучению [12, 17, 39, 52, 86, 93, 108, 143, 159, 202, 110, 164, 167–171]. Установлено, что при хроническом  $\gamma$ -облучении первостепенное значение имеет фактор времени действия излучения (мощность дозы) [55]. Инкорпорированный  $^{90}\text{Sr}$  наряду

с внешним  $\gamma$ -облучением является одним из факторов, обуславливающих многолетний характер облучения жителей Уральского региона [189]. За последние 10–15 лет исследования в области радиобиологии и радиотоксикологии  $^{90}\text{Sr}$  резко сократились. В настоящее время в литературе встречаются лишь единичные работы, касающиеся биологического действия  $^{90}\text{Sr}$  и отдаленных последствий, обусловленных его поступлением в организм. Тем не менее,  $^{90}\text{Sr}$  до настоящего времени остается одним из основных потенциально опасных радионуклидов вследствие сохраняющейся возможности аварийного загрязнения ограниченных территорий радиоактивными отходами [155]. Стволовая популяция кроветворных клеток в условиях длительного внутреннего  $\beta$ -облучения, вызванного поступлением  $^{90}\text{Sr}$ , практически не изучалась, за исключением единичных работ [130, 165, 234, 130].

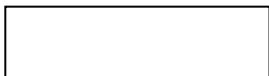
Для морфологически распознаваемых элементов костного мозга и периферической крови в условиях хронического воздействия радиационного фактора выявлены различные стратегии адаптации кроветворных ростков (по совокупности реализуемых механизмов компенсации кроветворной функции) [56, 86]. Оправданность разнообразия реакций клеточных систем на действие радиации определяется повышением устойчивости клеток к повторному облучению и ускоренным восстановлением клеточной системы в целом [175]. Исходя из вышесказанного, большой интерес представляет исследование компенсаторно-приспособительных возможностей отдельных ростков кроветворения на уровне стволового пула при хроническом радиационном воздействии.

При экспериментальном исследовании модифицирующего влияния радиационного фактора на способность КОЕс к дифференцировке получены неоднозначные результаты. Ряд авторов полагает, что при хроническом  $\gamma$ -облучении происходит перераспределение дифференцировочных потенциалов СКК в сторону преимущественного коммитирования в мегакариоцитарный

[161] или эритроидный росток [45, 87]. Другие исследователи [29], не выявив существенного изменения соотношения между ростками кроветворения у животных после подострого облучения, высказывают предположение о постоянстве дифференцировки СКК вне зависимости от меняющихся потребностей организма.

Исследования стволовых кроветворных клеток в условиях модельного эксперимента (хронического, сопоставимого с продолжительностью жизни животных, внешнего и внутреннего облучения), максимально приближенного к клиническим наблюдениям позволили установить диапазоны толерантных и повреждающих доз, а также механизмы компенсации радиационно-индуцированных повреждений [164]. Углубление знаний о биологическом действии хронического ионизирующего излучения на систему гемопозза будет способствовать поиску наиболее чувствительных индикаторов радиационных детерминированных эффектов и повышению надежности диагностических и прогностических критериев при разработке профилактических и лечебных мероприятий. С этих позиций исследование кинетики, дифференцировочного и пролиферативного потенциалов КОЕс костного мозга, селезенки и периферической крови в условиях хронического радиационного воздействия имеет фундаментальное значение в решении общебиологической проблемы адаптации биологических систем разного уровня организации к экстремальным факторам окружающей среды.

Авторы выражают благодарность директору Научно-практического центра радиационной медицины (г. Челябинск), доктору медицинских наук, профессору, заслуженному деятелю науки России А.В. Аклееву и сотрудникам центра – главному научному сотруднику, доктору биологических наук **В.Л. Шведову**, старшему научному сотруднику, доктору биологических наук Е.И. Толстых, старшему научному сотруднику, кандидату биологических наук Е.А. Пряхину, а также кандидату биологических наук, доценту кафедры биологии человека и медико-биологической подготовки ЧГПУ О.Г. Андреевой – за помощь в проведении экспериментальной части работы.



# **I. ХАРАКТЕРИСТИКА СТВОЛОВЫХ КРОВЕТВОРНЫХ КЛЕТОК ИНТАКТНЫХ И ОБЛУЧЕННЫХ ЖИВОТНЫХ**

## **1.1. Характеристика стволовых кроветворных клеток мышей в онтогенезе**

### ***1.1.1. Сравнительная характеристика КОЕс костного мозга, селезенки и периферической крови мышей***

Кроветворная ткань представляет собой клеточную самообновляющуюся систему, новообразование клеток в которой, направленное на пополнение убыли зрелых элементов с ограниченным жизненным циклом, происходит в организме млекопитающих на протяжении всей жизни и обеспечивается стволовыми кроветворными клетками (СКК). Основные признаки, характеризующие стволовые клетки, – это их способность к самоподдержанию, пролиферации и дифференцировке [93, 149, 150, 146]. Установлено существование единой полипотентной СКК, способной к дифференцировке по всем направлениям лимфо- и миелопоэза [20, 121].

Экспериментальные и теоретические данные о стволовом пуле системы клеточного обновления кроветворения обобщены в многочисленных работах [11, 22, 23, 52, 61, 70, 74, 90, 93, 98, 111, 113, 120, 125, 132, 140, 144, 146, 183, 204–206, 218, 224, 228, 232, 239–240, 245]. Однако до настоящего времени многие вопросы, связанные с этой уникальной клеточной популяцией, остаются остро дискуссионными. Об этом свидетельствует появление новых гипотез, которые резко противоречат некоторым сложившимся представлениям. Так, подвергается сомнению способность СКК к неограниченному самоподдержанию. По

общепринятым воззрениям эти клетки самоподдерживаются и являются бессмертными [120]. Имеющиеся экспериментальные данные [47, 46, 148] демонстрируют конечность пролиферативного потенциала СКК и подтверждают менее распространенную гипотезу клональной сукцессии [147]. Взамен схемы "ветвистой иерархии" гемопоэза, согласно которой дифференцировочный потенциал стволовых клеток ограничивается прогрессивно и стохастически [238], выдвигаются другие – модель упорядоченного коммитирования [184] и шунтового кроветворения [31, 113]. Данные о числе истинных стволовых клеток на сегодняшний день отсутствуют, абсолютное количество их маркеров – КОЕс – определено с довольно большой точностью. У взрослых мышей методом экзогенного колониеобразования стволовые гемопоэтические клетки были обнаружены в костном мозге, селезенке, периферической крови в соотношении приблизительно: 1; 0,1; 0,02 [64, 93, 221].

Общепринята гипотеза Moore и Metcalf (1970) о происхождении СКК из желточного мешка эмбриона [224]. По мере взросления и смены мест обитания СКК меняют свои свойства. При исследовании КОЕс костного мозга мышей линий СВА и (СВАхС57В1)F<sub>1</sub> установлено, что соотношение трех основных типов колоний (эритроидных, гранулоцитарных и мегакариоцитарных) не зависит от количества введенных клеток и составляет 5:2,5:1. Размеры колоний определяются типом дифференцировки клеток. Средний диаметр эритроидных, гранулоцитарных и мегакариоцитарных колоний составляет соответственно:  $0,86 \pm 0,03$ ;  $0,44 \pm 0,02$  и  $0,22 \pm 0,02$  мм. Размеры макроколоний имеют в среднем 0,85–0,95 мм в диаметре. Из них около 45% не превышают 1 мм [160].

Данные, полученные Б.В. Поповым и соавторами [107], свидетельствуют о том, что у интактных мышей циркулирующие в крови и селезеночные КОЕс не идентичны костномозговому по дифференцировочным потенциалам. Установлено, что КОЕс селезенки и периферической крови интактных мышей линии

СВА 11–13 недельного возраста отличаются от аутологичных костномозговых клеток низким уровнем роста гранулоцитарных колоний и увеличением вследствие этого отношения эритроидных колоний к гранулоцитарным (Э/Г) до 6,1–6,3 против 2,9 в костном мозге. У мышей линии СВА 18–22 недельного возраста КОЕс селезенки отличаются от костномозговых КОЕс по усиленному образованию эритроидных колоний, при этом отношение Э/Г для КОЕс селезенки составило 9,1–10,4 против 3,4–3,5 в костном мозге, что соответствует показателям у животных других возрастных групп. Изменение дифференцировочного потенциала КОЕс происходит, вероятно, при выходе из костного мозга в кровь, тогда как вход в селезенку не влияет на это свойство [26].

Стволовые кроветворные клетки, способные к развитию только эритроидной линии клеток, – наиболее поздние в иерархии родоначальных клеток крови. Они же, по существу, являются мигрирующими клетками [107, 136], обеспечивающими обмен стволовыми элементами между различными участками кроветворной системы в физиологическом равновесном состоянии [92, 99]. В то же время мигрирующие КОЕс могут играть критическую роль в регенерации кроветворной ткани, в развитии очагов эктопического кроветворения [15, 14, 21, 53, 68, 69, 79, 80, 99, 101, 138, 142, 165, 220]. Выход КОЕс в норме ограничен только малой частью популяции КОЕс костного мозга, которую можно рассматривать как составляющую быстро мобилизуемый пул, обменивающийся с находящимися в крови стволовыми элементами. По расчетам Vos O. et al. (1980), мобилизуемый пул должен составлять 1250 КОЕс, или около 0,3% общей костномозговой популяции КОЕс, которая достигает примерно  $4 \times 10^5$  клеток; чистый выход КОЕс из костного мозга – 90 КОЕс/ч. Предполагается, что быстрая мобилизация КОЕс, выявляемая по возрастанию их числа в периферической крови, неспецифична, а отбор КОЕс для миграции в основном носит случайный характер [92].

Гистологическое изучение развития эндогенных колоний селезенки мышей линии C57Bl/6 при радиационных воздействиях позволило [134] заключить, что наряду с "пришлыми" стволовыми клетками определенная роль в колониеобразовании принадлежит ретикулярной основе лимфоидной ткани органа. На возможность наличия в селезенке мышей собственной (автономной) популяции КОЕс указывается и в работе Г.В. Харловой [143].

Изменение свойств КОЕс определяется, очевидно, индуктивным воздействием различного кроветворного микроокружения (желточный мешок, эмбриональная печень, селезенка, костный мозг) [224]. Вместе с тем, находясь в пределах одного органа, популяция СКК может менять свои свойства [149, 207, 211, 212, 230]. Следовательно, изменение по крайней мере некоторых характеристик стволовых клеток является внутренним свойством, обусловленным их способностью к определению своего возраста (или числа проделанных делений) [149]. В настоящее время установлено, что отдел КОЕс гетерогенен и представлен более зрелыми предшественниками, образующими колонии в селезенке облученных мышей на 7–9-е сутки ("ранние" колонии), и мультилинейным субклассом, образующим колонии на 11–14-е сутки ("поздние" колонии). "Поздние" колонии рассматривают как смесь клонов, сформированных клетками предшественниками с различным пролиферативным потенциалом (поли- и унипотентными), а "ранние" – как результат пролиферации в основном наиболее примитивных клеток. Предполагают, что 11–14-суточные КОЕс занимают в гистогенетическом ряду стволовых кроветворных клеток более высокое положение, чем 7–9-суточные КОЕс, т.е. являются их предшественниками [209, 213].

Субпопуляции КОЕс различаются не только по времени образования макроскопически видимых колоний, но и по ряду других характеристик. Одно из различий связано с характером развития морфологических типов колоний. Так, 8-суточные КОЕс костного мозга мышей линии (C57Bl/6хCBA)F<sub>1</sub> дифференци-



руются преимущественно в эритроидном направлении, а мультилинейные 11-суточные КОЕс представлены эритроидными и смешанными колониями примерно в равном соотношении [129]. КОЕс как из взрослых, так и эмбриональных тканей, образующие "ранние" и "поздние" селезеночные колонии, различаются по пролиферативному потенциалу, способности к самоподдержанию, ответу на циклоспецифические агенты, местоположению в клеточном цикле, а также радиочувствительности [32, 127–129].

### ***1.1.2. Количественно-качественные изменения в стволовом пуле кроветворных клеток мышей на разных этапах онтогенеза***

Исследованию закономерностей изменения показателей системы крови млекопитающих разного возраста посвящен ряд работ [10, 58, 114, 139, 173, 176]. Установлено, что характерные возрастные изменения в периферической крови и костном мозге млекопитающих происходят от момента рождения до полового созревания [126], после чего устанавливаются стабильные величины исследуемых параметров системы крови [145]. Зависимость состояния гемопоэза от возраста животного прослеживается и у мышей, однако возрастная динамика количества и функциональных свойств СКК и ранних предшественников в литературе отражена недостаточно.

Выявлено различное содержание КОЕс в одной и той же кроветворной ткани у новорожденных и взрослых мышей. Так, в костном мозге новорожденной мыши содержится 280 КОЕс, а у взрослой – 44400, в селезенке соответственно 660 и 7000, в печени – 2650 и 25, в периферической крови – 80 и 20 [218].

Согласно экспериментальным данным, полученным при макроучете селезеночных колоний, общее содержание КОЕс в костном мозге бедренной кости мышей линии СВА увеличивается в 1,6 раза у старых животных (24–28 мес.) по сравнению с молодыми (2–3 мес.). Этот прирост происходит несмотря на существенное снижение концентрации КОЕс у старых мышей,

которое компенсируется за счет возрастания общего числа ядродержащих клеток костного мозга [39, 119]. Максимальное число СКК в селезенке мышей линий СВА и С57В1 обнаруживается в возрасте до 10 суток. В дальнейшем, по мере созревания и старения организма, происходит постепенное снижение относительного числа стволовых клеток, что сопровождается увеличением относительного числа антитеклообразующих клеток (АОК) на фоне быстрого нарастания общего числа ядродержащих клеток в селезенке мышей обеих линий [98, 229]. Используя методику эндогенного колониеобразования, Р.В. Петров и соавторы [101] показали снижение с возрастом способности КОЕс мигрировать из костного мозга в селезенку облученных животных.

При микроучете селезеночных колоний выявлено, что в костном мозге и периферической крови мышей (СВАхС57В1) $F_1$  с возрастом меняется не только концентрация КОЕс, но и их способность дифференцироваться в клетки того или иного ростка кроветворения. На фоне двукратного снижения концентрации КОЕс у старых животных (26 мес.) происходит уменьшение количества практически всех гистологических типов колоний с максимальным угнетением гранулоцитарного ростка – число колоний сокращается в 7 раз. Отличительной особенностью КОЕс костного мозга является усиление мегакариоцитарных потенций [98].

В работе Л.Ф. Андриановой [9] наиболее детально исследовано состояние пула СКК костного мозга молодых (3–4 мес.) и старых (24 мес.) мышей линии СВА методом экзогенного колониеобразования в селезенке летально облученных животных. При микроскопическом определении селезеночных колоний было показано, что общее их число после введения костного мозга старых мышей такое же, как после введения костного мозга молодых животных, однако средний объем одной колонии был меньше.

Наиболее существенные различия обнаружены в эритроидных колониях. С возрастом их число достоверно снижалось, несколько уменьшались общий объем всех колоний и средний объем одной колонии. Результаты исследования параметров гранулоцитарных колоний после введения костного мозга старых животных мало отличаются от таковых после введения костного мозга молодых. В связи с этим отношение числа эритроидных колоний к гранулоцитарным колониям (Э/Г) было достоверно меньше, чем после введения костного мозга молодых животных. Число мегакариоцитарных колоний и число клеток в них с возрастом проявляли тенденцию к нарастанию. Смешанные колонии у летально облученных мышей после введения им костного мозга молодых и старых животных незначительно отличались своим числом, но объем их с возрастом достоверно уменьшался [9].

Данные исследований, проведенных [9, 98, 119] свидетельствуют о том, что изменений общего содержания СКК костного мозга у мышей с возрастом не происходит. Наиболее значимые сдвиги касаются объема колоний, в большей или меньшей мере снижался объем всех видов колоний, кроме мегакариоцитарных. Очевидно, это явление отражает изменения пролиферативного потенциала СКК костного мозга у старых животных. Оно может быть связано либо с замедлением клеточного цикла [236], либо с блокадой его [49, 192], либо с асимметричным делением клеток при дифференцировке [184]. В таком случае возможно неравномерное развитие различных типов колоний или даже конкурентные отношения между ними. Наиболее чувствительным к старению оказался эритроидный росток кроветворения – у старых мышей наблюдалось снижение всех изучаемых показателей эритропоэза, что позволяет рассматривать уменьшение числа эритроидных колоний как функцию возраста [198]. Число гранулоцитарных колоний с возрастом либо не претерпевает значительных изменений, хотя их объем, как эритроидных и смешанных, несколько

уменьшается [9], либо значительно снижается в поздний период онтогенеза [98, 141].

Количество мегакариоцитарных колоний, в отличие от других типов, имеет тенденцию увеличиваться с возрастом, нарастает и число клеток, составляющих эти колонии. Это связывают с повышенной склонностью к тромбообразованию в старческом возрасте. Наряду с этим описана так называемая "сенильная пурпура", отражающая склонность организмов стариков к кровотечениям. Поэтому анализ мегакариоцитарного ростка гемопоэза имеет существенное значение для оценки его роли в развитии патологических процессов в старости. Данные об изменении числа тромбоцитов с возрастом практически отсутствуют, изменения тромбообразования скорее обусловлены качественными сдвигами: снижением тромбопластической активности, повышением агрегационной способности и реакцией на адреналин, сниженной чувствительностью к простаглицлину [77, 104]. Эти факты являются доказательством того, что в системе гемоиммунопоэза в старческом возрасте гомеостаз достигается накоплением клеток, качественно измененных, в том числе таких, которые подлежат удалению. Это, в свою очередь, может быть следствием недостаточной функции иммунной системы. Таким образом, возрастные особенности пролиферативного и дифференцировочного потенциалов СКК могут, очевидно, формироваться как на уровне ранних предшественников СКК, так и во время дальнейшей дифференцировки под влиянием факторов внутренней среды организма [9].

Наряду с изменением количества и функциональной активности гемопоэтических клеток с возрастом существенно меняется состояние гемопоэзиндуцирующего окружения. Возможно, что именно клетки стромы выступают как индукторы и определяют выбор стволовых элементов, направляющихся в дифференцировку [23, 31, 150, 215]. По мере старения у мышей увеличивается способность стимулировать рост имплантированных им очагов эктопического кроветворения, продуцируемых

костным мозгом стандартных доноров. Впервые такая стимуляция обнаруживалась у мышей в возрасте одного года, и в возрасте двух лет размер очагов у старых реципиентов превышает таковой у молодых взрослых мышей почти в 3 раза. Вероятно, у старых животных весьма выражено состояние запроса на кроветворное микроокружение [150].

**Резюме.** Таким образом, критериями оценки состояния СКК в старости принято считать их число, баланс клеточных популяций, способность к восстановлению поврежденных функций. С использованием этих критериев установлены параметры СКК, резистентные к старению: общее число СКК в костном мозге мышей, способность дифференцироваться в клетки крови и системы иммунитета, способность к самообновлению [195]. Чувствительной к старению оказалась способность к репарации ДНК после радиационного повреждения [185]. Накоплены противоречивые результаты, касающиеся способности СКК к клональной экспансии *in vivo* и генерации потомков *in vitro*, способности мигрировать в тимус облученного реципиента, отвечать на тимические факторы и др. [214]. Получены неоднозначные результаты и при исследовании в старости способности СКК к пролиферации, нет четких данных о балансе клеточных популяций при дифференцировке.

Ранние этапы дифференцировки СКК могут быть критическим моментом для дальнейшего развития каждого из ростков кроветворения и иммунитета. Исходя из этого, важно изучить возрастные изменения количества и функциональных свойств СКК и ранних предшественников как в норме, так и при возмущающих гемопозз воздействиях. Применение адекватных возмущающих воздействий способствует выявлению не только действующих в обычных условиях, но и резервных механизмов регуляции дифференцировки СКК [9].

## **1.2. Состояние стволового пула системы клеточного обновления кроветворения при радиационном воздействии**

### ***1.2.1. Радиочувствительность стволовых кроветворных клеток***

Наиболее радиочувствительными клетками в системе клеточного обновления кроветворения являются КОЕс [51, 64, 65, 93, 182, 181]. Величина средней клеточной летальной дозы ( $D_0$ ), характеризующая радиочувствительность, существенно не различается у разных видов млекопитающих, у половозрелых животных разного возраста, у СКК, содержащихся в костном мозге, селезенке и периферической крови [30, 64, 65, 93, 133, 143, 237]. Так,  $D_0$  для КОЕс костного мозга и селезенки составляет 0,95 и 0,9 Гр соответственно [233, 237].

Однако ряд авторов [106, 158, 162, 163] показали, что популяция стволовых клеток из костного мозга мышей гетерогенна по радиочувствительности и состоит из двух фракций. По мнению В.Н. Швеца и А.В. Шафиркина [163], одна из них представлена плюрипотентными СКК со значением  $D_0$  равным 1,8 Гр; другая – первично коммитированными полустволовыми клетками с  $D_0$  равным 0,9 Гр. Объяснение данному факту связывают с нахождением популяции клеток в различных фазах клеточного цикла. Однако в настоящее время считается, что гетерогенный характер КОЕ по радиочувствительности обусловлен не столько нахождением клеток в митотическом цикле или покое, сколько структурой компартмента КОЕс [163].

Установлено [213], что КОЕс представляет собой гетерогенный класс клеток, продуцирующих ранние (7-суточные КОЕс) и поздние (12-суточные КОЕс) колонии в селезенке облученных реципиентов. Предполагается, что 12-суточные КОЕс занимают в гистогенетическом ряду СКК более высокое положение, чем 7-суточные КОЕс. Эти две субпопуляции КОЕс различаются по времени образования макроскопических колоний, по способности к самоподдержанию, ответу на циклоспецифические агенты,

составу гистологических типов колоний и по способности к репарации сублетальных радиационных повреждений [32, 127]. Выявлено, что независимо от источника кроветворных клеток (эмбрионального или взрослого организма) 11-суточные КОЕс обладают существенно сниженной способностью к восстановлению сублетальных радиационных повреждений. Механизмы репарации этих повреждений формируются в эмбриогенезе, достигая полного развития в постнатальном периоде. При этом их активность неодинакова в клетках, находящихся на разных уровнях иерархии кроветворных предшественников, т.е. проявляется лишь по достижении ранними предшественниками определенного уровня клеточной дифференцировки.

В пользу различной радиочувствительности ССК, формирующих “ранние” и “поздние” колонии, свидетельствуют данные Манько В.М. и соавторов [75]. Установлено, что в более поздние сроки учета (13–15-е сут.) селезенка летально облученных мышей (8–9 Гр) содержит значительное количество колоний эндогенного происхождения, не выявляемых на 7–8-е сутки. Эндогенные селезеночные очаги кроветворения “позднего” типа характеризовались преимущественно ростом гранулоцитарных колоний, что может свидетельствовать о различной чувствительности к действию одних и тех же доз радиации клеток предшественников, формирующих “ранние” (7–8 сут.) и “поздние” (13–15-е сут.) колонии.

Действительно, увеличение радиочувствительности СКК в зависимости от уровня дифференцированности выявляется у мышей, облученных X-лучами с мощностью 200 KV,  $D_0$  для КОЕк составила 1,6 Гр, для КОЕсмеш. – 1,4 Гр и для КОЕс – 0,8 Гр [199]. Показано, что при X-облучении *in vitro* отмечается меньшее  $D_0$  для 7-суточных КОЕс (0,75 Гр), чем для 12-суточных КОЕс (0,94 Гр) и пре-КОЕс (1,18 Гр) [178]. Однако данные А.Н. Тришкиной и А.Г. Конопляникова [133] свидетельствуют о том, что КОЕс, различающиеся по степени своей зрелости, характеризуются близкими показателями радиочувствительности

при однократном относительно кратковременном  $\gamma$ -облучении *in vitro*. Величина  $D_0$ , по данным микроучета, составляют для 8-суточных КОЕс и 12-суточных КОЕс 0,99 и 1,16 Гр соответственно.

При высоких интенсивностях реакция КОЕс на радиационное облучение описывается дозовой кривой выживаемости. Она справедлива при облучении в ежедневных дозах выше 10–20 Гр [152]. Обобщенная картина действия однократного общего облучения на КОЕс в сублетальной дозе представлена в работе [64]. Основой патологии системы крови при однократном облучении в малых ("доклинических") дозах следует считать повреждение плюрипотентных гемопоэтических клеток, являющихся "детерминантами" выживаемости организма [63–65]. По-видимому, на фоне этих нарушений развивается нестабильность пролиферации в отдельных ростках кроветворения, что в свою очередь ведет к его функциональной неполноценности [50, 64].

При пролонгированном облучении в равноэффективных дозах установлено ослабление поражающего действия радиации. В основе этого явления лежат либо репопуляция клеток критических тканей в процессе облучения (то есть регенерация), либо процесс молекулярной репарации [16, 37, 39, 86, 111, 123, 151, 159].

### ***1.2.2. Закономерности реакции стволовых кроветворных клеток на хроническое внешнее $\gamma$ -облучение***

Состояние стволового пула системы кроветворения при хроническом  $\gamma$ -облучении отражено в ряде экспериментальных работ [8, 16, 17, 39, 52, 57, 85, 86, 88, 168, 167, 170, 171, 186, 203, 231, 246] и биоматематических моделях [42, 78, 94, 136, 137, 242, 243]. Отмечаются цикличность процессов угнетения и восстановления кроветворения, сочетание процессов лучевого повреждения и регенерации, кумуляция повреждающего действия радиации [55, 56]. Количественные изменения в костномозговом пуле СКК в ходе хронического лучевого воздействия протекают, как



правило, в три периода и имеют определенное сходство с реакцией системы крови, развивающейся в ответ на многократное воздействие других стрессоров [39, 50]. В первые несколько дней число КОЕс уменьшается (фаза опустошения), потом незначительно колеблется, достигая нового равновесного состояния (фаза плато), совместимого с жизнью животного. Крутизна снижения числа КОЕс и уровень устойчивого состояния дозозависимы. "Лимитирующая" доза, выше которой система гемопозеза разрушается, составляет 0,71 Гр/сут. в биоматематической модели и 0,6–1 Гр/сут. в эксперименте [243]. Время установления нового равновесного состояния и процент гибнущих клеток уменьшается с падением ежедневной дозы облучения. При продолжающемся облучении наступает фаза неуклонного падения численности КОЕс, скорость которого также обусловлена интенсивностью воздействия. При этом данные разных авторов относительно времени и дозы, при которой устанавливается фаза "плато" и наступает повторное опустошение пула КОЕс, существенно различаются [136] (табл. 1).

Изменения, наступающие в КОЕс при лучевом воздействии, обуславливаются в основном прямым воздействием поражающего фактора на их внутриклеточные структуры [93]. Первичное снижение числа КОЕс при радиационном воздействии может происходить по ряду причин, к которым относят гибель наиболее радиочувствительных клеточных элементов, задержку деления, снижение пролиферативной активности и усиление миграции СКК. Интенсивность и последовательность появления каждого из указанных весьма различных по механизму изменений зависит от мощности и, особенно, от суммарной поглощенной дозы. Данные литературы [30] позволяют констатировать, что факт сокращения объема стволового пула может быть прослежен во всей цепи субпопуляций клоногенных предшественников, определяемых в опытах *in vivo*: 12-суточные преэкзоКОЕс (самый вероятный субстрат выживаемости летально облученных реципиентов), 12-суточные экзо-КОЕс, 8-суточные

экзо-КОЕс, эндо-КОЕс. Задержка деления обнаруживается сразу после облучения, и максимум ее может быть равен длительности клеточного цикла.

Таблица 1

**Характеристика кинетики количества КОЕс и кариоцитов костного мозга мышей при хроническом облучении**  
(по В.Г. Тяжеловой [136])

Ежедневная доза, Гр	Характеристика плато				Количество кариоцитов, <i>отн. ед.</i>	Литературный источник
	Время установления, сут.	Доза, Гр	Уровень, <i>отн. ед.</i>	Длительность, сут.		
0,01	10	0,1	0,91	На протяжении жизни	1	Прасличка, Калина, 1976
0,012	---	---	---	»	0,95	Gidali et al., 1979
0,014	---	---	---	»	0,95	»
0,025	6	0,15	0,75	»	0,66	»
0,030	30	0,9	0,72	»	---	Прасличка, Калина, 1976
0,06	60	3,6	0,60	»	0,80	Прасличка, Калина, 1976
0,06	---	---	0,25	»	---	Муксинова, 1984а
0,10	30	3	0,48	---	0,55	Прасличка, Калина, 1976
0,10	15	15	0,3	600	---	Федотова, Белоусова, 1980
0,125	---	---	0,15	---	---	Муксинова, 1984а
0,25	30	7,5	0,3	---	0,55	Калина, Прасличка, 1977
0,25	---	---	0,08	---	0,70	Муксинова, 1976; 1984а
0,5	40	20	0,12	130	0,45	Калина, Прасличка, 1977
0,5	---	---	0,02–0,05	---	---	Муксинова, 1976; 1984а
0,5	---	---	0,36	---	0,60	Нейман, Горлов, 1981
0,7	5	4,9	0,015	50	---	Wu Chu Tse, Laitha, 1975; Wu Chu Tse et al., 1983
1	---	---	---	18	0,3	Нейман, Горлов, 1981
1	20	20	0,04	18	---	Шафиркин, 1983
3	1	27	0,2–0,1	9	0,2–0,1	Нейман, Горлов, 1981
3	6,6	20	0,05	10	---	Шафиркин, 1983
6	3,3	20	0,03	10	---	»
10	2	20	0,03	6	---	»

Широко распространенный феномен приостановки клеточного деления в пролиферирующих тканях относится к общей реакции биологических систем в ответ на повреждение [48]. Происходит временное ингибирование многих функций, не необходимых для репарации повреждений, и отдаление во времени переходов в другие функциональные состояния, когда эти невосстановленные повреждения могут проявляться неблагоприятным для биологических систем эффектом [4, 5, 82, 84, 93].

Предполагают, что опустошение пула КОЕс в первые сутки радиационного воздействия обусловлено не только торможением пролиферации и гибелью клеток, но и усиленной их дифференцировкой с целью пополнения пула погибающих более дифференцированных клеток. Косвенным подтверждением этого является относительно меньшее, по сравнению с КОЕс, снижение при лучевом воздействии количества коммитированных стволовых клеток [52, 64, 86, 243]. Целесообразность данной компенсаторной реакции относительна. С одной стороны, она обеспечивает пополнение пула более дифференцированных клеток, а с другой – усиливает истощение пула СКК, и без того выраженное при радиационном воздействии. "Истощение" указанного компенсаторного механизма возможно при достижении суммарных поглощенных доз порядка 10 Гр, когда пролиферативный пул должен достичь 100%. Таким образом, индуцированная ионизирующей радиацией клеточная дифференцировка может означать настоящую клеточную гибель для стволовых элементов кроветворной системы клеточного обновления. Однако костный мозг обладает особым "защитным механизмом", предотвращающим саму возможность "истощения" как при облучении, так и при других воздействиях на систему крови. Несомненное наличие критического порогового уровня "запрета на дифференцировку" СКК предотвращает самоубийственный для кроветворной СКО переход относительно небольшой популяции СК к дифференцировке с потерей последних, выживших после облучения стволовых элементов.

Критический уровень "запрета на дифференцировку" для человека составляет 0,2–0,9% от нормы [122], что существенно меньше экспериментальной оценки для мышей – 6–10% [64, 180, 243]. Время наступления стадии "запрета на дифференцировку" при докритических дозах (до 6,4–8,8 Гр), не приводящих к критическому уровню численности СКК, линейно уменьшается с дозой, а ее продолжительность от дозы практически не зависит и составляет для человека в среднем 10 (6–16) суток [122].

Определенный вклад в потерю СКК в костном мозге на начальных этапах хронического радиационного воздействия вносит миграция. Экспериментальные данные [68, 165, 205] указывают на усиление миграции КОЕс из костного мозга, т.е. на возможность перераспределения стволовых клеток по кроветворным территориям с целью расширения плацдарма кроветворения.

Наличие фазы плато (устойчивого равновесия) связывают с реализацией двух факторов: относительным снижением вероятности дифференцировки стволовых клеток и повышением скорости их амплификации. Индуцированная ионизирующей радиацией первоначальная задержка клеточного деления и соответствующее удлинение митотического цикла, способствующего дифференцировке, в дальнейшем сменяются его сокращением до 15–32 ч [4, 5, 52, 55]. Сокращение генерационного времени происходило в основном за счет стадии  $G_1$ . Именно укорочение или удлинение стадии  $G_1$  в митотическом цикле СКК сопровождается пролиферацией или дифференцировкой соответственно [4]. Не меньшее значение имеет и другая компенсаторная реакция – увеличение пролиферативного пула СКК. Наличие "дремлющих", находящихся вне фазы синтеза ДНК клеточных форм считается сейчас общей закономерностью всех стадий дифференцировки клеток крови; доля таких клеток на уровне СКК составляет не менее 90% [146]. Увеличение пролиферативного пула КОЕс (до 50%) является наиболее ранним и чувствительным показателем лучевого воздействия в малых дозах и позволяет организму поддерживать на нормальном

уровне как число самих КОЕс, так и показатели периферической крови в течение длительного времени [39, 52, 86, 193].

Существует возможность компенсации лучевого поражения за счет отбора клеточных клонов с повышенной радиорезистентностью в процессе пролонгированного облучения, отсутствовавших при кратковременном радиационном воздействии [16, 39, 56, 55, 162]. В опытах по хроническому  $\gamma$ -облучению мышей линии (СВАхС57В1)F<sub>1</sub> с мощностью дозы 0,1 и 0,5 Гр/сут двукратное увеличение радиорезистентности КОЕс костного мозга отмечено при суммарных дозах 15–25 Гр. При накоплении поглощенной дозы порядка 45 Гр радиочувствительность КОЕс соответствовала уровню контроля. По мнению О.И. Белоусовой, П.Д. Горизонтова и М.И. Федотовой [16, 39], в основе этого явления могут быть различные причины. Одна из них, вероятно, связана с тем, что за довольно длительный период облучения более радиочувствительные клетки кроветворных органов погибают, а оставшиеся, более резистентные, поддерживают на том или ином уровне сохранность популяции СКК. Возможность такого предположения основывается на установленном экспериментально наличии в составе каждой клеточной популяции в костном мозге и лимфоидных органах (тимус, селезенка) какого-то процента клеток, которые сохраняются после однократного общего облучения животных в дозах 10 Гр и выше [17, 39]. Не исключена и возможность развития в клетках компенсаторно-приспособительных механизмов, направленных на увеличение их репарационной способности. Эту точку зрения подтверждают экспериментальные данные, полученные Кожановской Я.К. и соавторами [62]. В целом, повышение резистентности КОЕс не следует рассматривать только как клеточную адаптацию. По-видимому, в ее основе лежат общие механизмы адаптации, которые реализуются при участии многих биологических систем, имеющих интегральное значение. Сюда в первую очередь относятся: ЦНС, симпато-адреналовая и гипоталамо-гипофизарная системы [17, 38].

Изучение свойств родоначальных гемопоэтических клеток в поздние сроки хронического радиационного воздействия, когда фаза стабилизации может смениться срывом компенсаторно-приспособительных механизмов, позволяет выявить целый ряд остаточных дефектов. Истощение стволового кроветворного пула у животных в ходе хронического радиационного воздействия определяется не только прямым летальным действием ионизирующей радиации на первичные СКК, как наиболее радиочувствительные элементы кроветворной системы клеточного обновления, но и длительным усилением пролиферативной активности, вызванным пониженной эффективностью гемопоэза [30, 83]. Такая стимуляция вызывает не только вовлечение в делящийся пул новых, ранее покоящихся клеток, но и ускорение самого ритма прохождения клетками митотического цикла [4]. Сокращение митотического цикла, происходящее за счет укорочения периодов интерфазы и продолжающееся во многих поколениях клеток, влечет за собой целый комплекс изменений, характеризующийся определенной редукцией метаболизма [4]. Скорость пролиферации – важная детерминанта ответа во времени на облучение, поэтому быстро пролиферирующие клеточные популяции раньше достигают пика повреждения [83].

В эксперименте с подострым однократным облучением [29] выявлено, что средний размер колоний, образуемых 8- и 12-суточными экзо-КОЕс мышей, достоверно уменьшен в 1,2–1,3 раза по сравнению с контролем, и что это уменьшение не связано с перераспределением колоний по гистологическим типам, т.к. их соотношение остается постоянным на протяжении всей жизни облученных животных. Выделяют, как минимум, два эффекта лучевого воздействия на СКК. Один заключается в снижении способности пула СКК образовывать колонии, а другой – в снижении потенции к делению при образовании колоний (из-за удлинения периода клеточного удвоения). Показано, что в отличие от контроля при использовании облученных доноров обнаруживается "+" корреляция между указанными параметрами:

$r = +0,98 \pm 0,14$  ( $p \leq 0,01$ ). Это позволяет сделать вывод о том, что уменьшение размеров колоний определяется генетическими повреждениями, персистирующими в продуцирующих эти клоны СКК. Уменьшение массы гемопоэтической ткани колоний в ходе лучевого воздействия может быть обусловлено удлинением клеточного цикла КОЕс или/и увеличением времени, необходимого для дифференцировки [30].

В условиях уменьшенного общего числа стволовых клеток гемопоэтическая система сохраняет возможность обеспечивать самоподдержание клеток в течение длительного времени облучения [21, 22, 121, 183, 231, 232]. Согласно гипотезе "гемопоэтических ниш" [121], свободные ниши заполняются любыми СКК, в том числе и более поздних возрастов, а значит, с уменьшенной возможностью воспроизведения клеток. Известно, что СКК различного типа могут производить от  $10^{15}$  до 8–50 клеток [59]. Клетки поздних генераций пролиферируют с генерационным циклом меньшей длительности. Это приводит к более быстрому восстановлению численности пула стволовых клеток, но впоследствии в этих нишах в качестве стволовых клеток будут воспроизводиться клетки более поздних генераций и никогда не заменятся на истинно полипотентные стволовые клетки. Тем самым сокращается пролиферативный потенциал костного мозга [136].

Таким образом, наличие стадийности изменений (стадии мобилизации, резистентности и истощения), развивающихся в стволовом кроветворном пуле костного мозга в процессе хронического  $\gamma$ -облучения с мощностями доз от 3 до 50 сГр/сут, позволяет сделать вывод о том, что и при таком специфическом раздражителе, как ионизирующая радиация характер реакции СКК подчиняется общим закономерностям, свойственным любому продолжительно действующему раздражителю. Частные же проявления (наличие всех стадий, продолжительность и выраженность изменений) имеют значительные различия, обусловленные параметрами лучевого воздействия (дозой и

длительностью), и различной радиочувствительностью, как линий мышей, так и самих стволовых элементов в зависимости от их компарментализации и "возрастной" структуры [39].

Углубить исследования селезеночных колоний позволило применение гистологических методов, определение клеточных типов колоний, их размеров, локализации, скорости роста, а также соотношения колоний различных линий гемопозитической дифференцировки в норме и при возмущающих воздействиях. Наиболее полно критерии гистологического анализа колоний изложены в работах J. L. Curry et. al [187, 188]. Микроскопический способ позволяет регистрировать клетки, формирующие колонии во всем объеме селезенки. По мнению В.Н. Шведа с соавторами [160], этому методу, несмотря на его трудоемкость, должна принадлежать ведущая роль при изучении факторов, влияющих на выбор направления дифференцировки стволовых кроветворных клеток.

Модифицирующее влияние радиации на колониюобразующую способность клеток проявляется в том, что соотношение между числом эритроидных, гранулоцитарных и мегакариоцитарных образований при трансплантации облученных клеток изменяется: 2,5:1,2:1, а средний диаметр колоний уменьшается. Он равняется для эритроидных и гранулоцитарных формирований соответственно 0,63–0,74 и 0,28–0,36 мм. Следует отметить, что по мере повышения дозы облучения уменьшаются размеры колоний, определяемые макроскопически, так, диаметр 50–90% колоний укладывается в пределы 0,25–1 мм [160].

Наименьшие изменения претерпевают мегакариоцитарные колонии. Размеры последних, развившихся из облученных предшественников, почти не уменьшаются, а общее количество сокращается в меньшей пропорции по сравнению с эритроидными и гранулоцитарными колониями. Несмотря на то, что число мегакариоцитарных колоний сохраняется примерно в 2 раза больше по сравнению с эритроидными и гранулоцитарными образованиями, количество трех основных типов колоний



экспоненциально зависит от дозы облучения трансплантированных клеток. Существенно, что экспоненциальный характер зависимости выявляется при расчетах, основанных на показателях как макро- так и микро-учета селезеночных колоний. При оценке радиочувствительности клеток-предшественников эритроидных и гранулоцитарных колоний установлено, что величина  $D_0$  оказалась близкой, тогда как клетки-предшественники мегакариоцитов являются несколько более радиорезистентными [158, 160, 161].

Данные о способности СКК к дифференцировке при разных мощностях дозы облучения представлены в работе В.Н. Швец [161]. Кратковременное облучение мышей приводит не только к уменьшению количества КОЕс, но в свою очередь влияет на скорость их дифференцировки, которая характеризуется более ранним восстановлением эритропоеза и последующим восстановлением гранулоцитопоеза. Модифицирующее влияние кратковременного воздействия радиации в сублетальных дозах (1–6 Гр) на способность КОЕс к дифференцировке проявляется также в относительном увеличении численности мегакариоцитарных колоний. Оказалось, что при облучении с большей мощностью дозы КОЕс сохраняют способность к дифференцировке в клетки мегакариоцитарного типа намного лучше, чем в клетки эритроидного или гранулоцитарного ряда. При исследовании характера дифференцировки КОЕс костного мозга мышей, облученных в суммарной дозе 6 Гр с разной мощностью дозы (время облучения мышей составляло от 2 мин до 240 суток) выявлены следующие закономерности. Кратковременное облучение сопровождалось лишь тенденцией к снижению эритропоэтических потенциалов КОЕс, тогда как пролонгированное воздействие радиации приводило к достоверному уменьшению этих потенциалов. Кратковременное и пролонгированное облучение отличалось только в отношении их влияния на эритроидный росток, в то время как оба типа радиационного воздействия оказывали

одинаковый эффект на клетки-предшественники тромбопоэза, усиливая их потенции к образованию колоний мегакариоцитов. Однако следует иметь ввиду, что нарушение дифференцировки КОЕс под влиянием кратковременного и пролонгированного воздействия радиации происходило только в популяции стволовых клеток, которые оседали в селезенке реципиентов. Стволовые клетки, оседающие в костном мозге, не изменяли характера дифференцировки независимо от величины мощности дозы облучения.

Снижение способности стволовых клеток формировать эритроидные колонии в селезенке реципиентов под влиянием радиации согласуется с положением о большей радиочувствительности клеток-предшественников эритропоэза, чем гранулопоэза. Одним из возможных механизмов, приводящих к высокой радиочувствительности клеток-предшественников эритропоэза, является увеличение генерационного цикла у части выживших клеток. В результате развитие эритроидных колоний в селезенке значительно запаздывает по сравнению с колониями гранулоцитарного типа. Усиление тромбопоэтических потенций стволовых клеток под влиянием кратковременного и пролонгированного воздействия радиации, вероятно, связано с высокой радиорезистентностью клеток-предшественников мегакариоцитов. Угнетение эритропоэза и усиление тромбоцитопоэза могут быть проявлением и иных механизмов, не связанных с непосредственным действием радиации на пул стволовых клеток. Авторы не исключают, что те или иные потенции стволовых клеток к дифференцировке реализуются под влиянием организма реципиента. В данном случае предполагается, что в селезенке реципиента имеется специфический механизм, который ориентирует дифференцировку СКК преимущественно в направлении тромбоцитопоэза. Этот механизм возникает только при определенной ситуации: при взаимодействии облученных клеток донора с тканью селезенки облученного хозяина. Такой механизм отсутствует в костном мозге и в случае контакта стволовых

клеток интактных доноров с тканью селезенки облученного реципиента [161].

По результатам исследования, изменения характера дифференцировки СКК под влиянием мощности дозы облучения можно выдвинуть два объяснения. По первому из них клетки-предшественники трех основных типов кроветворения обладают разной радиочувствительностью. В то же время облучение может оказывать прямое влияние на вероятность выбора СКК пути дифференцировки, в результате чего нарушается пропорциональное распределение выхода СКК в пул коммитированных клеток эритроидного и тромбоцитарного ряда. По второму из них между облученными тканями донора и хозяина возникают специфические взаимоотношения, отличные от таковых для необлученных тканей – усиление тромбоцитопоэза, угнетение эритропоэза [161].

Оценка состояния КОЕс различных отделов кроветворения – костного мозга, селезенки и периферической крови при хроническом внешнем облучении приведена в единичных работах [8, 85, 86, 168, 170, 171]. При облучении мышей линии СВА с мощностью дозы 0,125–0,5 Гр/сут до суммарных доз порядка 25 Гр изменения в популяции КОЕс костного мозга и селезенки развивались аналогично. При снижении мощности дозы радиационного воздействия (0,01–0,06 Гр/сут) были обнаружены заметные отличия в динамике числа КОЕс в костном мозге и селезенке. Выявленные различия относятся ко времени наступления и глубине депопуляции КОЕс, к продолжительности временного повышения их числа и к срокам усиления пролиферативной активности клеток. Так, у мышей, облученных с мощностью дозы 0,01 Гр/сут, уменьшение числа КОЕс было отмечено лишь через 14 недель от начала облучения (суммарная доза 0,9 Гр); затем содержание их повышалось, но до конца опыта (суммарная доза 2 Гр) не достигало значений одновозрастного контроля, в отличие от костного мозга, где не было обнаружено стойких отклонений в содержании СКК. По

мнению К.Н. Муксиновой и Г.С. Мушкачевой [86], эти отличия не могли быть обусловлены различной радиочувствительностью, поскольку по данным Gusman, Lajtha (1970) и Metcalf, Moore (1971), значения  $D_0$  для КОЕс костного мозга и селезенки практически не отличаются. Скорее всего, различия определяются возрастным составом КОЕс исследуемых кроветворных органов. Если в костном мозге преобладают полипотентные КОЕс с большим пролиферативным потенциалом, то в селезенке находятся более зрелые КОЕс с заметно сниженной способностью к самоподдержанию [150]. Популяция КОЕс селезенки поддерживается рециркулирующим пулом КОЕс, с которым постоянно обменивается и за счет которого пополняется. Поэтому при уменьшении количества мигрирующих КОЕс при облучении происходит, очевидно, углубление вызванного лучевым повреждением сокращение популяции КОЕс селезенки [86].

По мнению О.Г. Андреевой [8], состояние стволовой популяции в селезенке зависит не только от мощности дозы и суммарной дозы облучения, но и от степени поражения системы гемопоэза в целом. Несомненно наличие порогов поражения системы гемопоэза в целом, стимулирующих увеличение стволовой популяции в селезенке. Активация кроветворения в селезенке происходит только после сокращения числа КОЕс костного мозга в 10 раз и более. Неодинаковая чувствительность КОЕс костного мозга и селезенки к депопуляции показана Муксиновой К.Н. (1976) при длительном  $\gamma$ -облучении мышей линии BALB/c в суточной дозе 0,25 и 0,5 Гр [85]. Увеличение стволовой популяции в селезенке, вероятно, обусловлено не только миграцией стволовых элементов, но и усилением пролиферативной активности КОЕс в исследуемом органе. По литературным данным, роль селезенки в поддержании гомеостаза при хроническом облучении сводится не только к дополнительной продукции клеток стволового и полустволового типа, но и к тому, что облученная селезенка становится одним из

источников стимулирующих влияний гуморального характера, вызывающих активацию гемопоэза [68].

Микроучет селезеночных колоний при хроническом облучении мышей линии СВА с мощностью дозы 0,16 Гр/сут до накопления суммарных доз порядка 45 Гр позволил выявить вклад различных гистологических типов колоний в общую динамику стволовой популяции костного мозга и селезенки [170, 171]. В костном мозге опустошение стволовой популяции клеток было обусловлено всеми типами колоний, что выразилось в сохранении баланса гистологических типов колоний на уровне контроля до 180-х суток  $\gamma$ -облучения. Регенерация стволового пула костного мозга была обусловлена ростом абсолютного и относительного числа эритроидных колоний, что выразилось в увеличении доли эритроидных колоний и снижении доли всех остальных типов колоний. Опустошение селезеночного пула КОЕс происходило преимущественно за счет эритроидных колоний, а восстановление на первых этапах за счет гранулоцитарных и мегакариоцитарных колоний, а в дальнейшем за счет смешанных и эритроидных. При клонировании КОЕс селезенки отмечено изменение баланса гистологических типов колоний на 180-е сутки в пользу мегакариоцитопоэза, а на 270-е сутки, как и в случае с КОЕс костного мозга, – в пользу эритропоэза.

В ходе хронического  $\gamma$ -облучения с ростом накопленной дозы происходит снижение пролиферативного потенциала КОЕс. Так, достоверное отличие среднего объема колоний от контрольных значений отмечено в селезенке на 180-е сутки (поглощенная кумулятивная доза 28,8 Гр), а в костном мозге на 270-е сутки облучения (поглощенная кумулятивная доза 43,2 Гр). Динамика общего объема селезеночных колоний демонстрирует разнонаправленные реакции в костном мозге и селезенке облученных животных в отдаленные сроки исследования. Данный показатель при клонировании КОЕс костного мозга достоверно снижен на всех сроках исследования, а для КОЕс

селезенки к 180-м суткам отмечен рост общего объема колоний до уровня контрольных значений. При кумулятивной дозе 43,2 Гр (270-е сут.) суммарная продуктивность КОЕс костного мозга и селезенки составила 50% от уровня одновозрастного контроля [168, 170, 171].

### ***1.2.3. Закономерности реакции стволовых кроветворных клеток на радиационное воздействие, вызванное $^{90}\text{Sr}$***

Вышеизложенный обзор литературных источников охватывает проблему состояния стволового пула кроветворных клеток в условиях хронического внешнего  $\gamma$ -облучения. Наряду с внешним  $\gamma$ -облучением одним из важнейших факторов, обуславливающих характер облучения жителей Уральского региона, является инкорпорированный  $^{90}\text{Sr}$  [189]. К настоящему времени накоплен огромный фактический материал, описывающий своеобразие нарушений в организме, вызванных инкорпорированным  $^{90}\text{Sr}$  [7, 19, 25, 27, 28, 67, 72, 73, 81, 83, 102, 103, 135, 153, 154, 174, 179, 208, 223, 225, 226, 235].

$^{90}\text{Sr}$  относится к остеотропным радионуклидам и, находясь в равновесии с  $^{90}\text{Y}$ , является  $\beta$ -излучателем. Практически весь  $^{90}\text{Sr}$ , задержанный в организме, в короткие сроки оказывается в скелете. Длина пробега электронов энергетического спектра  $^{90}\text{Sr}$  -  $^{90}\text{Y}$  в мягкой ткани невелика и составляет в среднем 3–3,5 мм [131], поэтому доза на селезенку от  $^{90}\text{Sr}$  несоизмеримо ниже, чем доза на костный мозг и костные поверхности. При хроническом введении радиостронция отношение мощностей доз в селезенке и скелете, по данным экспериментов на крысах, составляет 1/10 [116]. При однократном внутрибрюшинном введении  $^{90}\text{Sr}$  отношение концентраций радионуклида в скелете и селезенке у мышей через 6 ч после введения составляет значительно большую величину – около 40 [24]. Таким образом, максимальная мощность дозы в селезенке в первые часы воздействия не превышает 10% от соответствующей величины для скелета, и в дальнейшем концентрация  $^{90}\text{Sr}$  в селезенке резко снижается.

Это позволяет пренебречь радиационным воздействием на селезенку  $^{90}\text{Sr}$ , накопленным в скелете, и рассматривать реакцию селезенки как компенсаторно-приспособительную к изменениям (клеточному опустошению) в костном мозге. Подобная схема эксперимента позволяет также изучить взаимосвязь различных отделов кроветворения на внутреннее облучение, когда преимущественно облучается один отдел (костный мозг) [165]. Исследованию этого вопроса посвящен ряд работ [130, 165, 168, 234]. Однако изучение состояния родоначальных кроветворных клеток в условиях длительного внутреннего облучения со снижающейся мощностью дозы, вызванного однократным введением  $^{90}\text{Sr}$ , остается в ряду наиболее актуальных проблем, имеющих практическое значение для Уральского региона.

Кинетика 8-суточных КОЕс костного мозга мышей линии NMRI при однократном введении  $^{90}\text{Sr}$ - $^{90}\text{Y}$  в количестве 2,5; 5 и 10 мкКи/мышь в течение 32 суток наблюдения отражена в работе F.F.G. Stevenson et. al [234]. Дозозависимое снижение числа КОЕс происходило на первой неделе облучения с наибольшей скоростью опустошения стволового пула в течение первых четырех суток. При активности радионуклида 10 мкКи/мышь минимального значения (10%) количество КОЕс достигло на 8-е сутки исследования. Далее, на 2–3-й неделях облучения во всех дозовых группах произошло временное увеличение количества КОЕс до уровня 60–70% от контроля и дозозависимое повторное снижение исследуемого показателя до 50% на 32-е сутки после инкорпорации  $^{90}\text{Sr}$ - $^{90}\text{Y}$ . Исследование пролиферативной активности КОЕс выявило, что в норме данный показатель для мышей линии NMRI составлял 8 %. Воздействие  $^{90}\text{Sr}$ - $^{90}\text{Y}$  вызывало вступление в цикл значительно большей части КОЕс, чем у контрольных животных. Для групп мышей, получивших радионуклид в количестве 2,5–5 мкКи/мышь выявлено двукратное увеличение пролиферативного пула КОЕс, тогда как для активности в 10 мкКи/мышь – 4–5-кратное увеличение. В ходе хронического  $\beta$ -облучения доля S-фазных

клеток была обратно пропорциональна числу КОЕс. Наивысшие значения данный параметр имел на первой и последней неделе исследования, составив соответственно 16–48% и 8–60% в зависимости от дозовой нагрузки. В фазу репопуляции КОЕс пролиферативная активность снижалась до уровня контрольных величин. По мнению авторов, полученные данные не позволяют прогнозировать поведение популяции КОЕс костного мозга при более продолжительном воздействии  $^{90}\text{Sr}$ - $^{90}\text{Y}$ .

Более длительное (до 360 сут.) исследование количества КОЕс в костном мозге, селезенке и периферической крови мышей линии СВА при однократном введении  $^{90}\text{Sr}$  в количестве 1,11 и 29,6 кБк/г до накопления суммарных доз 3,3 и 87,7 Гр соответственно проведено Д.З. Шибковой и соавторами [165]. Наблюдались существенные различия в реакции системы гемопоэза в зависимости от введенного количества  $^{90}\text{Sr}$  и соответственно от дозы облучения. Эти различия носят не только количественный, но и качественный характер. Резкая депопуляция костного мозга в первые 6 суток после введения 29,6 кБк/г  $^{90}\text{Sr}$  обусловила столь же резкое увеличение числа КОЕс в селезенке (1, 3, 20-е сут.) и периферической крови (1-е сут.). После подъема на 20-е сутки (до 35% от контроля) количество КОЕс в костном мозге снижалось до 4–10% и оставалось на этом уровне до конца исследований. Количественные изменения в селезенке носили иной характер – наблюдалось достоверное увеличение общего количества КОЕс. Число мигрирующих КОЕс находилось в пределах контрольных значений.

После введения радиостронция в дозе 1,11 кБк/г снижение числа КОЕс в бедренной кости было не столь существенно – до 50% от уровня интактного контроля с последующим восстановлением. В селезенке наблюдались аналогичные изменения. В поздние сроки наблюдения (с 6-го мес. воздействия) в костном мозге наблюдалась недостаточная компенсация поражающего действия радиостронция и концентрация КОЕс



была достоверно ниже уровня одновозрастного контроля. Число КОЕс в селезенке и периферической крови также имело тенденцию к снижению. Таким образом, при дозе  $^{90}\text{Sr}$ , не вызывающей достоверного снижения продолжительности жизни у мышей (1,11 кБк/г), наблюдались однонаправленные реакции селезеночного и костномозгового кроветворения в отличие от воздействия в более высоких дозах. Саркомогенные дозы  $^{90}\text{Sr}$  (29,6 кБк/г) вызывали резкую перестройку системы гемопоэза с активацией селезеночного кроветворения и подавлением гемопоэтической функции красного костного мозга, а также приводили к усилению миграции КОЕс в 1-е сутки после начала радиационного воздействия [165].

**Резюме.** Из вышеизложенного следует, что практически отсутствуют данные о пролиферативном и дифференцировочном потенциале СКК в условиях хронического радиационного воздействия, вызванного инкорпорированным  $^{90}\text{Sr}$ . Вместе с тем, для Уральского региона наиболее актуальными являются экспериментальные работы, моделирующие ситуацию хронического облучения, имевшую место при радиационных инцидентах на ПО "Маяк". Недостаточная разработка данного вопроса послужила основанием для исследования кинетики, пролиферативного и дифференцировочного потенциалов СКК, как наиболее радиочувствительной популяции клеток системы гемоиммунопоэза.

## **II. КИНЕТИКА, ПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ И ДИФФЕРЕНЦИРОВОЧНЫЙ ПОТЕНЦИАЛЫ СТВОЛОВЫХ КРОВЕТВОРНЫХ КЛЕТОК (КОЕс) МЫШЕЙ ЛИНИИ СВА НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА**

В данной главе представлены результаты гистологического исследования состояния стволового пула костного мозга, селезенки и периферической крови мышей линии СВА в возрасте от 3 до 15 месяцев. Для оценки возрастной динамики исследуемых показателей в качестве группы сравнения были выбраны 3-месячные животные.

Экспериментальное исследование проведено на базе Уральского научно-практического центра радиационной медицины (г.Челябинск) и лаборатории «Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды» при кафедре биологии человека и медико-биологической подготовки ЧГПУ. Из показателей периферической крови оценивали общее количество лейкоцитов по мазкам, окрашенным по Романовскому-Гимзе по общепринятым методам. В каждой экспериментальной группе проводили подсчет количества ядерных клеток в костном мозге и селезенке. Для определения клеточности селезенки органы гомогенизировали с питательной средой – 199. Костный мозг для анализа его клеточного состава выдували из бедренной кости в 1–2 мл среды 199 с L-глутамином; мазки окрашивали по Папенгейму, миелограмму составляли после идентификации 500 клеток.

Содержание КОЕс в кроветворных органах (костный мозг, селезенка) и периферической крови определяли методом экзоколониации [237] в модификации А.Е. Переверзева [93].

Костный мозг, селезенки, кровь от 5–6 доноров собирали при забое и готовили клеточные взвеси описанным выше методом. До момента введения реципиентам суспензии клеток хранили при температуре тающего льда в затемненных бьюксах. Мышей-реципиентов облучали за 1 час до введения клеточных взвесей и вводили в хвостовую вену суспензию костного мозга ( $10^5$  клеток/мышь), селезенки ( $10^6$  клеток/мышь) в объеме 0,1–0,3 мл. Для предохранения мышей-реципиентов от гибели (на 4–6 сутки с момента облучения) им ежедневно вводили внутрибрюшинно антибиотик – стрептомицин (из расчета 3 мг на 10 мышей). На 9, 12-е сутки с момента трансплантации реципиентов забивали методом цервикальной дислокации спинного мозга в шейном отделе, селезенки фиксировали (100% этиловый спирт – ледяная уксусная кислота (3:1)).

Микроучет колоний в селезенке проводили на гистологических срезах в модификации Cury J.L. et. al. [187], Inoue T. et. al. [200]. Из каждой селезенки готовили по 3 парафиновых среза толщиной 6 мкм: 1 – центральный и 2 – субкапсулярных. Фиксацию, обезвоживание, пропитывание, заливку проводили по стандартным методикам. Подготовленные срезы окрашивали гематоксилин-эозином. В качестве просветителей использовали карболксилол и ксилол. Для заключения срезов использовали канадский бальзам. Подготовленные гистологические срезы микроскопировали, регистрируя количество микроколоний, их размеры и клеточный состав. Картирование селезеночных колоний и определение их линейных параметров – максимального и минимального диаметров – производили с помощью микроскопа стереоскопического МБС-9 (окуляр с измерительной линейкой,  $\times 8,2$ ; объективная часть,  $\times 2,0$ ; общее увеличение,  $\times 16,4$ ). Объем отдельных селезеночных колоний рассчитывали по формуле на основании того, что условно принимали их форму за эллипсоидную [9]:

$$V = \frac{2}{3}\pi \cdot a \cdot b \cdot (a+b),$$

где  $V$  – объем,  $a$  – максимальный диаметр колонии,  $b$  – минимальный диаметр колонии. Общий объем колоний в селезенке определяли как сумму объемов всех исследуемых колоний на трех гистологических срезах. Для мегакариоцитарных колоний подсчитывали среднее и общее число клеток в колониях.

Гистологический тип колоний идентифицировали на микроскопе МИКМЕД-1 (окуляр,  $\times 10$ ,  $\times 15$ ; объектив,  $\times 20$ ,  $\times 40$ ; общее увеличение,  $\times 200$ – $600$ ), пользуясь критериями, указанными в работе J.L. Caray et al. [187, 188]. Определялось число колоний каждого вида (мегакариоцитарные, эритроидные, гранулоцитарные, смешанные), а затем их суммарное число.

На основе полученных данных анализировали:

- численность КОЕс костного мозга, селезенки и периферической крови (по числу селезеночных колоний с учетом их гистологического типа),
- баланс отдельных разновидностей СКК, стоящих на разных этапах и направлениях дифференцировки (по соотношению гистологических типов колоний),
- пролиферативные потенции КОЕс (по среднему объему колоний), косвенно отражающие скорость клеточной продукции,
- продуктивность тестируемой гемопоэтической ткани (по общему объему колоний).

Полученные данные были подвергнуты статистической обработке общепринятыми методами вариационной статистики [105] с использованием прикладного пакета анализа Microsoft Excel (2003) и дополнительного модуля Analysis ToolPak [18, 115].

### **2.1. Сравнительная характеристика КОЕс костного мозга, селезенки и периферической крови мышей линии СВА**

Средняя концентрация КОЕс в костном мозге бедра на порядок превосходит данный показатель для селезенки и периферической крови (табл. 2). Однако общее содержание КОЕс

в костном мозге бедра и селезенке являются сравнимыми величинами – 4500–5300 и 3300 клеток соответственно. Самую малочисленную популяцию составляют мигрирующие стволовые клетки: их общее содержание в 1 мкл крови не превышает в среднем  $75 \times 10^{-3}$  КОЕс.

Результаты исследования показали, что все исследуемые популяции КОЕс обладают разным дифференцировочным потенциалом. В субпопуляции 12-суточных КОЕс костного мозга преобладают смешанные предшественники (60%), КОЕс селезенки – эритроидные (50%), а 9-суточных КОЕс костного мозга – эритроидные и смешанные в равном соотношении (40%). Вышеперечисленные КОЕс характеризуются практически одинаковой долей гранулоцитарных (11–17%) и мегакариоцитарных (не более 10%) колоний. Отличительной особенностью дифференцировочного потенциала КОЕс периферической крови мышей является равновесное участие в миграции эритроидных, гранулоцитарных и смешанных предшественников (28–36%) при минимальном числе мегакариоцитарных (не более 4%).

Исследуемые популяции КОЕс отличаются и размерами продуцируемых ими клонов (табл. 2). Пролиферативный потенциал КОЕс зависит от целого ряда факторов. Во-первых, данный показатель определяется происхождением КОЕс и их положением в возрастной иерархии СКК. Так, наибольший пролиферативный потенциал зарегистрирован для 12-суточных КОЕс костного мозга – средний объем колоний составил  $12,7 \text{ мм}^3$ . Пролиферативные потенциалы 9-суточных КОЕс костного мозга, селезенки и крови были ниже в 3; 5,5 и 8 раз по сравнению с менее дифференцированной субпопуляцией КОЕс.

Таблица 2

**Гистологический анализ колоний при тестировании КОЕс костного мозга, селезенки и периферической крови мышей линии СВА (М, (min – max))**

Исследуемые показатели *	КОЕс-12-сут. костного мозга	КОЕс-9-сут. костного мозга	КОЕс селезенки	КОЕс крови
Концентрация КОЕс ( $\times 10^5$ )	43,9 (38,5-51,8)	40,2 (29,4-47,2)	3,0 (2,2-4,6)	1,7 (0,8-2,8)
Общее содержание КОЕс	4532,9 (5322,6-6673,3)	5276,3 (3901,4-6006,0)	3266,6 (2620,6-4809,1)	$75,1 \times 10^{-3}$ (47,8-129,7 $\times 10^{-3}$ )
Средний объем колоний, мм <sup>3</sup>	12,7 (10,0-18,6)	4,0 (1,6-5,1)	2,3 (1,2-3,4)	1,6 (0,6-2,6)
Общий объем колоний, мм <sup>3</sup>	480,4 (401,2-607,7)	144,1 (61,6-194,4)	66,1 (27,2-137,6)	30,2 (10,1-70,0)
Доля Э-колоний, %	21,3 (11,8-28,1)	40,8 (31,2-50,5)	47,7 (26,7-62,0)	36,0 (14,6-48,3)
Доля Г-колоний, %	10,9 (7,7-15,4)	15,8 (12,3-18,2)	17,4 (10,1-20,9)	34,9 (17,4-51,5)
Доля М-колоний, %	8,9 (0,0-21,8)	7,6 (2,9-13,3)	8,8 (4,0-15,4)	1,3 (0,0-4,0)
Доля С-колоний, %	59,1 (49,0-63,4)	35,7 (23,8-46,2)	26,0 (9,5-48,4)	27,6 (6,0-34,4)
Отношение Э/Г	2,5 (1,1-3,1)	3,2 (2,0-5,3)	3,7 (1,8-6,9)	1,9 (0,4-4,7)
Средний объем Э-колоний, мм <sup>3</sup>	4,9 (2,7-7,2)	3,3 (1,3-5,0)	1,8 (1,1-2,8)	1,0 (0,4-1,6)
Средний объем Г-колоний, мм <sup>3</sup>	2,2 (1,4-3,2)	0,8 (0,6-1,0)	1,0 (0,6-1,4)	1,1 (0,8-1,6)
Средний объем С-колоний, мм <sup>3</sup>	17,0 (13,4-23,8)	5,8 (2,3-6,8)	3,8 (2,6-6,1)	2,9 (1,6-4,2)
Среднее число мегакариоцитов в колонии	7,3 (0,0-9,0)	7,0 (5,2-8,7)	6,2 (4,9-7,4)	8,0 (0,0-10,0)
Общий объем Э-колоний, мм <sup>3</sup>	45,3 (30,3-75,4)	57,7 (20,5-91,5)	24,9 (10,7-42,9)	8,6 (1,0-22,0)
Общий объем Г-колоний, мм <sup>3</sup>	10,0 (5,7-16,6)	5,4 (4,2-6,3)	5,5 (3,2-12,5)	5,1 (3,9-7,8)
Общий объем С-колоний, мм <sup>3</sup>	425,2 (357,2-565,6)	87,9 (35,6-141,3)	35,6 (11,7-101,3)	16,4 (2,6-40,1)
Общее число мегакариоцитов на селезенку	30,4 (0,0-80,3)	21,9 (6,5-49,8)	15,7 (5,2-24,4)	1,0 (0,0-3,8)

\* Примечание: Э – эритроидные, Г – гранулоцитарные, М – мегакариоцитарные, С – смешанные колонии.

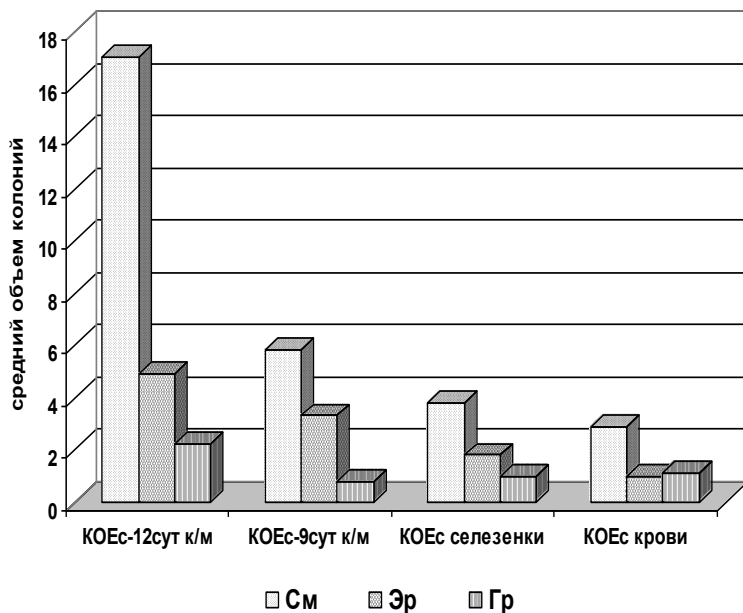


Рис. 2.1.1. Средний объем (в мм<sup>3</sup>) смешанных (См), эритроидных (Эр) и гранулоцитарных (Гр) колоний при тестировании КОЕс костного мозга, селезенки и периферической крови интактных мышей линии СВА

Во-вторых, средний объем продуцируемого клеточного клона зависит от гистологического типа колоний (рис. 2.1.1.). Максимальным пролиферативным потенциалом обладают смешанные предшественники (от 3 до 17 мм<sup>3</sup>), затем следуют эритроидные (от 1 до 5 мм<sup>3</sup>) и гранулоцитарные (от 1 до 2 мм<sup>3</sup>). Интересен тот факт, что средний объем гранулоцитарных и мегакариоцитарных колоний практически не зависит от происхождения КОЕс и составляет в среднем соответственно 1 мм<sup>3</sup> и 7 мегакариоцитов (табл. 2).

Общий объем гемопоэтической ткани для 12-суточных КОЕс костного мозга находится в пределах 400–600 мм<sup>3</sup>, что превышает значения данного показателя для 9-суточных КОЕс костного мозга в 3 раза, для селезенки и крови – в 10 раз и более. Эти ярко выраженные отличия определяются не только количеством тестируемых КОЕс, но и их дифференцировочным и пролиферативным потенциалами. Так, трехкратное различие в общем объеме колоний при тестировании 12- и 9-суточных КОЕс костного мозга создается за счет смешанных предшественников, продуктивность которых составляет 425 и 88 мм<sup>3</sup> соответственно. Отличительной особенностью гранулоцитарного роста при тестировании 9-суточных КОЕс является то, что общий объем колоний равен 5,1–5,5 мм<sup>3</sup> независимо от происхождения стволовых элементов крови. Реализация мегакариоцитарных потенциалов СКК происходит в основном в костном мозге. Продуктивность данного роста для КОЕс костного мозга составляет в среднем 22–30 мегакариоцитов, что в 2 раза превышает значения данного показателя для КОЕс селезенки.

**Резюме.** Таким образом, в ходе исследования были выявлены количественно-качественные отличия популяций КОЕс в зависимости от их происхождения и положения в возрастной иерархии СКО кроветворения. Стволовые кроветворные клетки костного мозга, селезенки и периферической крови различаются как по эффективности колониеобразования, так и по пролиферативному и дифференцировочному потенциалам. Ведущая роль в поддержании гемопоэза в физиологических условиях существования принадлежит КОЕс костного мозга, среди которых однозначно первостепенное значение имеют менее дифференцированные предшественники (12-суточные КОЕс).



## 2.2. Возрастная динамика количества, пролиферативного и дифференцировочного потенциалов КОЕс мышей линии СВА

*КОЕс-9-сут. костного мозга.* В ходе исследования было выявлено, что клеточность и концентрация КОЕс костного мозга не претерпели существенных возрастных изменений, составив в среднем  $13,2 \times 10^6$  и  $43,9 \times 10^5$  кариоцитов соответственно (табл. 3).

Таблица 3

### Гистологический анализ колоний при тестировании КОЕс-9-сут. костного мозга интактных мышей линии СВА разного возраста (M±m)

Показатели крововетворения	Возраст животных, сутки						
	90–96	103	110	120	270	360	450
1	2	3	4	5	6	7	8
Концентрация КОЕс ( $\times 10^5$ )	44,4±3,3	39,7±3,4	29,4±1,3	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	3901,4± 175,6	4640,8± 208,6	6006,0± 478,4	5834,4± 223,4	5380,8± 302,5
Общий объем колоний, мм <sup>3</sup>	61,6±8,1	121,3±19,5	132,4±36,6	139,0±28,5	179,9±24,8*	179,9±57,9	194,4±31,4*
Средний объем колоний, мм <sup>3</sup>	1,6±0,2	3,1±0,4	5,0±0,1	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	10,0±0,5	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	5,6±1,1	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	2,8±0,5	1,4±0,6	3,0±0,6	5,6±1,5	3,6±1,0

Окончание табл. 3

1	2	3	4	5	6	7	8
Число С-колоний	15,7±1,9	15,4±2,0	11,0±1,2	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	2,0±0,4	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	34,4±3,2	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	18,9±3,2	14,9±2,2	17,3±1,1	12,3±2,5	14,6±2,5
Доля М-колоний, %	9,1±2,0	2,9±1,7	9,5±1,5	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	37,3±3,1	38,3±4,1	31,3±4,3	23,8±2,8	46,2±1,9*
Средний объем Э-колоний, мм <sup>3</sup>	1,3±0,2	2,5±0,4	2,6±0,2	2,4±0,2	4,8±0,4*	5,0±1,6	3,2±1,0
Средний объем Г-колоний, мм <sup>3</sup>	0,6±0,1	0,9±0,2	1,7±0,3	1,0±0,2	0,7±0,1	0,8±0,1	0,9±0,1
Средний объем С-колоний, мм <sup>3</sup>	2,3±0,4	4,4±0,5	9,0±0,3	5,6±1,4	6,4±0,6	7,7±2,3	6,8±1,4*
Среднее число мегакариоцитов в колонии	5,5±0,3	6,3±2,0	4,9±0,9	5,2±1,4	8,7±0,5	7,7±1,2	7,7±1,2
Общий объем Э-колоний, мм <sup>3</sup>	20,5±3,0	43,9±8,6	25,6±2,9	39,1±4,0	90,6±13,5*	91,5±10,4*	46,7±15,0
Общий объем Г-колоний, мм <sup>3</sup>	5,5±2,2	5,4±1,7	8,9±0,9	6,0±1,5	5,1±1,2	4,2±1,1	6,3±1,7
Общий объем С-колоний, мм <sup>3</sup>	35,6±6,5	72,0±14,9	98,0±8,9	94,0±28,1	84,3±17,1	84,1±37,6	141,3±20,6*
Общее число мегакариоцитов	20,8±2,7	9,7±8,0	12,0±7,2	6,5±3,7	26,5±5,9	49,8±20,6	27,8±8,5

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

Однако, начиная с 4-го месяца индивидуального развития, произошло трехкратное увеличение среднего и общего объемов колоний. Наибольшие сдвиги в морфометрических параметрах отмечены для эритроидных и смешанных колоний. Пролиферативный потенциал КОЕс, образующих указанные типы колоний, увеличился в 3,5 раза, а общий объем колоний – в 4 раза по сравнению с исходными значениями.

Изменение соотношения гистологических типов колоний зарегистрировано на заключительном сроке исследования (450-е сут.), что проявилось в увеличении доли смешанных колоний в 1,3 раза.

*КОЕс-12-сут. костного мозга.* Для менее дифференцированной субпопуляции стволовых клеток характерно увеличение концентрации в 1,3 раза к 15-му месяцу постнатального развития.

В исследуемый период онтогенеза (3–15-й мес.) наиболее существенные изменения отмечены для мегакариоцитарного ростка. Так, при тестировании КОЕс молодых животных (4-й мес.) выявлено отсутствие мегакариоцитарных колоний. Увеличение числа и доли мегакариоцитарных предшественников соответственно в 7 и 5 раз по сравнению с исходными значениями данных показателей выявлено нами у 15-месячных животных. При этом общая продуктивность мегакариоцитарного ростка увеличилось в 8,4 раза, составив 80,3 мегакариоцитов на селезенку (табл. 4).

*КОЕс селезенки.* В динамике числа спленоцитов, как и кариоцитов костного мозга, не выявлено достоверных возрастных изменений (табл. 5). В тоже время концентрация и абсолютное содержание КОЕс увеличивались в 2 раза у 15-месячных мышей. Прирост количества КОЕс происходил за счет смешанных предшественников, число которых достигало 300% по сравнению со значениями данного показателя у 3-месячных животных.

Таблица 4

**Гистологический анализ колоний при тестировании КОЕс-12-сут. костного мозга интактных мышей линии СВА разного возраста (M±m)**

Показатели кроветворения	Возраст животных, сутки						
	90–96	103	110	120	270	360	450
1	2	3	4	5	6	7	8
Концентрация КОЕс ( $\times 10^5$ )	38,8±3,0	38,4±3,4	37,1±0,6	43,6±1,5	38,5±3,4	46,7±4,8	51,8±2,8*
Общее содержание КОЕс	4814,2± 364,0	5484,7± 489,7	4918,8± 94,5	5322,6± 193,7	5505,5± 483,8	6673,3± 709,3	5899,5± 317,3
Общий объем колоний, мм <sup>3</sup>	406,5±66,8	311,4±79,6	210,3±16,1	405,2±54,9	607,7±70,0	581,6±115,5	401,2±22,8
Средний объем колоний, мм <sup>3</sup>	11,8±3,0	9,3±1,9	6,5±0,6	9,3±1,6	18,6±1,0	13,9±2,8	10,0±0,7
Число Э-колоний	8,2±2,4	9,7±0,4	10,9±0,8	12,3±0,4	4,3±1,1	11,7±2,3	11,3±2,7
Число Г-колоний	5,1±1,1	4,4±1,7	4,0±0,5	4,4±0,5	6,3±1,9	3,7±0,4	4,0±0,6
Число М-колоний	1,6±0,2	5,8±1,4	4,5±1,1	0,0±0,0*	3,8±0,8	4,3±1,5	11,3±1,5*
Число С-колоний	23,9±2,3	18,4±1,5	17,6±0,5	27,0±1,5	24,3±1,5	27,0±1,2	25,3±0,9
Отношение ЭГ	2,4±1,0	4,7±2,3	2,9±0,4	2,9±0,5	1,1±0,5	3,1±0,6	2,8±0,8
Доля Э-колоний, %	20,6±5,6	25,9±2,2	29,5±0,9	28,1±0,2	11,8±3,8	24,4±2,9	21,6±5,2
Доля Г-колоний, %	12,9±2,5	10,7±3,8	10,8±1,6	10,2±1,0	15,4±3,7	7,9±0,2	7,7±0,8
Доля М-колоний, %	4,3±0,9	15,1±3,4	12,2±2,7	0,0±0,0*	9,5±1,4	8,9±2,3	21,8±3,0*

Окончание табл. 4

1	2	3	4	5	6	7	8
Доля С-колоний, %	62,3±5,8	48,3±0,9	47,5±2,2	61,8±1,3	63,4±3,2	58,8±5,1	49,0±2,8
Средний объем Э-колоний, мм <sup>3</sup>	3,9±1,2	3,9±0,5	4,3±0,6	2,7±0,8	7,2±2,5	5,6±3,3	5,0±0,3
Средний объем Г-колоний, мм <sup>3</sup>	3,2±1,9	3,8±2,8	1,5±0,4	1,4±0,7	1,6±0,5	2,2±1,0	2,6±1,0
Средний объем С-колоний, мм <sup>3</sup>	15,6±3,4	11,6±2,8	9,0±1,2	13,7±2,5	23,8±3,0	18,7±3,2	13,4±0,3
Среднее число мегакариоцитов в колонии	6,3±1,2	4,8±0,4	5,9±1,5	---	6,6±2,1	9,0±2,3	7,4±1,0
Общий объем Э-колоний, мм <sup>3</sup>	32,7±11,5	37,7±5,3	46,2±5,0	33,0±8,7	30,3±13,3	75,4±53,7	55,0±13,3
Общий объем Г-колоний, мм <sup>3</sup>	16,6±9,3	6,7±2,3	6,2±2,0	5,7±2,5	11,8±5,5	8,5±4,2	7,4±1,9
Общий объем С-колоний, мм <sup>3</sup>	357,2±67,1	267,0±79,7	157,9±17,1	366,6±48,7	565,6±58,3	497,7±73,5	338,9±24,5
Общее число мегакариоцитов	9,6±1,9	29,1±8,1	29,6±11,1	0,0±0,0*	29,0±16,1	33,3±5,5	80,3±11,7*

Примечание: Э – эритроидные, Г – гранулоцитарные, М – мегакариоцитарные и С – смешанные колонии;

\* – различия с контролем (90-е сутки) достоверны при  $p \leq 0,05$

Таблица 5

**Гистологический анализ колоний при тестировании КОЕс-9-сут. селезенки интактных мышей  
линии СВА разного возраста (M±m)**

Показатели кроветворения	Возраст животных, сутки						
	90–96	103	110	120	270	360	450
1	2	3	4	5	6	7	8
Концентрация КОЕс ( $\times 10^6$ )	22,1±3,4	20,1±2,2	17,3±0,8	21,9±1,3	23,3±1,8	24,7±2,5	41,5±2,5*
Общее содержание КОЕс	2722,8±4 37,9	2467,9±2 73,8	2038,9±8 2,9	2620,6±1 54,2	2878,0±2 12,5	3043,1±3 08,2	4809,1±28 8,7*
Общий объем колоний, мм <sup>3</sup>	27,2±3,8	37,4±9,0	59,9±7,7	33,3±4,9	69,4±18,1	58,9±13,5 *	70,3±5,4*
Средний объем колоний, мм <sup>3</sup>	1,2±0,2	1,9±0,3	3,7±0,5	1,6±0,2	3,4±0,8*	2,7±0,4*	1,8±0,1*
Число Э-колоний	10,6±1,5	8,3±1,4	7,9±0,5	10,1±0,7	14,3±1,2	14,8±1,3	16,9±1,7
Число Г-колоний	5,6±1,2	3,8±0,9	3,8±0,8	4,5±0,6	2,3±0,5	3,8±0,9	7,1±1,3
Число М-колоний	1,8±0,5	1,9±0,3	1,1±0,6	1,0±0,5	3,7±0,8	3,5±0,6	2,9±0,9
Число С-колоний	4,8±0,9	5,6±1,2	4,5±0,7	6,3±0,6	3,0±0,6	2,5±0,7	14,6±1,3*
Отношение Э/Г	3,1±0,6	3,4±1,2	2,7±0,7	2,3±0,2	6,9±1,3*	4,7±0,7	3,3±0,9
Доля Э-колоний, %	49,7±3,8	40,2±4,7	45,4±2,7	45,9±2,6	62,0±3,9*	60,8±3,2*	41,3±1,7

Окончание табл. 5

1	2	3	4	5	6	7	8
Доля Г-колоний, %	20,8±3,6	18,9±4,1	21,9±5,2	20,6±2,1	10,1±1,4*	15,2±2,3	16,7±2,5
Доля М-колоний, %	8,3±2,3	10,0±1,7	6,7±3,3	4,8±2,1	15,4±2,9*	14,2±1,7	6,3±1,7
Доля С-колоний, %	21,0±2,6	27,5±4,3	26,0±2,9	28,6±2,9	12,6±2,1	9,5±2,4*	35,6±2,8*
Средний объем Э-колоний, мм <sup>3</sup>	1,1±0,2	1,3±0,2	2,9±0,7	1,1±0,2	2,8±0,3*	2,8±0,5*	1,2±0,1
Средний объем Г-колоний, мм <sup>3</sup>	0,7±0,2	1,0±0,3	1,6±0,7	0,7±0,2	1,1±0,4	1,3±0,4	0,6±0,2
Средний объем С-колоний, мм <sup>3</sup>	2,6±0,5	3,4±0,3	6,5±0,7	2,9±0,5	6,1±3,0	3,5±1,3	3,2±0,3
Среднее число мегакариоцитов в колонии	7,4±1,2	6,5±0,9	8,8±2,8	5,0±0,7	4,9±1,1	6,4±1,0	6,6±0,8
Общий объем Э-колоний, мм <sup>3</sup>	10,8±1,8	11,9±2,3	21,7±4,2	10,7±1,8	41,3±7,1*	42,9±10,1 *	19,7±2,7
Общий объем Г-колоний, мм <sup>3</sup>	3,5±1,3	4,7±2,0	7,8±3,7	3,2±1,1	2,8±1,0	5,4±1,0	5,3±2,4
Общий объем С-колоний, мм <sup>3</sup>	11,7±1,9	20,9±6,5	30,5±5,9	19,3±4,7	25,3±15,4	10,7±4,8	45,3±3,8*
Общее число мегакариоцитов	12,5±3,7	13,5±3,3	10,9±7,4	5,2±2,4	20,7±7,3	24,4±7,0	18,9±7,3

Примечание: Э – эритроидные, Г – гранулоцитарные, М – мегакариоцитарные и С – смешанные колонии;

\* – различия с контролем (90-е сутки) достоверны при  $p \leq 0,05$

Повышение эффективности колониеобразования у взрослых животных (9–15 мес.) сопровождалось увеличением пролиферативного потенциала КОЕс в 1,5–2,5 раза. Изменения отмечены для эритроидных и смешанных колоний, средние объемы которых увеличились в 3 и 2 раза соответственно. Продуктивность тестируемой гемопоэтической ткани также возросла. Повышение значений данного показателя в 2,5 раза у 12–15-месячных животных происходило за счет изменения морфометрических характеристик эритроидных и смешанных колоний.

Изменение дифференцировочного потенциала КОЕс зарегистрировано только у животных зрелого возраста (9–15-й мес.). На 9-м месяце онтогенеза мышей произошло смещение баланса гистологических типов колоний в пользу эритроидного и мегакариоцитарного ростков при снижении доли гранулоцитарного. В связи с этим отношение эритроидных колоний к гранулоцитарным (Э/Г) достигло максимального значения – 6,9. Двукратное увеличение доли смешанных колоний отмечено у 15-месячных животных.

*КОЕс периферической крови.* В отличие от костного мозга и селезенки клеточность крови изменялась в широком диапазоне от 3,3 до 6,3 тыс/мкл. Достоверное усиление эффективности колониеобразования (на 100%) зарегистрировано однократно у 12-месячных животных, в то время как общее содержание КОЕс превышало исходные значения в 2–2,5 раза дважды – на 9-м и 12-м месяце развития (табл. 6).

Прролиферативный потенциал мигрирующих КОЕс увеличивался, начиная с 4-го месяца постнатального развития, достигнув максимума в более поздние сроки (9–12-й мес.). Наиболее выраженные изменения отмечены для смешанных и эритроидных колоний, средние объемы которых возросли в 2,5–3,5 раза. В этот же период онтогенеза произошло увеличение и общего объема указанных типов колоний в 9–15 раз и 4–7 раз соответственно.



Таблица 6

**Гистологический анализ колоний при тестировании КОЕс-9-сут. периферической крови  
интактных мышей линии СВА разного возраста (M±m)**

Показатели кроветворения	Возраст животных, сутки						
	90–96	103	110	120	270	360	450
1	2	3	4	5	6	7	8
Концентрация КОЕс ( $\times 10^6$ )	14,5±3,8	18,2±1,6	18,4±1,8	8,2±0,7	19,2±2,7	27,6±1,7*	15,0±0,9
Общее содержание КОЕс ( $\times 10^{-3}$ мкл)	47,8±12,4	51,0±4,4	68,2±6,5	51,6±4,7	90,2±12,7*	129,7±7,7*	56,2±3,5
Общий объем колоний, мм <sup>3</sup>	10,1±4,1	15,7±3,1	21,2±4,3	11,7±0,9	41,3±6,2*	70,0±9,5*	17,9±3,7
Средний объем колоний, мм <sup>3</sup>	0,6±0,2	0,9±0,1	1,2±0,3	1,5±0,1*	2,2±0,3*	2,6±0,4*	1,2±0,2
Число Э-колоний	5,9±1,7	8,7±2,4	10,4±2,3	1,0±0,4*	9,2±2,5	13,3±1,6*	5,3±0,7
Число Г-колоний	6,7±1,6	3,5±1,2	7,0±1,4	4,4±0,8	4,4±1,1	5,1±1,8	4,6±0,9
Число М-колоний	0,4±0,2	1,1±0,6	0,0±0,0	0,2±0,2	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
Число С-колоний	0,2±0,1	4,5±0,8	1,0±1,0	2,5±0,4*	5,7±0,5*	9,3±1,7*	5,1±0,7*
Отношение Э/Г	1,0±0,3	2,0±1,4	2,4±0,9	0,4±0,3	2,2±0,6	4,7±2,1	1,4±0,3
Доля Э-колоний, %	38,8±7,7	46,8±9,0	54,4±9,2	14,6±6,1*	43,1±8,0	48,3±6,5	35,4±5,2
Доля Г-колоний, %	50,6±6,8	19,7±7,0	40,5±9,7	51,5±4,8	24,4±6,0*	17,4±5,3*	30,8±5,6

Окончание табл. 6

1	2	3	4	5	6	7	8
Доля М-колоний, %	4,0±2,7	6,3±3,6	0,0±0,0	2,5±2,5	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
Доля С-колоний, %	6,0±3,8	27,1±5,6	5,2±3,6	31,4±4,9*	32,6±4,5*	34,4±7,0*	33,8±4,5*
Средний объем Э-колоний, мм <sup>3</sup>	0,4±0,1	0,7±0,1	1,1±0,2	0,8±0,3	1,3±0,3*	1,6±0,5*	0,9±0,3
Средний объем Г-колоний, мм <sup>3</sup>	0,8±0,3	0,8±0,2	0,8±0,2	1,0±0,1	0,9±0,2	1,6±0,5	1,3±0,2
Средний объем С-колоний, мм <sup>3</sup>	1,7±±0,8	1,5±0,4	3,3±0,1	2,9±0,4	4,1±0,6*	4,2±0,4*	1,6±0,3
Среднее число мегакарицитов в колонии	10,0±7,0	4,6±0,9	---	6,0±0,0	---	---	---
Общий объем Э-колоний, мм <sup>3</sup>	2,8±1,0	6,6±2,1	10,8±3,4	1,0±0,4	13,2±4,5*	22,0±9,4	4,1±0,9
Общий объем Г-колоний, мм <sup>3</sup>	4,7±1,5	2,5±1,1	5,9±3,2	4,2±1,1	3,9±1,6	7,8±2,7	5,1±0,9
Общий объем С-колоний, мм <sup>3</sup>	2,6±1,9	6,6±1,8	3,4±2,5	6,5±0,9	24,2±4,6*	40,1±9,2*	8,8±3,0
Общее число мегакарицитов	3,8±3,2	6,3±4,8	0,0±0,0	1,3±1,3	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0

Примечание: Э – эритроидные, Г – гранулоцитарные, М – мегакариоцитарные и С – смешанные колонии;

\* – различия с контролем (90-е сутки) достоверны при  $p \leq 0,05$

Изменение соотношения гистологических типов колоний впервые выявлено у 4-месячных мышей. По сравнению с 3-месячными животными произошло пятикратное увеличение доли смешанных колоний при сокращении доли эритроидного ростка. Перераспределение дифференцировочных потенциалов КОЕс у более зрелых животных (9–15-й мес.) носило несколько иной характер. Баланс гистологических типов колоний смещался в сторону смешанных колоний на фоне сокращения доли гранулоцитарных и полного исчезновения мегакариоцитарных.

Корреляционный анализ показал, что возрастную детерминированность имеет незначительное число исследуемых показателей кроветворения (табл. 7). Так, статистически значимую положительную корреляцию с возрастом животных имеют такие показатели, как концентрация 12-суточных КОЕс костного мозга и их общее содержание на бедро. Остальные выявленные положительные корреляции отражают возрастную активацию мегакариоцитопоэза в костном мозге и селезенке интактных мышей линии СВА. При тестировании КОЕс периферической крови обнаружены отрицательные корреляционные зависимости параметров мегакариоцитопоэза (доли и пролиферативных потенциалов мигрирующих мегакариоцитарных КОЕс) от возраста, что вполне отражает возрастную динамику КОЕс данной линии дифференцировки. Таким образом, по результатам корреляционного анализа можно заключить, что с возрастом у мышей линии СВА происходит усиление колониеобразующей активности в стволовом кроветворном пуле костного мозга, активация мегакариоцитопоэза в костном мозге и селезенке. Запрет на миграцию мегакариоцитарных КОЕс у 9–15-месячных животных демонстрирует автономность функционирования популяций предшественников мегакариоцитопоэза в костном мозге и селезенке.

Таблица 7

**Возрастная детерминация исследуемых параметров  
кровообразования при тестировании КОЕс костного мозга,  
селезенки и периферической крови  
(коэффициент корреляции Пирсона, r)**

Исследуемые показатели	КОЕс-12-сут. костного мозга	КОЕс-9-сут. костного мозга	КОЕс-9-сут. селезенки	КОЕс-9-сут. крови
концентрация КОЕс	+0,826*			
общее содержание КОЕс	+0,781*			
число Мк-колоний		+0,774*	+0,925****	
доля Мк-колоний, %			+0,861**	-0,890*
общее число клеток в Мк-колониях			+0,908****	
среднее число клеток в Мк-колониях	+0,802*			-0,885*

Примечание: Мк – мегакариоцитарные колонии; \* – статистическая значимость при  $p \leq 0,05$ , \*\* – при  $p \leq 0,01$ , \*\*\*\*– при  $p \leq 0,001$ .

**Резюме.** Гистологический анализ колоний при тестировании КОЕс костного мозга, селезенки и периферической крови мышей линии СВА различного возраста позволяет заключить, что в исследуемый период онтогенеза (3–15-й мес.) присутствовали процессы как однонаправленного, так и разнонаправленного характера. С одной стороны, при

исследовании практически всех популяций КОЕс с возрастом выявлено достоверное увеличение их концентрации, среднего и общего объемов продуцируемых ими клонов. Достоверные изменения морфометрических параметров отмечены для эритроидных и смешанных колоний. При реализации дифференцировочного потенциала, как правило, происходило смещение в сторону менее дифференцированных (полипотентных) предшественников на фоне снижения численности эритроидных и гранулоцитарных КОЕс, что может отражать изменение соотношения процессов пролиферации и дифференцировки полипотентных КОЕс в эритроидном и гранулоцитарном ряду.

С другой стороны, при тестировании 12-суточных КОЕс костного мозга и КОЕс селезенки более зрелых животных (9–15-й мес.) зарегистрировано изменение баланса гистологических типов колоний в пользу мегакариоцитарного ростка, в то время как в периферической крови мегакариоцитарных предшественников выявлено не было. Возможно, запрет на миграцию мегакариоцитарных предшественников способствовал накоплению КОЕс мегакариоцитарного направления дифференцировки в костном мозге и селезенке и в какой-то степени отражает независимость функционирования популяций мегакариоцитарных КОЕс костного мозга и селезенки.

Таким образом, большинство возрастных изменений КОЕс костного мозга, селезенки и периферической крови имели однонаправленный характер. Различия состояли лишь в сроках реализации и степени выраженности возрастных изменений. В целом за исследуемый период онтогенеза (3–15-й мес.) не было выявлено инволюции ни одного из исследуемых показателей кроветворения.

### **III. КОМПЕНСАТОРНО-ПРИСПОСОБИТЕЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ, РЕАЛИЗУЕМЫЕ В СТВОЛОВОМ КРОВЕТВОРНОМ ПУЛЕ (КОЕс) МЫШЕЙ ЛИНИИ СВА В РАННИЕ СРОКИ РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ**

#### **3.1. Условия моделирования и оценка доз внутреннего β-облучения животных**

Для установления последовательности изменений в стволовом пуле системы гемопоэза в условиях пожизненного облучения экспериментальных животных исследования проводили в ранние (1, 3, 6, 13, 20 и 30-е сутки) и отдаленные (90, 180, 270, 360 и 540-е сутки) сроки воздействия радиационного фактора. Постановка эксперимента позволила смоделировать ситуацию хронического внутреннего β-облучения (за счет инкорпорированного  $^{90}\text{Sr}$ ), имевшую место при радиационных инцидентах на Южном Урале, связанных с работой ПО "Маяк".

Животным-донорам однократно внутрибрюшинно инъецировали  $^{90}\text{Sr}$  (в виде раствора нитрата стронция) в 3-х концентрациях: 1,11; 11,1 и 29,6 кБк/г веса животного. Активность радионуклида 29,6 кБк/г приводит к максимальной индукции костных опухолей и сокращению продолжительности жизни на 50%; активность  $^{90}\text{Sr}$  11,1 кБк/г является оптимальной для развития радиационно-индуцированных опухолей кроветворной ткани и сокращения продолжительности жизни приблизительно на 10%; активность радионуклида 1,11 кБк/г не приводит к повышению частоты опухолей и сокращению продолжительности жизни в эксперименте [83, 153, 227], а по накопленной поглощенной дозе за всю жизнь животного соответствует максимальной эффективной дозе на красный

костный мозг у людей, переоблучившихся в результате радиационных инцидентов на Южном Урале [189].

Мыши-реципиенты были облучены однократно на установке ИГУР с четырьмя источниками  $^{137}\text{Cs}$ , расположенными попарно с двух сторон облучаемого объекта, при мощности дозы 60 сГр/мин и неравномерностью  $\gamma$ -поля установки в рабочем пространстве не более  $\pm 5\%$ . Мышей-реципиентов облучали в дозах, приводящих к 100% гибели животных к 10-20 суткам после воздействия. Для исключения несистематических ошибок за счет взаимного экранирования положение животных при облучении фиксировали. Фиксация достигалась размещением животных в ячеистых кассетах из плексигласа с размерами 50x147x170 мм. Кассета рассчитана на размещение 10 мышей. На протяжении всего периода исследований проводился текущий дозиметрический контроль, и вводилась поправка на распад источника.

Радиометрию золы бедренной кости экспериментальных животных производили торцовым счетчиком. При расчете поглощенной дозы пренебрегали периодом полураспада  $^{90}\text{Sr}$  по сравнению с продолжительностью жизни мышей. Массу скелета принимали как 7,5% от массы тела; использовали 25% поглощения энергии 1,13 MEV пары  $^{90}\text{Sr} + ^{90}\text{Y}$  [216].

Исходя из того, что бедренная кость составляет 3,65% от массы всего скелета, рассчитывали содержание радиоактивного стронция во всем скелете, предполагая, что радионуклид распределен равномерно.

Задержка  $^{90}\text{Sr}$  в скелете мышей описывалась степенной функцией: биологическая задержка =  $0,596 \cdot t^{-0,25}$ ,

где  $t$  – время после введения радионуклидов (сутки).

С учетом коэффициентов, мощность дозы в момент времени  $t$  равна:

$$p = 3,12 \cdot c \cdot m^{-1} \cdot t^{-0,25},$$

где  $p$  – мощность дозы в день расчета  $t$  (сГр/сут),

$c$  – введенное количество Sr (кБк/животное),  
 $m$  – масса животного (г),  
 $t$  – время после введения радионуклида (сутки).

Поглощенная доза на кость равна:

$$D = 0,0414 \cdot c \cdot m^{-1} \cdot t^{-0,75},$$

где  $D$  – поглощенная доза на кость (Гр),  
 $c$  – введенное количество  $^{90}\text{Sr}$  (кБк/животное).

Учитывая, что для мелких лабораторных животных поглощенная доза на костный мозг и кость значимо не отличаются [210], считали, что они равны. Данные дозиметрических параметров, соответствующие использованным режимам и срокам обследования, приведены в табл. 8.

Таблица 8

**Мощность дозы (Р) и поглощенная доза (Д) на кость и красный костный мозг в различные сроки после введения  $^{90}\text{Sr}$  \***

Время обследования, сутки	1,11 кБк/г		11,1 кБк/г		29,6 кБк/г	
	Д, Гр	Р, сГр/сут	Д, Гр	Р, сГр/сут	Д, Гр	Р, сГр/сут
1	0,04	2,76	–	–	0,98	73,6
3	0,08	2,1	–	–	2,24	55,9
6	0,14	1,76	–	–	3,76	47
13	0,25	1,45	–	–	6,72	38,7
21	0,36	1,29	–	–	9,62	34,4
30	0,47	1,18	–	–	12,57	31,4
90	1,16	0,87	11,6	8,72	31	23,3
360	3,29	0,62	41,8	6,17	87,7	16,45

\* Примечание: дозиметрические параметры рассчитаны старшим научным сотрудником УНПЦ РМ (г.Челябинск), канд. биол. наук Е.А. Пряхиным [109]



В условиях внутреннего  $\beta$ -облучения, когда практически весь  $^{90}\text{Sr}$  в короткие сроки депонируется в скелете, доза облучения на селезенку несоизмеримо ниже, чем на костный мозг и костные поверхности. Установлено, что при однократном внутривнутрибрюшинном введении  $^{90}\text{Sr}$  отношение концентраций радионуклида в скелете и селезенке у мышей через 6 часов после введения составляет около 1/40 [24]. Дозиметрические параметры для селезенки облученных животных приведены в табл. 9.

Таблица 9

**Поглощенная доза (Д) на селезенку в различные сроки после введения  $^{90}\text{Sr}$**

Время обследования, <i>сутки</i>	1,11 кБк/г	11,1 кБк/г	29,6 кБк/г
	Д, Гр	Д, Гр	Д, Гр
1	0,001	–	0,02
3	0,002	–	0,05
6	0,004	–	0,09
13	0,01	–	0,16
21	0,01	–	0,24
30	0,01	–	0,31
90	0,02	0,29	0,77
360	0,08	0,82	2,19

**3.2. Компенсаторно-приспособительные реакции, реализуемые в стволовом кроветворном пуле костного мозга мышей линии СВА в ранние сроки (1–30-е сутки) хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы**

Клеточность костного мозга в ранние сроки облучения зависела от интенсивности радиационного воздействия (рис. 3.2.1а). При однократном введении  $^{90}\text{Sr}$  в минимальной концентрации (1,11 кБк/г) первичное краткосрочное снижение

клеточности костного мозга до 60% (1-е сут.) сменялось восстановлением показателя до уровня нормы.

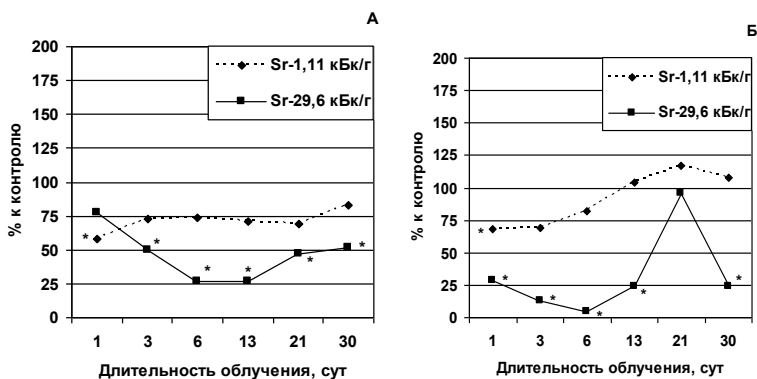


Рис. 3.2.1. Динамика клеточности (А) и концентрации КОЕс (Б) костного мозга мышей линии СВА в ранние сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Стойкое снижение данного показателя зафиксировано только при однократном введении  $^{90}\text{Sr}$  в саркомагенной концентрации: пик опустошения костного мозга приходится на 6–13-е сутки (25% от нормы); к концу наблюдения при суммарной дозе на красный костный мозг (ККМ) 12,57 Гр клеточность достигла уровня 52% от контроля.

Динамика численности стволовой популяции (КОЕс) костного мозга носила фазный характер (рис. 3.2.б), также определяемый параметрами радиационного воздействия. Минимальный повреждающий эффект облучения отмечен при внутреннем  $\beta$ -облучении в диапазоне суммарных доз на ККМ 0,04–0,47 Гр (1,11 kBк/г) – первичное снижение числа КОЕс на 30% от контроля уже на 6-е сутки исследования сменялось нормализацией показателя. Таким образом, при данной интенсивности  $\beta$ -облучения численность КОЕс со временем стабилизируется на исходном (1,11 kBк/г) уровне.

При саркомогенной концентрации  $^{90}\text{Sr}$  повреждение стволовой популяции костного мозга было более значительным, как по сравнению с другими режимами радиационного воздействия, так и по сравнению с состоянием клеточности данного органа – первичное опустошение стволовой популяции длилось 6 суток, концентрация КОЕс достигала критических значений (5% от контроля), последующая активная репопуляция привела к abortивному восстановлению числа КОЕс. Повторное снижение численности КОЕс на 30-е сутки, согласно F.F.G. Stevenson et.al [234], можно рассматривать как дозозависимую реакцию стволовых кроветворных клеток при однократном введении  $^{90}\text{Sr}$  в количестве от 93 до 592 кБк/животное. Таким образом, кинетика КОЕс костного мозга в диапазоне мощностей доз от 73,6 до 31,4 сГр/сут соответствует эффектам общего облучения в сублетальной дозе [64], так как исходная мощность дозы попадает в разряд лимитирующих доз для стволовой популяции кроветворных клеток [243].

Большой интерес представляет исследование реакции отдельных ростков кроветворения на уровне стволового пула при хроническом радиационном воздействии.

***Эритроидные КОЕс костного мозга.*** На рис. 3.2.2 представлены динамика численности и общей продуктивности эритроидных КОЕс костного мозга. Динамика численности эритроидных предшественников в 1-й опытной группе (1,11 кБк/г) носила неустойчивый колебательный характер – снижение числа эритроидных колоний неоднократно сменялось восстановлением их численности до уровня контрольных величин. Данный факт, в определенной степени, может отражать раздражающее действие радиации на популяцию эритроидных КОЕс, активный поиск нового стационарного состояния.

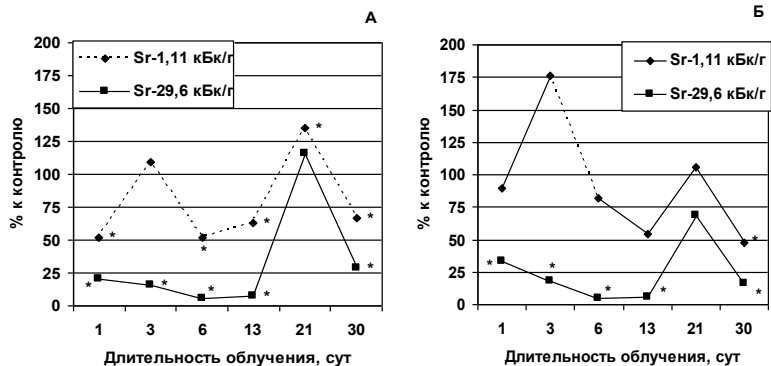


Рис. 3.2.2. Динамика концентрации (А) и общей продуктивности (Б) эритроидных КОЕс костного мозга мышей линии СВА в ранние сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Дисбаланс численности эритроидных предшественников (1-я группа) практически не отразился на общей продуктивности эритроидного ростка, значения которой на всем протяжении исследования находились в пределах контроля (рис. 3.2.2б).

При однократном введении  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 29,6 кБк/г динамика количества КОЕс, образующих эритроидные колонии совпадала с общей динамикой КОЕс – длительное глубокое опустошение (до 5%), абортный подъем и повторное снижение численности стволовых элементов. Депопуляция эритроидных КОЕс привела к стойкому снижению общей продуктивности эритроидных предшественников на всем протяжении исследования. Исключение составляют 20-е сутки, когда произошла нормализация исследуемого показателя вследствие активной репопуляции эритроидных КОЕс (рис. 3.2.2). Таким образом, в 1-й опытной группе (1,11 кБк/г) наблюдались скомпенсированность и временная активация эритропоэза на уровне стволового пула костного мозга; саркомогенная

концентрация  $^{90}\text{Sr}$  приводила к стойкой декомпенсации эритропоэза, начиная с первых суток радиационного воздействия.

Компенсаторно-приспособительные реакции в эритроидном ростке, направленные на поддержание эритропоэтической функции представлены на рис. 3.2.3. Во-первых, в обеих опытных группах зафиксировано усиление пролиферативных потенций КОЕс (скорости клеточной продукции). В зависимости от интенсивности радиационного воздействия данная реакция характеризовалась различной длительностью и степенью выраженности. Развитие данной реакции при  $\beta$ -облучении со снижающейся мощностью дозы шло с затуханием (рис. 3.2.3а). Таким образом, увеличение скорости клеточной продукции позволило скомпенсировать (нормализовать) эритропоэз на уровне стволового пула костного мозга в условиях низкоинтенсивного радиационного воздействия (1,11 кБк/г) в течение первой недели исследования. Неэффективность рассматриваемой компенсаторно-приспособительной реакции во 2-й группе (29,6 кБк/г) определяется глубоким опустошением популяции эритроидных предшественников. Возможно, дальнейшее усиление скорости клеточной продукции в данных условиях хронического радиационного воздействия (исходная мощность дозы – 0,71 Гр/сут, попадает в разряд лимитирующих для стволовой популяции кроветворных клеток) чревато накоплением нерепарируемых повреждений генома вследствие сокращения длительности клеточного цикла.

Статистически значимое снижение скорости клеточной продукции в популяции эритроидных КОЕс отмечено во всех опытных группах на 30-е сутки облучения. Данная реакция вполне оправдана с точки зрения повышения эффективности репарационных процессов в стволовых кроветворных клетках.

Увеличение доли эритроидных КОЕс в общем спектре реализуемых дифференцировочных потенций СКК не является характерной компенсаторной реакцией со стороны эритроидного ростка костного мозга (рис. 3.2.3б). Статистически значимое

увеличение доли эритроидных колоний в 1,6 раза выявлено на 3-и сутки после однократного введения  $^{90}\text{Sr}$  в минимальной концентрации (1,11 кБк/г). Интересно, что снижение доли эритроидных предшественников происходило, как правило, на фоне нормальной численности КОЕс (рис. 3.2.1б).

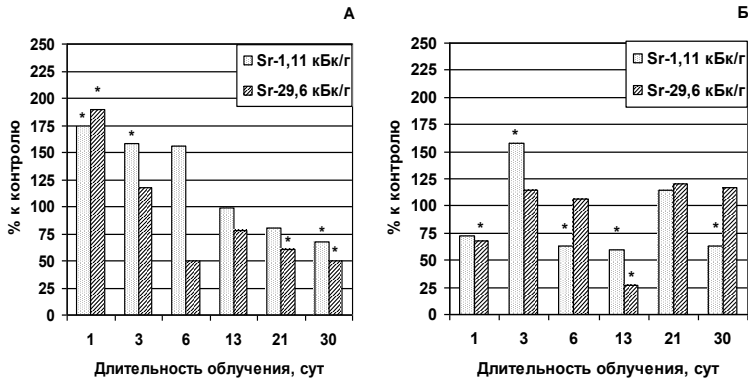


Рис. 3.2.3. Динамика скорости клеточной продукции (А) и доли (Б) эритроидных КОЕс костного мозга мышей линии СВА в ранние сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

**Гранулоцитарные КОЕс костного мозга.** На рис. 3.2.4. представлены динамика численности и общей продуктивности гранулоцитарных предшественников костного мозга. В 1-й опытной группе (1,11 кБк/г) численность гранулоцитарных предшественников стабильно поддерживалась на уровне Контрольных величин (1–21-е сут.) с гиперрегенерацией гранулоцитарного ростка на 30-е сутки исследования (суммарная доза на ККМ = 0,47 Гр). Динамика количества гранулоцитарных предшественников при однократном введении  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 29,6 кБк/г была сопоставима с изменениями общей численности КОЕс костного мозга и эритроидных предшественников, в частности.

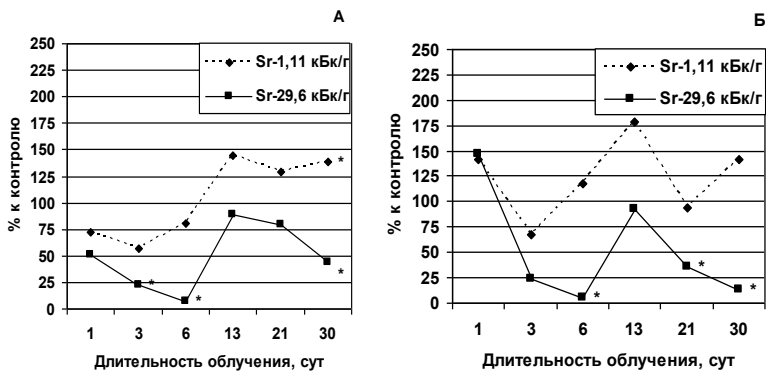


Рис. 3.2.4. Динамика концентрации (А) и общей продуктивности (Б) гранулоцитарных КОЕс костного мозга мышей линии СВА в ранние сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Если оценивать сохранность гранулоцитопоэза, исходя из общей продуктивности гранулоцитарных КОЕс, то можно констатировать декомпенсацию в гранулоцитарном ростке только при максимальной активности радионуклида (29,6 kBq/g), начиная с 6-х суток воздействия радиационного фактора, когда число гранулоцитарных колоний достигло критических значений – 7% от контроля (рис. 3.2.4б).

Для сохранения продукции клеток гранулоцитарной линии дифференцировки реализуется такая компенсаторно-приспособительная реакция как увеличение доли гранулоцитарных колоний в общем спектре реализуемых дифференцировочных потенций КОЕс костного мозга (рис. 3.2.5а). Данная компенсаторная реакция реализуется при достижении критических значений численности гранулоцитарных предшественников (29,6 kBq/g), что способствует временной нормализации продуктивности КОЕс, образующих гранулоцитарные колонии (13-е сут., суммарная доза на ККМ = 6,72 Гр). В целом, доля гранулоцитарных КОЕс является стабильным параметром, не снижающимся ни при одном из используемых режимов ра-

диационного воздействия в ранние сроки исследования (1–30-е сутки).

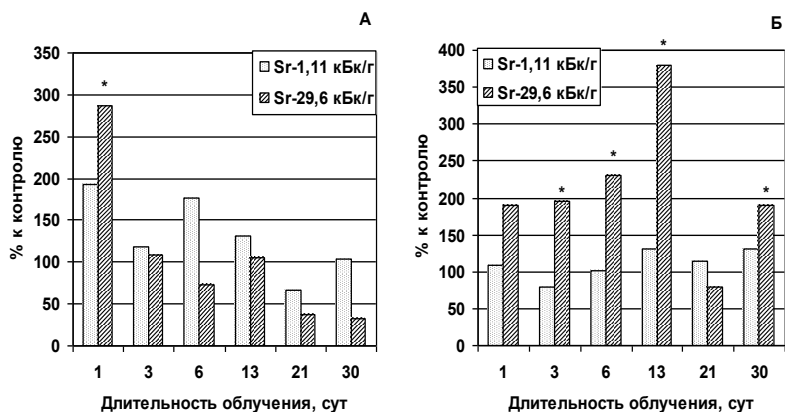


Рис. 3.2.6. Динамика скорости клеточной продукции (А) и доли (Б) гранулоцитарных КОЕс костного мозга мышей линии СВА в ранние сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Усиление скорости клеточной продукции в качестве компенсаторной реакции на фоне депопуляции КОЕс зафиксировано только при однократном введении  $^{90}\text{Sr}$  в саркомогенной концентрации (1-е сут., мощность дозы 0,74 Гр/сут), когда наблюдалось 4-кратное сокращение общей численности КОЕс и 2-кратное – гранулоцитарных предшественников (рис. 3.2.6б). Данная реакция способствовала сохранению общей продуктивности гранулоцитарных КОЕс в пределах контроля. При меньших дозовых нагрузках не происходило изменения параметров клеточного цикла гранулоцитарных предшественников.

**Мегакариоцитарные КОЕс костного мозга.** На рис. 3.2.7 представлены динамика численности и общей продуктивности мегакариоцитарных предшественников костного мозга. Временное снижение числа мегакариоцитарных колоний (до 30%



от нормы на третьи сутки) отмечено при низко интенсивном радиационном воздействии (1,11 кБк/г). При большей интенсивности воздействия радиационного фактора (29,6 кБк/г) происходило фазное изменение численности мегакариоцитарных предшественников (рис. 3.2.7а):

I фаза (1–6-е сут.) – происходила резкая депопуляция пула КОЕс, образующих мегакариоцитарные колонии (вплоть до полного исчезновения на 6-е сут.);

II фаза (6–30-е сут.) – наблюдалось abortивное восстановление и повторное опустошение популяции КОЕс, образующих мегакариоцитарные колонии.

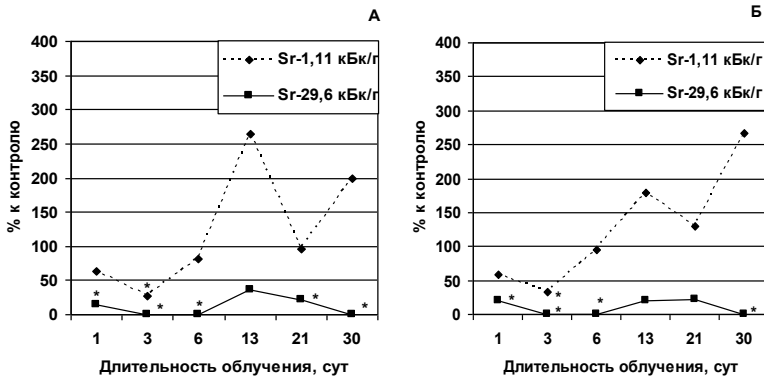


Рис. 3.2.7. Динамика концентрации (А) и общей продуктивности (Б) мегакариоцитарных КОЕс костного мозга мышей линии СВА в ранние сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Анализ динамики общего числа мегакариоцитов в колониях (рис. 3.2.7б) показал, что в условиях низко интенсивного  $\beta$ -облучения при суммарных дозах на ККМ 0,04–0,47 Гр мегакариоцитопозз полностью скомпенсирован, за исключением 3-х суток облучения, когда зафиксировано статистически значимое снижение количества мегакариоцитарных колоний до 32% от контрольных значений. При другом режиме радиационного воздействия (29,6 кБк/г) четко выражен процесс

декомпенсации мегакариоцитопоэза – общая продуктивность мегакариоцитарного ростка не превышала 20% от контроля. Интересен факт снижения продуктивности мегакариоцитарных предшественников костного мозга на третьи сутки облучения при всех используемых режимах облучения, степень выраженности этой реакции определялась интенсивностью воздействия радиационного фактора.

Полученные данные показали, что при использованных интенсивностях радиационного воздействия в ранние сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (1–30-е сут.) в мегакариоцитарном ростке костного мозга не запускаются механизмы компенсации, наблюдаемые в других ростках кроветворения – увеличение пролиферативного потенциала КОЕс (скорости клеточной продукции), доли колоний в общем спектре реализуемых дифференцировочных потенциалов стволовых кроветворных клеток. Основным компенсаторным механизмом в стволовом пуле мегакариоцитарного ростка костного мозга в ранние сроки хронического радиационного воздействия является репопуляция стволовых клеток.

***Полипотентные КОЕс костного мозга.*** На рис. 3.2.8. представлены динамика численности и общей продуктивности КОЕс костного мозга, формирующих смешанные колонии. Направленность и степень выраженности изменений числа смешанных колоний при всех используемых режимах воздействия радиационного фактора совпадает с динамикой общего числа КОЕс костного мозга и числа эритроидных колоний.

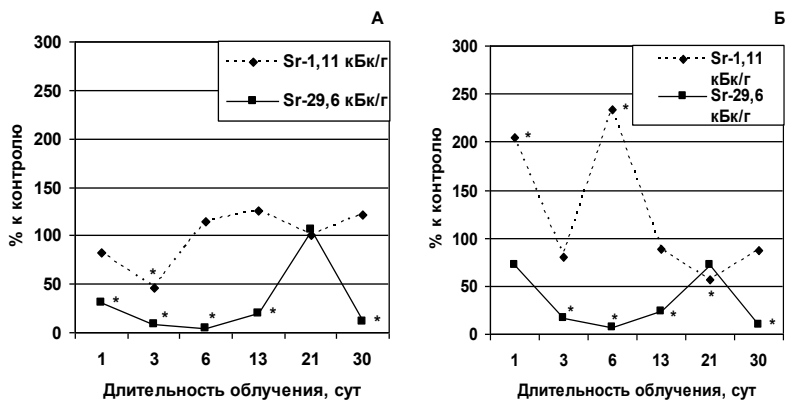


Рис. 3.2.8. Динамика концентрации (А) и общей продуктивности (Б) полипотентных КОЕс костного мозга мышей линии СВА в ранние сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Отличительная особенность КОЕс, образующих смешанные колонии, по сравнению с эритроидными предшественниками, проявляется в динамике общей продуктивности (рис. 3.2.8б) – поддержании общей продуктивности на уровне 200–230% от контроля в течение первой недели низко интенсивного  $\beta$ -облучения (1,11 кБк/г).

Увеличение скорости клеточной продукции в популяции полипотентных КОЕс выявлено при низко интенсивном  $\beta$ - облучении (1,11 кБк/г) в течение первой недели воздействия радиационного фактора (рис. 3.2.9а). По аналогии с эритроидным ростком интенсивность реализации данной компенсаторной реакции со временем при внутреннем облучении снижалась. Увеличение скорости клеточной продукции позволило скомпенсировать (нормализовать и даже временно активировать) кроветворение на уровне мало дифференцированной популяции СКК в 1-й опытной группе (1,11 кБк/г) в течение первой недели облучения.

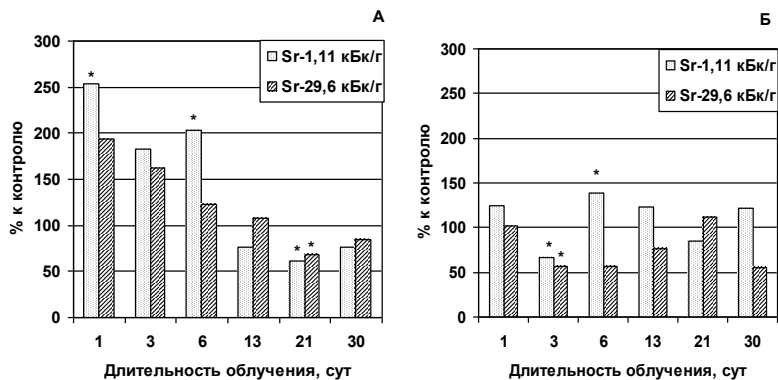


Рис. 3.2.9. Динамика скорости клеточной продукции (А) и доли (Б) полипотентных КОЕс костного мозга мышей линии СВА в ранние сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Изменение доли полипотентных КОЕс в общем спектре реализуемых дифференцировочных потенций СКК при низкоинтенсивном  $\beta$ -облучении (1,11 kBq/g) отражает, скорее всего изменение соотношения процессов пролиферации полипотентных КОЕс и их дифференцировки в эритроидном направлении. Временное снижение доли КОЕс, формирующих смешанные колонии, при введении саркомагенной концентрации  $^{90}\text{Sr}$  (3-и сут., суммарная доза 3,76 Гр) происходило в пользу гранулоцитарного роста.

### 3.3. Компенсаторно-приспособительные реакции, реализуемые в стволовом кроветворном пуле селезенки мышей линии СВА в ранние сроки (1–30-е сутки) хронического $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы

Динамика клеточности селезенки в ранние сроки хронического облучения представлена на рис. 3.3.1а. В 1-й опытной группе (1,11 kBq/g) в течение первого месяца хронического

радиационного воздействия клеточность поддерживалась в пределах физиологической нормы (суммарные дозы на селезенку составили 0,001–0,01 Гр).

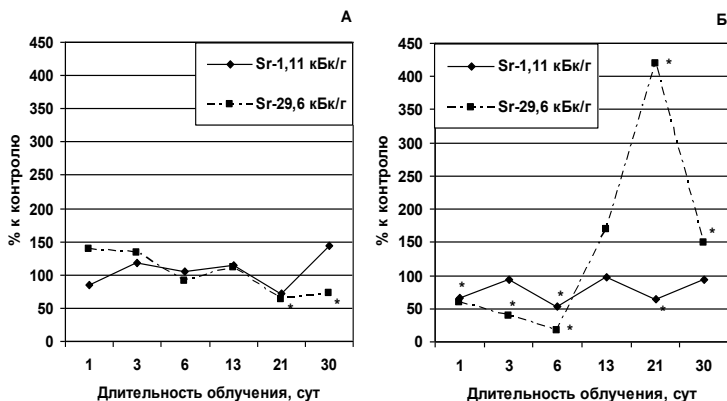


Рис. 3.3.1. Динамика клеточности (А) и концентрации КОЕс (Б) селезенки мышей линии СВА в ранние сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Статистически значимое снижение клеточности селезенки на 30–40% от контроля выявлено на 20–30-е сутки после однократного введения  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 29,6 кБк/г (суммарные дозы на селезенку составили 0,24–0,31 Гр). Данная реакция селезенки облученных животных носила разнонаправленный характер с динамикой клеточности костного мозга – в указанные сроки в костном мозге происходили репопуляционные процессы (рис. 3.2.1а).

Динамика концентрации КОЕс селезенки (рис. 3.3.1б) демонстрирует более высокую радиочувствительность популяции стволовых кроветворных клеток по сравнению с клеточностью селезенки. При низко интенсивном  $\beta$ -облучении (1,11 кБк/г) происходили циклические колебания численности КОЕс в

диапазоне 50–100% от уровня контрольных значений, отражающие поиск системой нового стационарного состояния в результате раздражающего действия ионизирующей радиации. При более интенсивном радиационном воздействии (29,6 кБк/г) изменения в численности КОЕс носили фазный характер:

I фаза – депопуляция стволового пула длилась по 6-е сутки включительно; глубина опустошения составила 16% от контроля;

II фаза – активная репопуляция стволовых кроветворных клеток с эффектом гиперрепопуляции КОЕс (суммарные дозы на селезенку 0,001–0,01 Гр).

С одной стороны, описанная фазность изменения численности КОЕс в селезенке совпадает с динамикой количества КОЕс в костном мозге облученных животных (рис. 3.2.1б); отличия состоят в более выраженных восстановительных процессах в стволовом пуле селезенки, что позволяет рассматривать реакцию селезенки прежде всего как компенсаторно-приспособительную в условиях преимущественного (повреждающего) воздействия на костный мозг.

**Эритроидные КОЕс селезенки.** При низко интенсивном  $\beta$ -облучении (1,11 кБк/г) происходило временное 3-кратное снижение численности эритроидных КОЕс (6-е сутки) (рис. 3.3.3а). После однократного введения  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 29,6 кБк/г в динамике концентрации эритроидных предшественников селезенки наблюдалась та же фазность процессов поражения – восстановления, что и в костномозговой популяции эритроидных КОЕс: первичное опустошение, гиперрепопуляция стволовых клеток и повторное снижение их численности (рис. 3.2.2а). Надо отметить, что, в отличие от костного мозга, для популяции эритроидных КОЕс селезенки при данном режиме облучения характерно менее выраженное опустошение и более эффективная репопуляция. Данные факты отражают как меньшую дозовую нагрузку на селезенку, так и возможность развертывания компенсаторных реакций в селезенке облученных животных в ответ на повреждение костномозгового кроветворения.

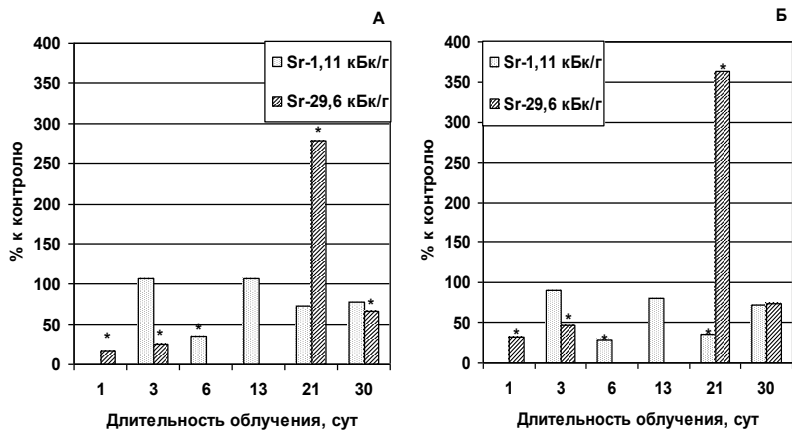


Рис. 3.3.3. Динамика концентрации (А) и общей продуктивности (Б) эритроидных КОЕс селезенки мышей линии СВА в ранние сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Временная, сопоставимая по величине декомпенсация эритропоэтической функции на уровне стволового пула селезенки не зависела от интенсивности  $\beta$ -облучения (рис. 3.3.3б). Состояние декомпенсации эритропоэза сменялось нормализацией (1,11 кБк/г) или гиперкомпенсацией (29,6 кБк/г) данной функции. При этом в условиях низкоинтенсивного  $\beta$ -облучения (1,11 кБк/г) декомпенсация носила отсроченный характер, а компенсаторные процессы характеризовались меньшей интенсивностью, чем при однократном введении радионуклида в концентрации 29,6 кБк/г.

Наряду с активной репопуляцией в популяции эритроидных предшественников селезенки, как и в костном мозге, во 2-й опытной группе запускается механизм срочной компенсации депопуляции СКК – изменение скорости клеточной продукции КОЕс (рис. 3.3.4а, 3.2.3а). В селезенке данная реакция по интенсивности была вполне сопоставима с ситуацией в костном мозге, но более длительной по времени реализации (по 13-е сутки

включительно). В отличие от костного мозга, увеличение скорости клеточной продукции в популяции эритроидных КОЕс селезенки не сменялось снижением данного показателя.

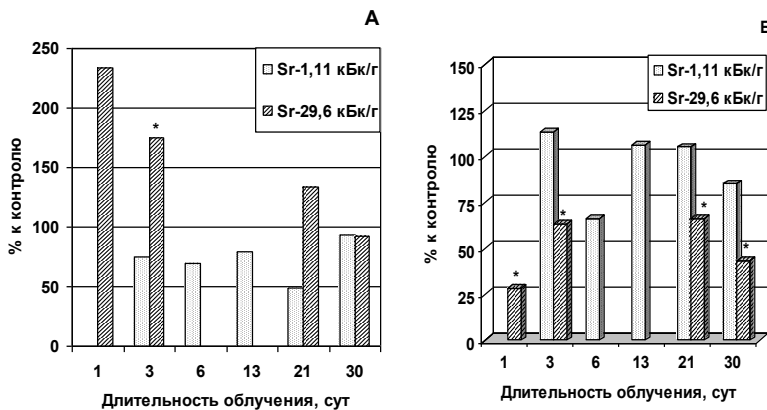


Рис. 3.3.4. Динамика скорости клеточной продукции (А) и доли (Б) эритроидных КОЕс селезенки мышей линии СВА в ранние сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Следует отметить, что недостаточная интенсивность и, возможно, длительность реализации указанной компенсаторной реакции во 2-й экспериментальной группе (29,6 кБк/г), как и в случае с костным мозгом, не позволили скомпенсировать 4–5-кратное снижение численности эритроидных предшественников в селезенке облученных мышей.

Низко интенсивное внутреннее облучение со снижающейся мощностью дозы (1,11 кБк/г, суммарные дозы на селезенку 0,001–0,01 Гр), не смотря на преходящее 3-кратное сокращение численности эритроидных предшественников, не стимулирует их пролиферативные потенции КОЕс. Данный факт подтверждает наличие дозового порога в реализации компенсаторно-приспособительных реакций в стволовом клеточном пуле.

При используемых интенсивностях радиационного воздействия в селезенке, как и в костном мозге, в ранние сроки



облучения (1–30-е сут.) в условиях депопуляции не происходит увеличения доли эритроидных КОЕс в общем спектре реализуемых дифференцировочных потенций СКК (рис. 3.3.2). Наоборот наблюдается сокращение дифференцировочных потенций СКК в эритроидном направлении (рис. 3.2.2б).

**Гранулоцитарные КОЕс селезенки.** После однократного введения  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 1,11 кБк/г (суммарные дозы на селезенку составили 0,001–0,01 Гр) численность и общая продуктивность гранулоцитарных КОЕс сохранялись в пределах физиологической нормы в течение первого месяца облучения (рис. 3.3.5). Саркомогенная концентрация вводимого радионуклида вызывала временное 3-кратное снижение концентрации гранулоцитарных предшественников на третьи сутки исследования (суммарная доза на селезенку составила 0,05 Гр). Данная реакция селезенки вполне сопоставима по срокам и степени выраженности с реакцией костного мозга (суммарная доза на ККМ составила 2,24 Гр) (рис. 3.2.4а). В дальнейшем, в отличие от костного мозга, где наблюдалась временная нормализация численности гранулоцитарных КОЕс (13–21-е сутки), в селезенке отмечена гиперрепопуляция гранулоцитарных предшественников (21–30-е сут.).

Таким образом, при используемых интенсивностях радиационного воздействия в течение первого месяца исследования не выявляется декомпенсации общей продуктивности гранулоцитарного ростка на уровне стволового пула селезенки (рис. 3.3.5б). Активацию гранулоцитопоеза на 21-е сутки после однократного введения  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 29,6 кБк/г следует рассматривать как компенсаторно-приспособительную в условиях снижения общей продуктивности популяции гранулоцитарных КОЕс в костном мозге (6, 21, 30-е сут.) (рис. 3.2.4б).

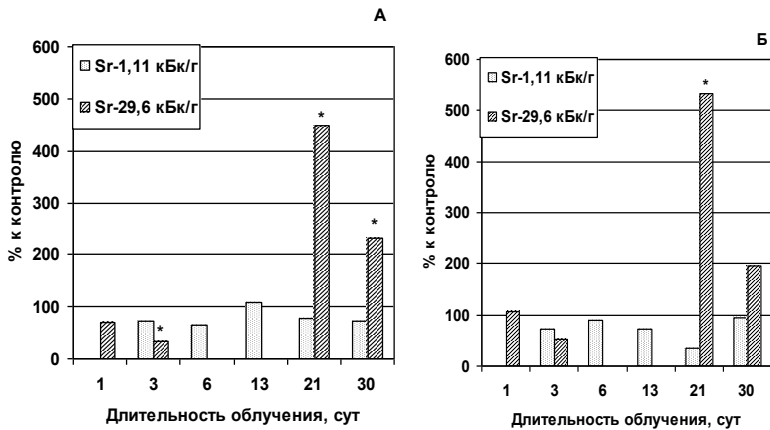


Рис. 3.3.5. Динамика концентрации (А) и общей продуктивности (Б) гранулоцитарных КОЕс селезенки мышей линии СВА в ранние сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

В ранние сроки хронического радиационного воздействия (1–30-е сут.) в популяции гранулоцитарных КОЕс селезенки, в отличие от костного мозга, не происходило статистически значимых изменений параметров клеточного цикла (рис. 3.3.6 и 3.2.6б). Скорость клеточной продукции гранулоцитарных КОЕс, как и доля этих предшественников в общем спектре реализуемых дифференцировочных потенций СКК селезенки (рис. 3.3.2), оставались в пределах физиологической нормы до накопления суммарных доз на селезенку порядка 0,25 Гр. На 30-е сутки после однократного введения  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 29,6 кБк/г (суммарная доза на селезенку составила 0,31 Гр) наблюдалось увеличение в 1,6 раза доли гранулоцитарных предшественников, что способствовало поддержанию нормальной продуктивности гранулоцитарных КОЕс.

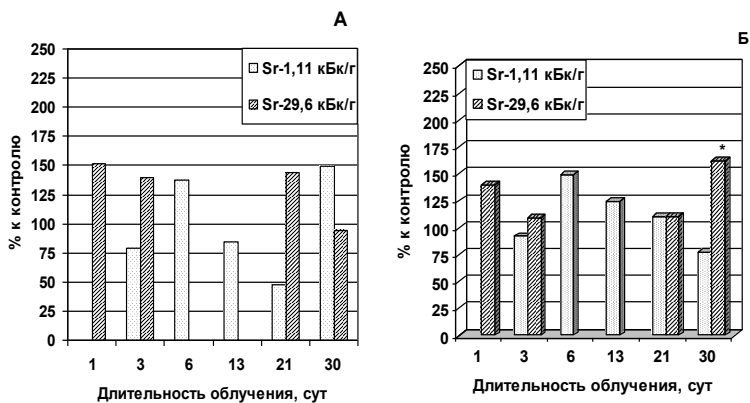


Рис. 3.3.6. Динамика скорости клеточной продукции (А) и доли (Б) гранулоцитарных КОЕс селезенки мышей линии СВА в ранние сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

**Мегакариоцитарные КОЕс селезенки.** В условиях минимальной радиационной нагрузки (1,11 кБк/г) в селезенке облученных мышей численность мегакариоцитарных КОЕс сохранялась в пределах контрольных значений до 21-х суток исследования (рис. 3.3.7а). На 30-е сутки низко интенсивного  $\beta$ -облучения выявлена гиперрепопуляция, отражающая накопление в селезенке кроветворных предшественников мегакариоцитарной линии дифференцировки. Аналогичная тенденция отмечена и в костном мозге на 13-е и 30-е сутки после введения радионуклида (рис. 3.2.7а).

Введение  $^{90}\text{Sr}$  в саркомогенной концентрации (29,6 кБк/г) приводило к фазному изменению численности мегакариоцитарных предшественников в селезенке облученных мышей: временное опустошение (до 17% на 3-и сут.) сменялось гиперрепопуляцией (500–450% на 21–30-е сут.).

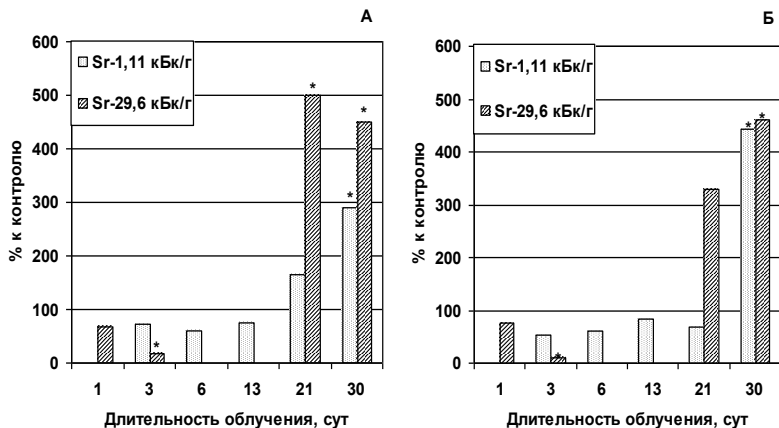


Рис. 3.3.7. Динамика концентрации (А) и общей продуктивности (Б) мегакариоцитарных КОЕс селезенки мышей линии СВА в ранние сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

В течение первых двух недель облучения во 2-й экспериментальной группе (29,6 kBq/g) на фоне депопуляции выявлено статистически значимое снижение общей продуктивности мегакариоцитарного ростка на уровне стволового пула селезенки мышей (рис. 3.3.7б). Явление декомпенсации мегакариоцитопоэза в селезенке соответствует динамике общей продуктивности популяции мегакариоцитарных предшественников в костном мозге (1–13-е сут.) (рис. 3.2.2б).

Разнонаправленность реакций популяций мегакариоцитарных предшественников костного мозга и селезенки отчетливо проявляется во 2-й опытной группе (29,6 kBq/g) на 30-е сутки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (рис. 3.3.7б и 3.2.7б), когда в селезенке облученных животных происходит активация мегакариоцитопоэза. В условиях менее интенсивного  $\beta$ -облучения (1,11 kBq/g) реакция мегакариоцитарных КОЕс в костном мозге и селезенке носит практически однонаправленный характер.

Динамика пролиферативных потенций мегакариоцитарных КОЕс селезенки представлена на рис. 3.3.8. Временное 2-кратное снижение скорости клеточной продукции в популяции мегакариоцитарных КОЕс на фоне сокращения их численности, выявленное во 2-й опытной группе (29,6 кБк/г) на 3-и сутки исследования, совпадает с минимальными значениями продуктивности мегакариоцитарного ростка (рис. 3.3.7б).

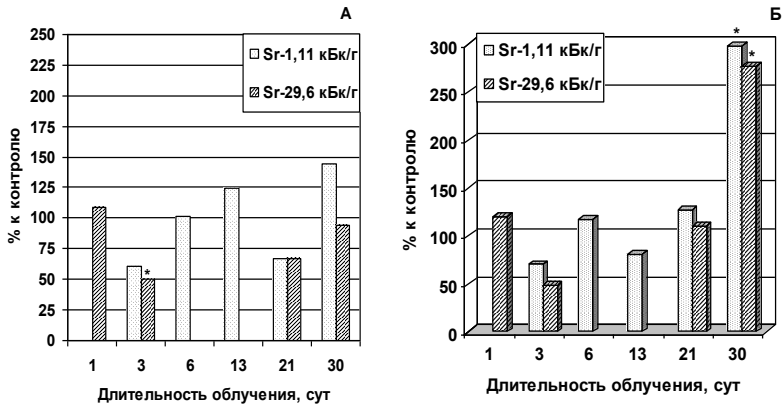


Рис. 3.3.8. Динамика скорости клеточной продукции (А) и доли (Б) мегакариоцитарных КОЕс селезенки мышей линии СВА в ранние сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Увеличение доли мегакариоцитарных предшественников селезенки (до 300% от нормы) в общем спектре реализуемых дифференцировочных потенций СКК облученных мышей отмечено только на 30-е сутки  $\beta$ -облучения.

Таким образом, при неравномерном  $\beta$ -облучении со снижающейся мощностью дозы в селезенке облученных животных выявлены процессы накопления мегакариоцитарных предшественников и усиления их общей клеточной продукции. Причем данную реакцию селезенки в условиях низкоинтенсивного  $\beta$ -облучения (1,11 кБк/г) можно рассматривать скорее не как системную компенсаторную реакцию в условиях

преимущественного облучения костного мозга, а как стимулирующий эффект малых доз и интенсивностей ионизирующей радиации.

**Полипотентные КОЕс селезенки.** Отсутствие снижения численности полипотентных КОЕс в селезенке облученных мышей отражает меньшую, в отличие от коммитированных кроветворных предшественников, радиочувствительность полипотентных КОЕс селезенки по сравнению с костным мозгом (рис. 3.3.9а и 3.2.8а). Как и в случае эритроидных, гранулоцитарных и мегакариоцитарных предшественников на 20–30-е сутки после введения саркомогенной концентрации  $^{90}\text{Sr}$  в селезенке мышей происходит накопление полипотентных КОЕс.

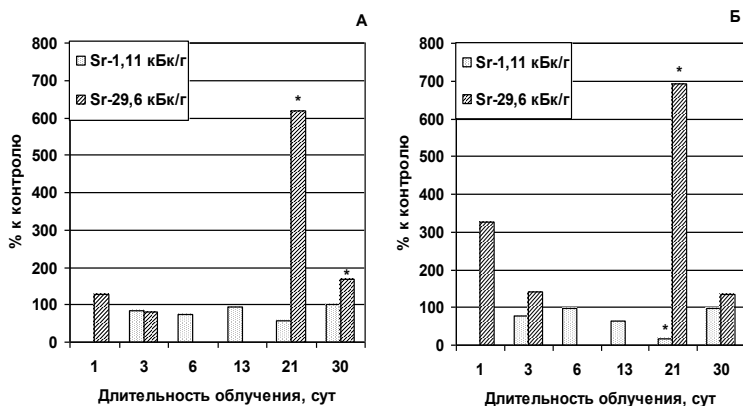


Рис. 3.3.9. Динамика концентрации (А) и общей продуктивности (Б) полипотентных КОЕс селезенки мышей линии СВА в ранние сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Усиление общей клеточной продукции в популяции полипотентных КОЕс селезенки (700% от контроля) на 21-е сутки после однократного введения  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 29,6 kBк/г можно рассматривать как компенсаторно-приспособительную реакцию в условиях подавления функциональной активности СКК в костном мозге облученных животных.

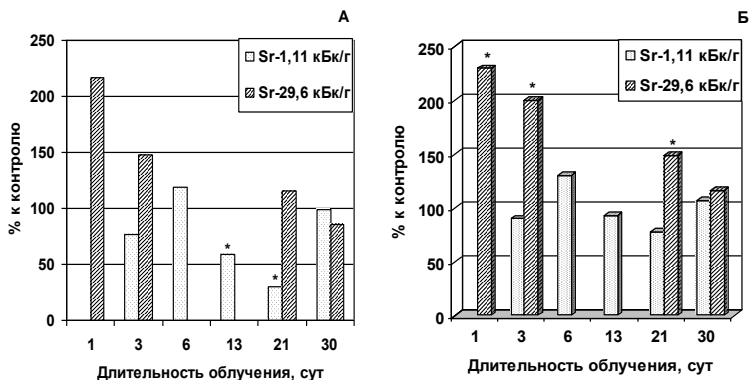


Рис. 3.3.10. Динамика скорости клеточной продукции (А) и доли (Б) полипотентных КОЕс селезенки мышей линии СВА в ранние сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Динамика пролиферативных потенциалов полипотентных КОЕс селезенки представлена на рис. 3.3.10. Интересным является факт снижения скорости клеточной продукции в популяции полипотентных КОЕс на 21-е сутки низко интенсивного  $\beta$ -облучения (1,11 kBq/g), что отразилось в снижении общей клеточной продукции в этой популяции кроветворных клеток. Аналогичная, хотя и менее выраженная, реакция со стороны полипотентных СКК выявлена и для костного мозга (рис. 3.2.86).

### 3.4. Роль миграции стволовых кроветворных клеток в компенсаторно-приспособительных реакциях, реализуемых в стволовом кроветворном пуле костного мозга и селезенки мышей линии СВА в ранние сроки (1–30-е сутки) хронического $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы

В условиях низко интенсивного внутреннего  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (1,11 kBq/g) клеточность крови колебалась в пределах 50–225%, с максимумом на 13-е сутки

исследования (рис. 3.4.1а). Статистически значимое снижение данного показателя зафиксировано при однократном введении  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 29,6 кБк/г на 6, 13 и 30-е сутки облучения, т.е. после достижения критических значений клеточности костного мозга (25% от контроля, 6–13-е сут.). Начиная с 21-х суток хронического  $\beta$ -облучения динамика клеточности крови носила однонаправленный характер в обеих опытных группах животных вне зависимости от интенсивности радиационного воздействия.

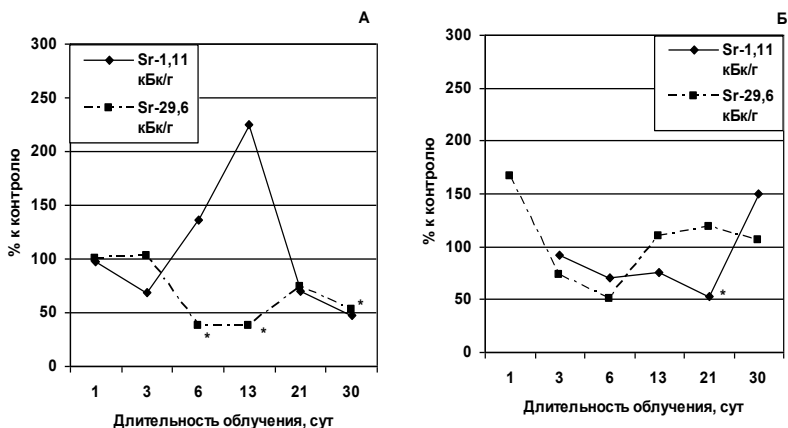


Рис. 3.4.1. Динамика клеточности (А) и концентрации КОЕс (Б) периферической крови мышей линии СВА в ранние сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Динамика концентрации КОЕс в периферической крови характеризуется фазностью развития процессов поражения и восстановления (рис. 3.4.1б):

I фаза – отражает снижение численности мигрирующих КОЕс до 50% от контрольных значений;

II фаза – демонстрирует восстановление численности мигрирующих КОЕс до уровня физиологической нормы

Интенсивность радиационного воздействия определяла лишь сроки реализации радиационно-индуцированных процессов



поражения – восстановления кроветворной функции на уровне популяции мигрирующих СКК. Так, после однократного введения радионуклида в концентрации 29,6 кБк/г численность мигрирующих КОЕс достигала минимальных значений на 2 недели раньше, чем при низко интенсивном  $\beta$ -облучении (6-е и 21-е сут. соответственно). Интересно, что глубина опустошения популяции мигрирующих КОЕс была одинаковой несмотря на значительные различия в суммарных накопленных дозах на ККМ – 3,76 Гр (29,6 кБк/г) и 0,36 Гр (1,11 кБк/г) и мощностях доз – 47 сГр/сут и 1,29 сГр/сут соответственно. И если в первом случае (29,6 кБк/г) минимальные значения количества мигрирующих КОЕс совпали с достижением критических значений концентрации СКК в костном мозге и селезенке (5% и 16% от контроля соответственно), то во втором случае (1,11 кБк/г) – с нормальной численностью СКК в костном мозге облученных животных. Данные факты позволяют предположить наличие механизмов регуляции миграции КОЕс, приводящие к ограничению миграции СКК с целью сохранения их численности в костном мозге и селезенке облученных животных.

***Эритроидные КОЕс периферической крови.*** Статистически значимое 3-кратное снижение числа мигрирующих эритроидных КОЕс выявлено на 21-е сутки после однократного введения  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 1,11 кБк/г (рис. 3.4.3а). В это время в костномозговой популяции эритроидных предшественников была зафиксирована abortивная гиперрепопуляция. К 30-м суткам, когда в костном мозге происходит повторное снижение численности эритроидных предшественников, в крови четко прослеживается тенденция к усилению миграции эритроидных КОЕс – увеличивается число и доля мигрирующих КОЕс указанного направления дифференцировки. Динамика численности мигрирующих эритроидных КОЕс после введения саркомогенной концентрации радионуклида в целом совпадает с фазными изменениями концентрации эритроидных предшественников в костном мозге (рис. 3.2.2а).

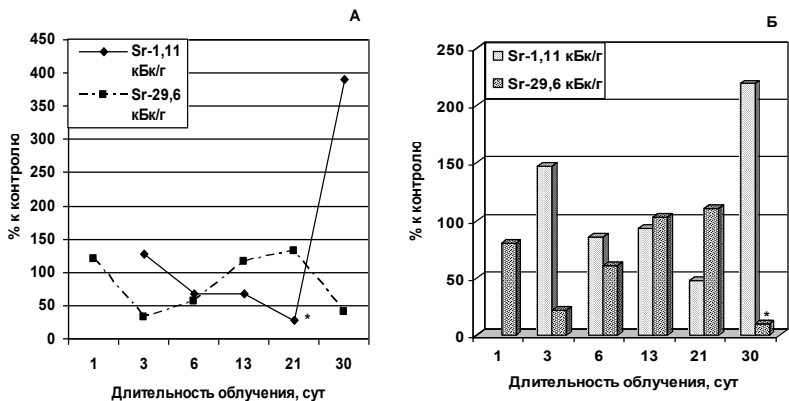


Рис. 3.4.3. Динамика концентрации (А) и доли (Б) эритроидных КОЕс в периферической крови мышей линии СВА в ранние сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Таким образом, динамика миграции эритроидных КОЕс отражает состояние популяции эритроидных предшественников в костном мозге. Разнонаправленность динамики эритроидных КОЕс костного мозга и периферической крови на 20–30-е сутки низко интенсивного  $\beta$ -облучения отражает накопление эритроидных предшественников в костном мозге и последующее активное их перераспределение в гемопозитической системе. Гиперрепопуляция эритроидных КОЕс в селезенке облученных животных на 20-е сутки после введения  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 29,6 кБк/г, скорее всего, была обусловлена активацией пролиферации собственных СКК.

**Гранулоцитарные КОЕс периферической крови.** Динамика миграции гранулоцитарных КОЕс носила неустойчивый колебательный характер (в пределах границ физиологической нормы) вне зависимости от интенсивности радиационного воздействия (рис. 3.4.4). Сроки и диапазоны колебаний численности мигрирующих гранулоцитарных КОЕс вполне сопоставимы в обеих экспериментальных группах.

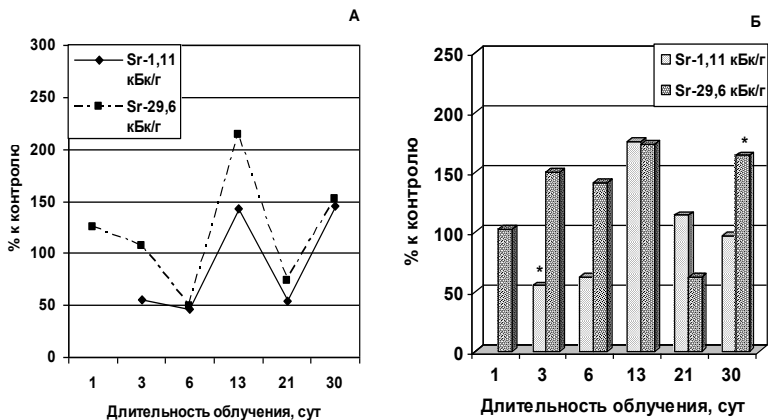


Рис. 3.4.4. Динамика концентрации (А) и доли (Б) гранулоцитарных КОЕс в периферической крови мышей линии СВА в ранние сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

В условиях интенсивного радиационного воздействия (29,6 кБк/г) первый минимум в миграции гранулоцитарных КОЕс (6-е сут.) совпал с достижением критических значений численности (7% от контроля) гранулоцитарных предшественников в костном мозге; второй минимум (21-е сут.) был связан с нормализацией гранулоцитопоэза в костном мозге и его активацией в селезенке облученных животных. Статистически значимое увеличение доли мигрирующих КОЕс гранулоцитарной линии дифференцировки на 30-е сутки облучения отражает, скорее всего, активацию перераспределения этих КОЕс в гемопоэтической системе (рис. 3.4.4б).

Следовательно, изменение интенсивности миграции гранулоцитарных КОЕс, как и в случае с эритроидными КОЕс, отражает состояние стволового кроветворного пула костного мозга и может способствовать как сохранению численности СКК данного направления дифференцировки в пределах костного мозга и селезенки, так и их активному перераспределению.

### Мегакариоцитарные КОЕс периферической крови.

Динамика миграции мегакариоцитарных КОЕс в обеих опытных группах носила фазный характер: снижение численности мигрирующих мегакариоцитарных предшественников сменялось ее восстановлением до уровня физиологической нормы (рис. 3.4.5).

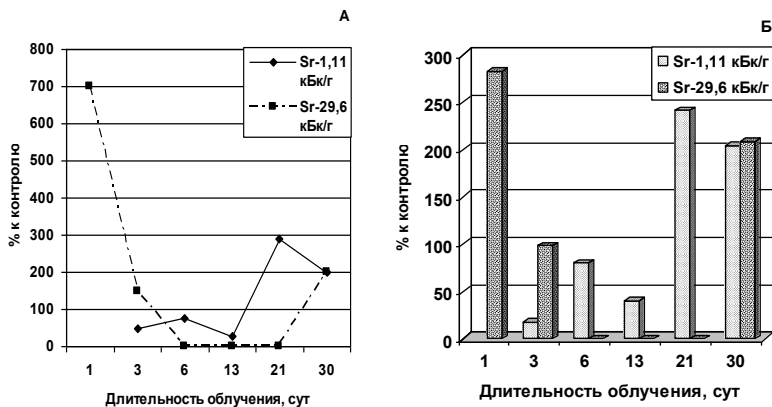


Рис. 3.4.5. Динамика концентрации (А) и доли (Б) мегакариоцитарных КОЕс в периферической крови мышей линии СВА в ранние сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Отличительные особенности миграционных процессов в 1-й (1,11 кБк/г) и 2-й (29,6 кБк/г) экспериментальных группах, определяемые интенсивностью радиационного воздействия, заключались в степени сокращения миграции (27% и 0% соответственно) и сроках достижения (13-е и 6-е сут. соответственно) минимальных значений численности мигрирующих мегакариоцитарных КОЕс. «Запрет на миграцию» мегакариоцитарных КОЕс (6–21-е сут.), реализуемый в условиях полного опустошения популяции мегакариоцитарных предшественников в костном мозге (3–6-е сут.) (рис. 3.2.7а), можно рассматривать как компенсаторно-приспособительную реакцию, направленную на поддержание численности мегакариоцитарных КОЕс в костном мозге. В этой ситуации активация мегакариоцитопоэза в

селезенке (20–30-е сут.) является системной компенсаторно-приспособительной реакцией в условиях подавления мегакариопоэза в костном мозге, реализуемой за счет активации собственных СКК.

**Полипотентные КОЕс периферической крови.** Численность мигрирующих полипотентных КОЕс колебалась в пределах контрольных значений в течение первого месяца  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (рис. 3.4.6).

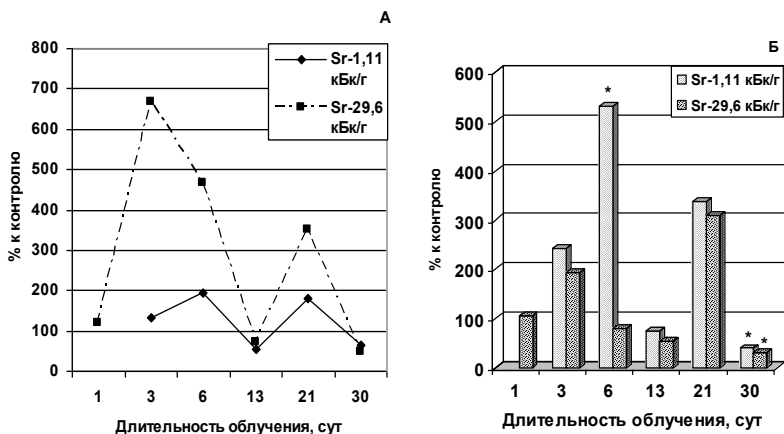


Рис. 3.4.6. Динамика концентрации (А) и доли (Б) полипотентных КОЕс в периферической крови мышей линии СВА в ранние сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Более выраженная динамика миграционных процессов отмечена после введения стронция в концентрации 29,6 кБк/г. Первый максимум миграции (3–6-е сут.) совпал с депопуляцией полипотентных КОЕс в костном мозге (4–9% от уровня нормы), второй максимум (21-е сут.) – с abortивным восстановлением их численности (рис. 3.2.8а), что отражает активное перераспределение полипотентных КОЕс в ранние сроки (1–20-е сутки) хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы, особенно при подавлении активности полипотентных КОЕс

в костном мозге. Нормализация численности полипотентных КОЕс в костном мозге и их гиперрепопуляция в селезенке (20-е сут.) сопровождаются сокращением численности и доли мигрирующих полипотентных предшественников на 30-е сутки исследования (рис. 3.4.6).

Таким образом, миграция КОЕс в ранние сроки хронического радиационного воздействия отражает, прежде всего, состояние костномозгового кроветворения. Можно выделить две тенденции в миграционных процессах, отражающие компенсаторно-приспособительные реакции: усиление миграции с целью перераспределения кроветворных предшественников и «задержку/запрет» миграции КОЕс с целью сохранения/накопления кроветворных предшественников в костном мозге. Гиперрепопуляция СКК в селезенке облученных животных (20–30-е сут.) в условиях нормальной или сокращенной миграции КОЕс, скорее всего, обусловлена усилением пролиферативной активности собственных стволовых клеток.

**Резюме.** Анализ продуктивности исследуемых популяций стволовых кроветворных клеток как интегрального показателя кроветворной функции на уровне стволового пула выявил следующие компенсаторные возможности ростков кроветворения. Стойкая декомпенсация во всех ростках кроветворения выявлена при однократном введении  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 29,6 кБк/г. При низко интенсивном радиационном воздействии (1,11 кБк/г) единственным кроветворным ростком, продуктивность которого в стволовом пуле костного мозга стабильно поддерживалась на уровне контрольных значений в течение первого месяца исследования, был гранулоцитарный росток. Продуктивность КОЕс, формирующих колонии эритроидного типа, также длительно соответствовала норме, однако к 30-м суткам облучения общий объем колоний при тестировании КОЕс костного мозга снижался в 2 раза (29,6 кБк/г). Таким образом, исходя из того, что степень выраженности ответных реакций является показателем чувствительности к воздействию лучевого фактора [56], по совокупности исследуемых параметров на уровне стволового пула костного мозга наименее радиопора-

жаемыми оказались гранулоцитарный и эритроидный ростки кроветворения.

Наибольшее угнетение испытывал мегакариоцитарный росток, о чем свидетельствует более длительное и глубокое опустошение популяции мегакариоцитарных предшественников, стойкая декомпенсация общей продуктивности ростка (29,6 кБк/г). Данный кроветворный росток оставался полностью скомпенсированным только при низко интенсивном  $\beta$ -облучении со снижающейся мощностью дозы. Полученные результаты противоречат положению об относительно низкой радиочувствительности КОЕс мегакариоцитарной линии дифференцировки и тромбоцитов периферической крови [161, 108]. Можно предположить, что реализуемый не в полном объеме мегакариоцитопоз на уровне стволового пула костного мозга, скорее всего, компенсируется в пуле морфологически дифференцированных предшественников. Показано, что ранней реакцией адаптации к повышенной потребности в тромбоцитах является *увеличение* плоидности мегакариоцитов, так как дополнительный цикл эндорепродукции может усилить образование тромбоцитов быстрее, чем активация митозов СКК [172]. Это дает возможность предположить буферную роль мегакариоцитарных предшественников в условиях первичной депопуляции стволового кроветворного пула, способствующую снижению конкуренции между кроветворными ростками.

### **3.5. Системный анализ адекватности компенсаторно-приспособительных реакций в стволовом кроветворном пуле при однократном введении $^{90}\text{Sr}$ в концентрации 29,6кБк/г**

*Эритроидный росток.* Динамика численности КОЕс, пролиферативного и созревающего пулов эритроидного ростка костного мозга и мигрирующих эритроидных КОЕс носила фазный характер (рис. 3.5.1).

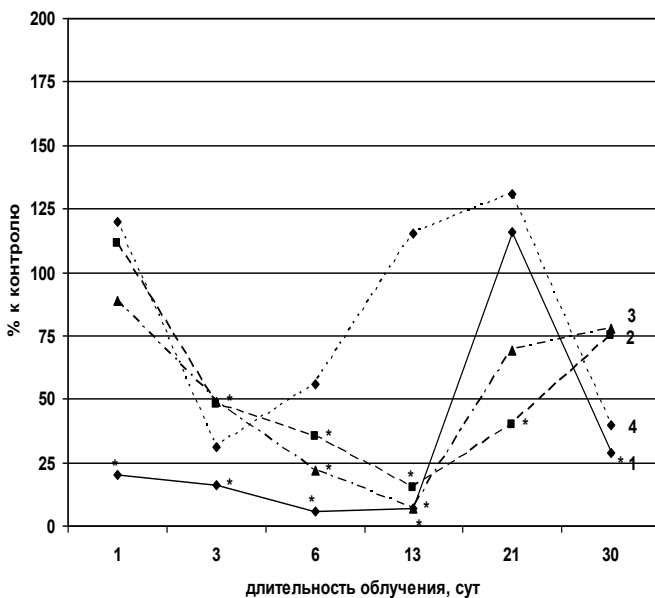


Рис. 3.5.1. Динамика численности КОЕс (1), пролиферативного пула<sup>Δ</sup> (2), созревающего пула<sup>Δ</sup> (3) эритроидного ростка костного мозга и КОЕс периферической крови (4) эритроидного направления дифференцировки (\* –  $p \leq 0,05$ )

Примечание: <sup>Δ</sup> – данные получены канд. биол. наук Е.А. Пряхиным [109]

Первая фаза (1–13-е сут.) характеризуется депопуляцией эритроидных клеток. Максимальная степень опустошения (6–7% от контрольных значений) выявлена в стволовом (КОЕс) и созревающем пулах эритроидного ростка, что, возможно, определяется ускоренной дифференцировкой данных клеточных элементов на фоне снижения их пролиферативной активности (радиационный «блок» и модификация клеточного цикла) и клеточной гибели. Снижение количества мигрирующих



эритроидных КОЕс было более кратковременным (1–3-и сут.) и менее выраженным (до 31%).

Вторая фаза отражает процесс активной репопуляции эритроидного ростка в костном мозге и нормализацию всех исследуемых параметров кроветворения. Как видно из рисунка, скорость и уровень репопуляции были выше в стволовом кроветворном пуле (КОЕс). Данный радиационный эффект в стволовом пуле костного мозга мог быть обусловлен реализацией «запрета на дифференцировку» при достижении критического значения численности эритроидных КОЕс. В дальнейшем в популяциях эритроидных предшественников костного мозга и периферической крови выявлена третья фаза – повторное снижение численности КОЕс на 30-е сутки исследования (до 29% и 40% от контроля соответственно). Разнонаправленная динамика численности эритроидных КОЕс костного мозга и клеток последующих этапов дифференцировки на 30-е сутки  $\beta$ -облучения позволяет констатировать повторную активацию выхода стволовых клеток в дифференцировку с целью нормализации количественного клеточного гомеостаза в эритроидном ростке кроветворения.

Таким образом, направленность и степень выраженности изменений численности эритроидных КОЕс и клеток последующих этапов дифференцировки позволяет констатировать первоочередную роль стволового пула в компенсаторно-приспособительных реакциях эритроидного ростка костного мозга в ранние сроки интенсивного внутреннего  $\beta$ -облучения (исходная мощность дозы 73,6 сГр/сут, суммарные дозы на ККМ в диапазоне 0,98–12,57 Гр).

**Гранулоцитарный росток.** Динамика численности КОЕс, пролиферативного и созревающего пулов гранулоцитарного ростка костного мозга и мигрирующих гранулоцитарных предшественников в целом совпадала с динамикой клеточных элементов эритроидного направления дифференцировки (рис. 3.5.2). Отличительные особенности касаются степени

выраженности и сроков наступления отдельных фаз и соответствующих им процессов депопуляции и репопуляции.

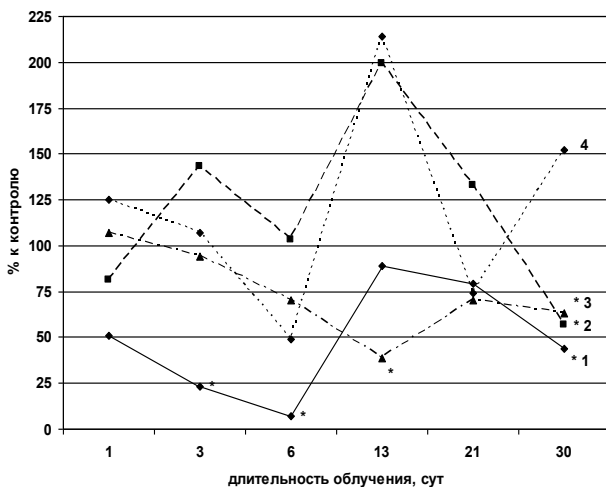


Рис. 3.5.2. Динамика численности КОЕс (1), пролиферативного пула<sup>Δ</sup> (2), созревающего пула<sup>Δ</sup> (3) гранулоцитарного ростка костного мозга и КОЕс периферической крови (4) гранулоцитарного направления дифференцировки (\* –  $p \leq 0,05$ )

Примечание: <sup>Δ</sup> – данные получены канд. биол. наук Е.А. Пряхиным [109]

Обращает на себя внимание асинхронность в достижении минимальных и максимальных значений численности гранулоцитарных клеточных популяций различной степени дифференцировки, например, 6-е и 13-е сутки для КОЕс и созревающего пула. Численность делящегося пула на протяжении всего срока исследования колебалась в пределах контрольных значений. Разнонаправленность динамики числа клеток в делящемся пуле с динамикой численности гранулоцитарных КОЕс (1–3-и сут.) и численности созревающего пула (1–13-е сут.) позволяет предположить не только компенсирующий выход в дифференцировку КОЕс на фоне их депопуляции (как и в эритроидном ростке), но и замедление последующих процессов

созревания в гранулоцитарном ростке. Эффект разобщения процессов пролиферации и созревания клеточных элементов дает возможность осуществлять дополнительные циклы репродукции клеток [43].

Таким образом, в ранние сроки интенсивного внутреннего  $\beta$ -облучения ( $^{90}\text{Sr}$ -29,6кБк/г) с целью поддержания клеточного гомеостаза в гранулоцитарном ростке кроветворения наряду с компенсаторно-приспособительными реакциями на уровне стволового пула костного мозга (КОЕс) реализуются дополнительные механизмы компенсации, затрагивающие клеточные популяции последующих этапов дифференцировки.

**Мегакариоцитарный росток.** В ранние сроки (1–30-е сутки) после однократного введения мышам линии СВА  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 29,6кБк/г мегакариоцитарный росток испытывает наибольшее угнетение по сравнению с другими ростками кроветворения (рис. 3.5.3). Интенсивное снижение численности мегакариоцитарных КОЕс начинается с первых суток облучения (исходная мощность дозы 73,6 сГр/сут), достигая пика опустошения (0% от контроля) уже на 3-и сутки исследования. Данный факт может быть обусловлен выбросом мегакариоцитарных предшественников в периферическую кровь (1-е сутки) и интенсивным выходом КОЕс в дифференцировку (3-и сутки). Данные реакции можно считать компенсаторно-приспособительными, дающими возможность, во-первых, обеспечить перераспределение мегакариоцитарных КОЕс в кроветворной системе и, во-вторых, создать запас прочности мегакариоцитарного ростка на уровне морфологически распознаваемых мегакариобластов, которые способны к ускоренной эндорепродукции и созреванию.

Еще одна особенность мегакариоцитарного ростка по сравнению с другими ростками кроветворения заключается в полном отсутствии миграции мегакариоцитарных КОЕс на 6–21-е сутки  $\beta$ -облучения. Первоначально «запрет на миграцию» был обусловлен полным опустошением популяции

мегакариоцитарных КОЕс костного мозга (6-е сут.), в последующем (13–21-е сут.) – самовосполнением данной популяции и преимущественным оттоком КОЕс в дифференцировку. Лимитирующим фактором для репопуляции стволовых клеток мегакариоцитарной линии дифференцировки является исчезновение мегакариобластов на 13-е сутки облучения и, следовательно, угроза недостаточного поступления тромбоцитов в кровеносное русло.

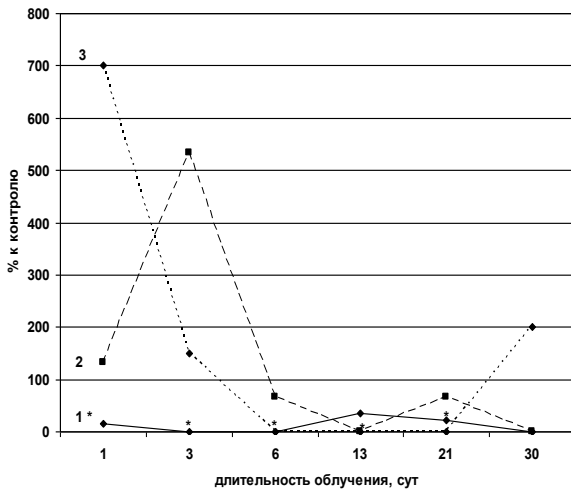


Рис. 3.5.3. Динамика численности мегакариоцитарных КОЕс (1), мегакариобластов<sup>Δ</sup> (2) костного мозга и КОЕс периферической крови (3) мегакариоцитарного направления дифференцировки (\* –  $p \leq 0,05$ )

Примечание: <sup>Δ</sup> – данные получены канд. биол. наук Е.А.Пряхиным [109]

Снижение уровня функционирования мегакариоцитарного ростка в костном мозге до критического уровня и отсутствие миграции мегакариоцитарных КОЕс приводит к активации мегакариоцитопоэза в селезенке облученных животных (20–30-е сутки), т. е. вовлечению селезенки в системную компенсаторно-

приспособительную реакцию. Повторное полное опустошение мегакариоцитарного ростка в костном мозге (30-е сут.) происходит на фоне нормализации миграции мегакариоцитарных предшественников. Данный факт не исключает возможности миграции мегакариоцитарных КОЕс из селезенки в костный мозг с целью восполнения костномозгового резерва мегакариоцитопоэза.

Итак, выявленная нами динамика мегакариоцитарного ростка противоречит положению о несколько меньшей радиочувствительности КОЕс мегакариоцитарной линии дифференцировки [159]. Даже, если исходить из позиции равенства чувствительности КОЕс различных направлений дифференцировки к воздействию радиационного фактора по критерию  $D_0$  [41–44], то пролонгированное интенсивное  $\beta$ -облучение со снижающейся мощностью дозы ( $^{90}\text{Sr}$ -29,6кБк/г) запускает специфический каскад реакций в мегакариоцитарном ростке. Адекватность данных реакций со стороны мегакариоцитарного ростка костного мозга может определяться, с одной стороны, необходимостью оптимизации структурно-функциональной организации стволового кроветворного пула в пользу других ростков кроветворения и, с другой стороны, наличием резервов срочной компенсации мегакариоцитопоэза вне стволового пула костного мозга – усилением скорости эндорепродукции мегакариобластов, активацией мегакариоцитопоэза в селезенке облученных мышей и достаточным легко мобилизуемыми сосудистым и селезеночным резервами тромбоцитов.

## **IV. КОМПЕНСАТОРНО-ПРИСПОСОБИТЕЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ, РЕАЛИЗУЕМЫЕ В СТВОЛОВОМ КРОВЕТВОРНОМ ПУЛЕ МЫШЕЙ ЛИНИИ СВА В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ**

### **4.1. Компенсаторно-приспособительные реакции, реализуемые в стволовом кроветворном пуле костного мозга мышей линии СВА в отдаленные сроки (90–360-е сутки) хронического $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы**

Динамика клеточности и концентрации КОЕс костного мозга в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы представлена на рис. 4.1.1. В 1-й опытной группе (1,11 кБк/г) временное снижение клеточности (до 74% от контроля) отмечено на 90-е сутки облучения. В отличие от клеточности костного мозга статистически значимое снижение концентрации КОЕс в пределах 65% от уровня одновозрастного контроля происходило, начиная со 180-х суток. Такая разнонаправленная реакция численности кариоцитов и стволовых кроветворных клеток в костном мозге облученных животных может отражать как большую радиочувствительность КОЕс, так и их ускоренную дифференцировку с целью нормализации клеточности органа.

Во 2-й группе (11,1 кБк/г) клеточность костного мозга сохранялась в пределах физиологической нормы в течение всего срока исследования, в то время как динамика численности

стволовых клеток носила неустойчивый колебательный характер, не превышая уровня 60% от одновозрастного контроля.

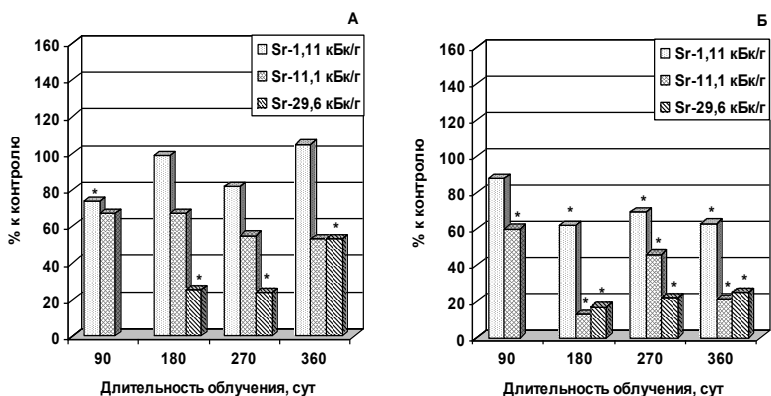


Рис. 4.1.1. Динамика клеточности (А) и концентрации КОЕс (Б) костного мозга мышей линии СВА в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

В отдаленные сроки после однократного введения  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 29,6 кБк/г 4-кратное снижение клеточности органа выявлено на 180–270-е сутки; к 360-м суткам происходило восстановление данного параметра до уровня 53% от контроля. Данный факт демонстрирует значительные резервы компенсации костномозгового кроветворения при суммарных дозах на ККМ порядка 90 Гр. Однако концентрация КОЕс при данном режиме облучения не превышала 17–25% от уровня нормы, что дает возможность предположить ведущую роль пролиферативно-созревающего и созревающего пулов костного мозга в поддержании клеточности органа при указанном режиме облучения.

Обращает на себя внимание отсутствие различий по уровню клеточности и концентрации КОЕс костного мозга между 2-й (11,1 кБк/г) и 3-й (29,6 кБк/г) опытными группами на 360-е сутки  $\beta$ -облучения, суммарные дозы на ККМ составили 32,9 и 87,7 Гр соответственно. Скорее всего, резервы компенсации в

стволом кроветворном пуле костного мозга становятся не достаточными при накоплении суммарных доз на ККМ порядка 30 Гр. Во 2-й опытной группе (11,1 кБк/г) резервные возможности компенсации в стволовом пуле реализуются в abortивном подъеме численности КОЕс (с 13% до 46% от контроля) на 270-е сутки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы.

**Эритроидные КОЕс костного мозга.** В условиях низко интенсивного  $\beta$ -облучения (1,11 кБк/г) 2-кратное снижение численности эритроидных предшественников происходит на 360-е сутки исследования (рис. 4.1.2а). Снижение концентрации эритроидных КОЕс во 2-й опытной группе (11,1 кБк/г) выявлено уже на 90-е сутки облучения (суммарные дозы на ККМ составили 11,6 Гр). При этом степень депопуляции (59% от контроля) была вполне сопоставима со значениями численности эритроидных КОЕс, наблюдаемыми на 30-е сутки после однократного введения  $^{90}\text{Sr}$  в саркомогенной концентрации (рис. 3.1.2а), когда суммарные дозы на ККМ составили 12,57 Гр. Минимальные значения концентрации эритроидных предшественников в костном мозге (2–5% от нормы), как и общей численности КОЕс, отмечены на 180-е сутки хронического радиационного воздействия. К 360-м суткам  $\beta$ -облучения происходило дозозависимое увеличение числа эритроидных КОЕс: во 2-й группе (11,1 кБк/г) – в 20 раз, в 3-й группе (29,6 кБк/г) – в 6 раз по сравнению со 180-ми сутками. Данные факты демонстрируют наличие резервов компенсации (репопуляции) в стволовом пуле эритроидного ростка костного мозга в отдаленные сроки хронического радиационного воздействия.

Декомпенсация эритропоэза в стволовом кроветворном пуле костного мозга, оцененная по общей продуктивности эритроидных КОЕс, выявлена только во 2-й (11,1 кБк/г) и 3-й (29,6 кБк/г) опытных группах животных (рис. 4.1.2б).



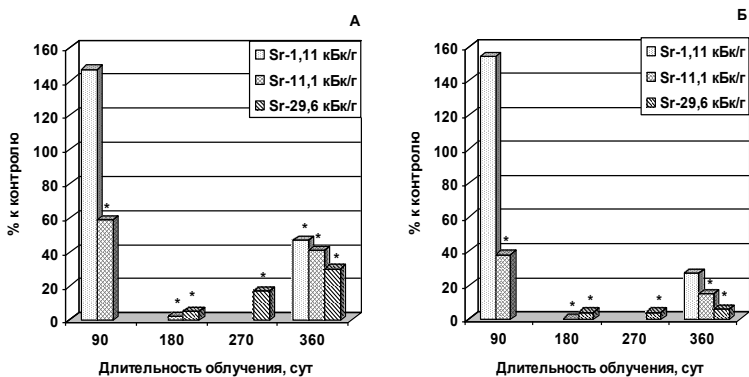


Рис. 4.1.2. Динамика концентрации (А) и общей продуктивности (Б) эритроидных КОЕс костного мозга мышей линии СВА в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Минимальные значения общей продуктивности КОЕс эритроидного направления дифференцировки (0,2-4,0% от контроля) были достигнуты на 180–270-е сутки  $\beta$ -облучения. К 360-м суткам значения данного показателя во 2-й группе достигли 15% от уровня контроля, что демонстрирует 75-кратный резерв компенсации продуктивности эритроидных КОЕс при суммарных дозах на ККМ порядка 35 Гр.

Скорость клеточной продукции в популяции эритроидных КОЕс сохранялась в пределах физиологической нормы только после однократного введения  $^{90}\text{Sr}$  в минимальной концентрации (1,11 kBq/g) в диапазоне суммарных доз на ККМ от 1,16 до 3,29 Гр (рис. 4.1.3а). Более интенсивное  $\beta$ -облучение (11,1 и 29,6 kBq/g) приводило к снижению скорости клеточной продукции эритроидными КОЕс, начиная со 180-х суток исследования при суммарных дозах на ККМ порядка 15 Гр.

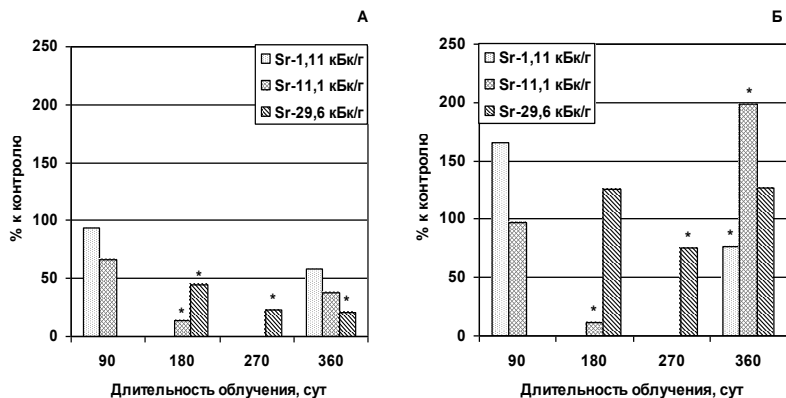


Рис. 4.1.3. Динамика скорости клеточной продукции (А) и доли (Б) эритроидных КОЕс костного мозга мышей линии СВА в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Снижение доли эритроидных КОЕс в общем спектре реализуемых дифференцировочных потенций СКК носило временный характер во всех экспериментальных группах животных (рис. 4.1.3б). Увеличение доли эритроидных предшественников (до 200% от контрольных значений) отмечено только во 2-й группе (11,1 кБк/г) на 360-е сутки  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы, что отражает преимущественную дифференцировку полипотентных КОЕс в эритроидном направлении. Таким образом, в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы ведущим компенсаторным механизмом в популяции эритроидных КОЕс костного мозга является репопуляция клеток, наиболее выраженные резервы компенсации выявлены во 2-й опытной группе (11,1 кБк/г) до накопления суммарных доз на ККМ порядка 30–35 Гр.

**Гранулоцитарные КОЕс костного мозга.** Численность гранулоцитарных КОЕс в костном мозге мышей 1-й опытной группы (1,11 кБк/г) составляла в среднем 55% от возрастной нормы (рис. 4.1.4а). Во 2-й группе облученных животных

(11,1 кБк/г) отмечено прогрессивное снижение данного показателя, начиная со 180-х суток, минимальные значения составили 10% от контроля (360-е сут., суммарная доза на ККМ 32,9 Гр). После однократного введения  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 29,6 кБк/г снижение концентрации гранулоцитарных предшественников, наблюдаемое на 180–270-е сутки, сменялось нормализацией данного показателя на 360-е сутки исследования при суммарных дозах на ККМ порядка 90 Гр.

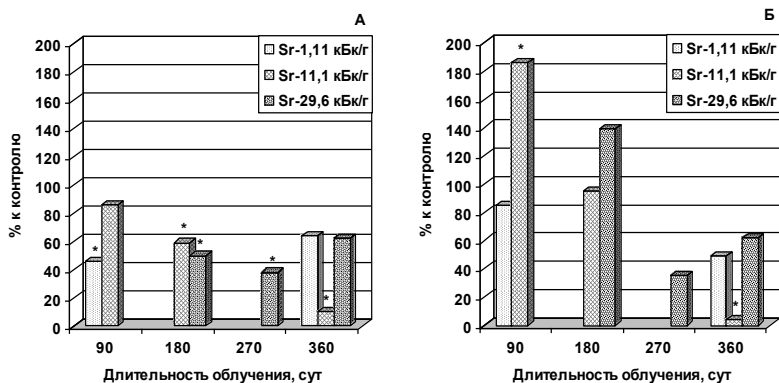


Рис. 4.1.4. Динамика концентрации (А) и общей продуктивности (Б) гранулоцитарных КОЕс костного мозга мышей линии СВА в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Активация гранулоцитопоза на уровне стволового пула костного мозга облученных животных отмечена на 90-е сутки облучения после однократного введения радионуклида в концентрации 11,1 кБк/г (рис. 4.1.4б). Декомпенсация кроветворной функции в популяции гранулоцитарных предшественников костного мозга выявлена только в той же 2-й опытной группе (11,1 кБк/г) на 360-е сутки  $\beta$ -облучения (рис. 4.1.4б), когда общая продуктивность КОЕс составила 4% от контрольных значений. В условиях более интенсивного радиационного воздействия (29,6 кБк/г) в популяции гранулоцитарных КОЕс, как и в случае с

эритроидными предшественниками, реализуются выраженные компенсаторные возможности – к 360-м суткам численность и общая продуктивность КОЕс указанного направления дифференцировки восстанавливались до уровня 62% от нормы.

Изменение параметров клеточного цикла КОЕс отмечено только во 2-й группе (11,1 кБк/г): усиление скорости клеточной продукции на 180-е сутки способствовало сохранению общей продуктивности гранулоцитарных КОЕс в условиях начального снижения их численности, а 2-кратное снижение данного параметра на 360-е сутки, наряду с депопуляцией КОЕс, привело к критическому сокращению клеточной продуктивности гранулоцитарными предшественниками (рис. 4.1.5а).

Статистически значимого снижения доли гранулоцитарных предшественников не наблюдалось ни при одном их используемых режимах облучения животных (рис.4.1.5б) до накопления суммарных доз на ККМ порядка 90 Гр. Увеличение доли гранулоцитарных КОЕс, косвенно свидетельствующее о преимущественной дифференцировке СКК в сторону гранулоцитарного ростка, выявлено на 180-е и 360-е сутки исследования. Во 2-й опытной группе (11,1 кБк/г) данная компенсаторная реакция наряду с увеличением скорости клеточной продукции способствовала сохранению общей продуктивности гранулоцитарных КОЕс в условиях начального 2-кратного снижения их численности. В 3-й группе экспериментальных животных (29,6 кБк/г) изменение баланса дифференцировочных потенциалов СКК в пользу гранулоцитопозеза способствовало нормализации численности и общей клеточной продуктивности гранулоцитарных КОЕс при суммарной дозе на ККМ 87,7 Гр.

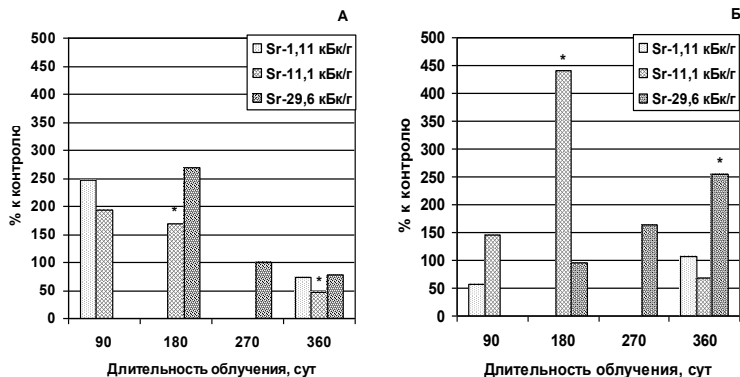


Рис. 4.1.5. Динамика доли (А) и скорости клеточной продукции (Б) гранулоцитарных КОЕс костного мозга мышей линии СВА в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Таким образом, в условиях низко интенсивного  $\beta$ - облучения со снижающейся мощностью дозы от 0,87 до 0,62 Гр/сут (1,11 kBк/г) для сохранения гранулоцитопоеза на уровне стволового пула костного мозга достаточным является базовый механизм компенсации – репопуляция СКК; при более интенсивном радиационном воздействии (11,1 и 29,6 kBк/г) подключаются дополнительные компенсаторные механизмы – усиление скорости клеточной продукции и увеличение доли КОЕс данного направления дифференцировки. Обращает на себя внимание не эффективность компенсаторно-приспособительных реакций, реализуемых в популяции гранулоцитарных КОЕс при суммарных дозах на ККМ порядка 20–35 Гр (11,1 kBк/г).

**Мегакариоцитарные КОЕс костного мозга.** Статистически значимое снижение численности и общей клеточной продуктивности мегакариоцитарных КОЕс выявлено только во 2-й (11,1 kBк/г) и 3-й (29,6 kBк/г) опытных группах животных, с минимумом на 180-е сутки исследования (рис. 4.1.6). К 360-м суткам в условиях интенсивного  $\beta$ -облучения (29,6 kBк/г)

концентрация мегакариоцитарных КОЕс и их общая продуктивность увеличились в 15 и 29 раз соответственно по сравнению со 180-и сутками, что совпадает с реакцией эритроидных и гранулоцитарных КОЕс и отражает реализацию резервов компенсации кроветворной функции при суммарных дозах на КKM порядка 90 Гр. Стойкая декомпенсация мегакариоцитопозеза зафиксирована во 2-й опытной группе (180–360-е сут.) – общая продуктивность мегакариоцитарных предшественников не превышала 14% от контроля.

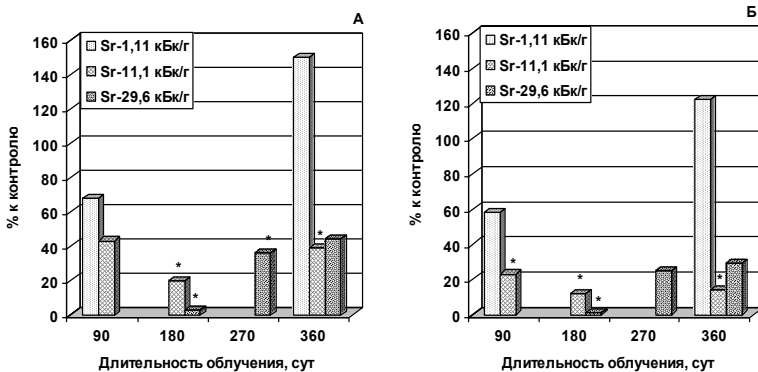


Рис. 4.1.6. Динамика концентрации (А) и общей продуктивности (Б) мегакариоцитарных КОЕс костного мозга мышей линии СВА в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Двукратное снижение скорости клеточной продукции выявлено во 2-й группе (11,1 кБк/г) на всем протяжении исследований в диапазоне суммарных доз на КKM от 11,6 до 32,9 Гр (рис. 4.1.7а). При более интенсивном радиационном воздействии (29,6 кБк/г) аналогичный эффект зафиксирован на 180-е сутки облучения. В отдаленные сроки (90–360-е сут.) хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы доля мегакариоцитарных КОЕс в общем спектре реализуемых дифференцировочных потенций СКК, как и в случае

гранулоцитарных КОЕс, стабильно поддерживалась в пределах физиологической нормы вне зависимости от интенсивности радиационного воздействия (рис. 4.1.7б). На 360-е сутки низкоинтенсивного  $\beta$ -облучения (1,11 кБк/г) отмечено 2-кратное увеличение доли мегакариоцитарных предшественников, что совпадает со снижением данного показателя для эритроидных КОЕс.

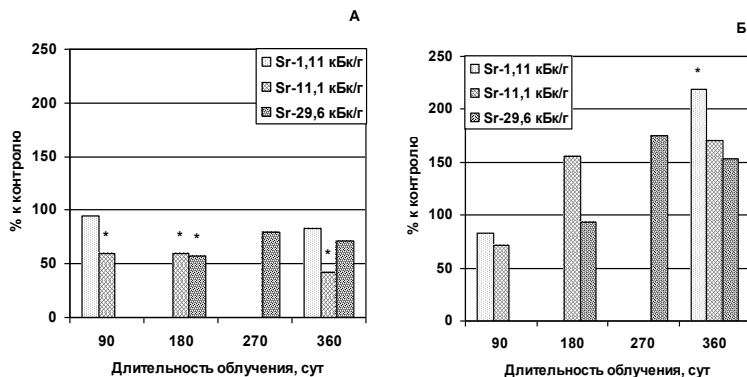


Рис. 4.1.7. Динамика доли (А) и скорости клеточной продукции (Б) гранулоцитарных КОЕс костного мозга мышей линии СВА в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Таким образом, в популяции мегакариоцитарных КОЕс костного мозга реализуемые молекулярно-клеточные компенсаторные механизмы оказываются эффективными лишь в условиях низкоинтенсивного  $\beta$ -облучения при суммарных дозах на ККМ 1,16–3,29 Гр (1,11 кБк/г).

**Полипотентные КОЕс костного мозга.** Динамика концентрации и общей клеточной продуктивности полипотентных КОЕс представлена на рис. 4.1.8. Обращает на себя внимание тот факт, что в отличие от коммитированных предшественников, во 2-й (11,1 кБк/г) и 3-й (29,6 кБк/г) группах облученных животных не наблюдается прироста численности полипотентных КОЕс на 360-е сутки исследования. Этот факт, наряду с увеличением доли коммитированных КОЕс, еще раз

доказывает возможность реализации ускоренной дифференцировки СКК в отдаленные сроки хронического радиационного воздействия.

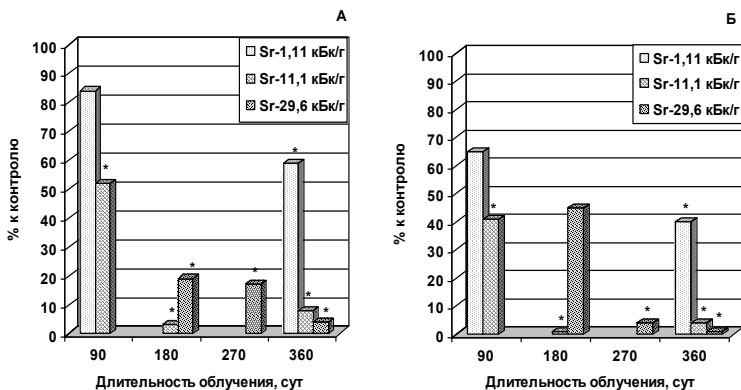


Рис. 4.1.8. Динамика концентрации (А) и общей продуктивности (Б) полипотентных КОЕс костного мозга мышей линии СВА в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Снижение общей клеточной продуктивности полипотентных КОЕс отмечено во всех опытных группах животных (рис. 4.1.8б). Наиболее выраженная декомпенсация количественного клеточного гомеостаза в популяции полипотентных КОЕс костного мозга выявлена во 2-й группе (11,1 кБк/г), где минимальные значения численности КОЕс и их общей продуктивности составили 3–4% и 1–4% соответственно. Сопоставимое по уровню снижение данных показателей в 3-й опытной группе (29,6 кБк/г) произошло на 360-е сутки (суммарные дозы на ККМ порядка 90 Гр).

Временное 3-кратное снижение скорости клеточной продукции в популяции полипотентных предшественников отмечено во 2-й группе (11,1 кБк/г) на 180-е сутки исследования, что наряду с выраженной депопуляцией привело к минимальной продуктивности этих КОЕс. Более выраженное – 5-кратное



уменьшение скорости клеточной продукции отмечено в 3-й группе (29,6 кБк/г). Аналогичная ситуация наблюдалась в популяции эритроидных предшественников.

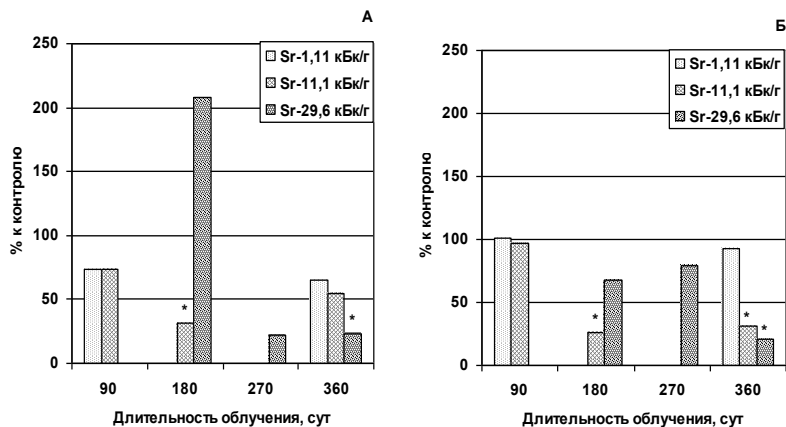


Рис. 4.1.9. Динамика скорости клеточной продукции (А) и доли (Б) полипотентных КОЕс костного мозга мышей линии СВА в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Сокращение доли полипотентных КОЕс происходило только во 2-й и 3-й опытных группах (рис. 4.1.9б). Снижение доли полипотентных КОЕс на 180-е сутки  $\beta$ -облучения сопровождалось увеличением доли гранулоцитарных предшественников, на 360-е сутки – эритроидных предшественников (11,1 кБк/г) или гранулоцитарных предшественников (29,6 кБк/г).

Из вышесказанного следует, что неэффективность компенсаторных механизмов в популяции полипотентных КОЕс костного мозга при достижении суммарных доз на ККМ порядка 10–15 Гр обусловлена не только повреждающим действием ионизирующей радиации, но и ускорением процессов клеточной дифференцировки полипотентных КОЕс в гранулоцитарном (11,1 кБк/г) или эритроидном (29,6 кБк/г) направлении.

**КОЕс-12-сут. костного мозга.** Гистологический анализ селезеночных колоний, образованных менее дифференцированными кроветворными предшественниками (12-суточные КОЕс) костного мозга был проведен на 20, 30-е и 270, 360-е сутки после однократного введения  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 29,6 кБк/г веса животного (кумулятивные дозы на ККМ составили соответственно 9,6–12,6 Гр и порядка 70–90 Гр). Концентрация 12-суточных КОЕс, начиная с 30-х суток  $\beta$ -облучения, находилась на уровне 20–30% от контроля, что сопоставимо со значениями данного показателя для более дифференцированной популяции СКК (9-суточные КОЕс) (рис. 4.1.10).

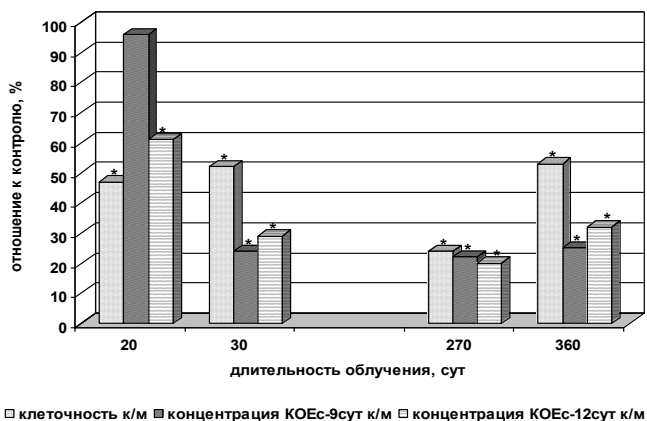


Рис. 4.1.10. Динамика показателей кроветворения в костном мозге мышей линии СВА при однократном введении  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 29,6 кБк/г (\* –  $p \leq 0,05$ )

Динамика эритроидного и мегакариоцитарного ростков кроветворения при тестировании 12-суточных КОЕс костного мозга совпадала с реакцией 9-суточных КОЕс. Отличительными особенностями менее дифференцированной популяции СКК костного мозга после введения радионуклида в саркомогенной концентрации являлись:

- поддержание числа гранулоцитарных предшественников на уровне физиологической нормы и большая сохранность смешанных предшественников на заключительном сроке исследования (360-е сут.);
- менее выраженное снижение пролиферативного потенциала – в отдаленные сроки исследования (270–360-е сут.) средний объем колоний, продуцируемых КОЕс-12-сут., уменьшился в 2,5 раза по сравнению с одновозрастным контролем, в то время как КОЕс-9-сут. – в 5 раз (рис. 4.1.11);
- увеличение доли мегакариоцитарных предшественников в 2 раза по сравнению с контролем на 360-е сутки  $\beta$ -облучения, что в определенной степени отражает возрастную тенденцию в соотношении гистологических типов колоний (рис. 4.1.12).

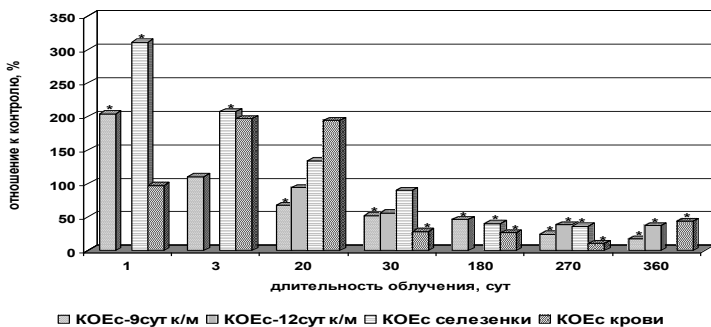


Рис. 4.1.11. Пролиферативный потенциал КОЕс мышей линии СВА при однократном введении  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 29,6 кБк/г (\* –  $p \leq 0,05$ )

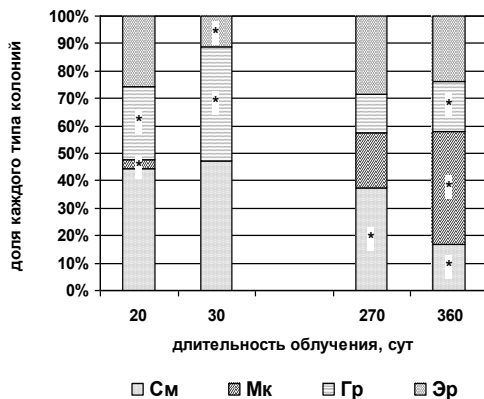


Рис. 4.1.12. Соотношение гистологических типов колоний при тестировании КОЕс-12-сут. костного мозга мышей линии СВА при однократном введении  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 29,6 кБк/г (\* –  $p \leq 0,05$ )

Примечание: Эр – эритроидные, Гр – гранулоцитарные, Мк – мегакариоцитарные, См – смешанные колонии

В условиях низко интенсивного радиационного воздействия (1,11 кБк/г) в ранние сроки исследования (1–30-е сутки) для 12-суточных КОЕс костного мозга, в отличие от более дифференцированных предшественников (КОЕс-9-сут.), не было выявлено гиперрегенерации ни для одного из кроветворных ростков. В отдаленные сроки в пределах физиологической нормы поддерживалось число не только мегакариоцитарных, но и эритроидных и гранулоцитарных КОЕс-12-сут. Преходящее снижение пролиферативных потенций 12-суточных КОЕс было выявлено только в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (180-е сут.) (рис. 4.1.13). Отличительной особенностью реализуемого дифференцировочного потенциала 12-суточных КОЕс может служить менее длительное угнетение эритроидного ростка (20–30-е сут.) и активация гранулоцитопоза в конце первой недели после введения  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 1,11 кБк/г веса животного.

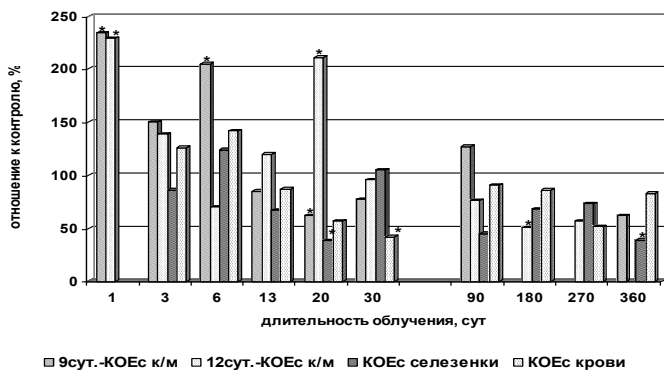


Рис. 4.1.13. Пролиферативный потенциал КОЕс мышей линии СВА при однократном введении  $^{90}\text{Sr}$  в количестве 1,11 кБк/г (\* –  $p \leq 0,05$ )

#### 4.2. Компенсаторно-приспособительные реакции, реализуемые в стволовом клеточном пуле селезенки мышей линии СВА в отдаленные сроки (90–360-е сутки) хронического $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы

Статистически значимое снижение клеточности селезенки отмечено только на 180–270-е сутки после однократного введения  $^{90}\text{Sr}$  в саркомогенной концентрации (29,6 кБк/г) (рис. 4.2.1.а). На 360-е сутки хронического  $\beta$ -облучения клеточность селезенки во 2-й (11,1 кБк/г) и 3-й (29,6 кБк/г) опытных группах находились в пределах возрастной нормы, а в 1-й группе (1,11 кБк/г) было отмечено явление гиперплазии. Нормализация клеточности селезенки в 3-й группе животных на 360-е сутки исследования (суммарные дозы на селезенку составили порядка 2 Гр) отражает однонаправленность радиационно-индуцированных процессов поражения – восстановления в костном мозге (рис. 4.1.1.а) и селезенке облученных животных при данном режиме облучения.

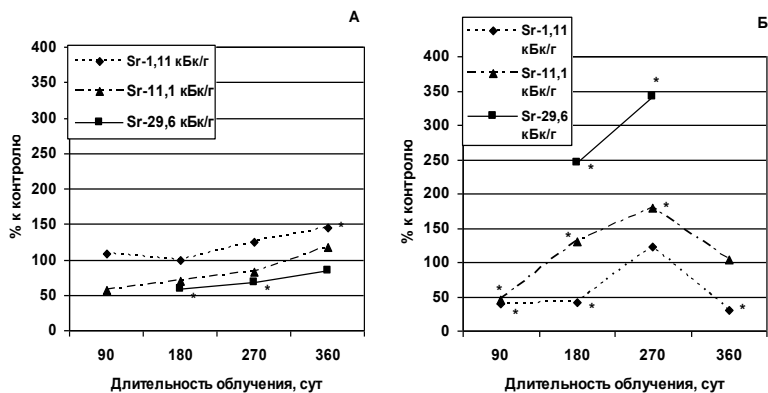


Рис. 4.2.1. Динамика клеточности (А) и концентрации КОЕс (Б) селезенки мышей линии СВА в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Динамика численности КОЕс в отдаленные сроки низко интенсивного  $\beta$ -облучения (1,11 кБк/г) демонстрирует большую радиочувствительность стволовых клеток по сравнению с кариоцитами селезенки (рис. 4.2.1б). Статистически значимое сокращение численности КОЕс селезенки до 40–45% от контроля выявлено в 1-й и 2-й экспериментальных группах уже на 90-е сутки облучения. Интенсивность репопуляции в стволовом кроветворном пуле селезенки определялась дозой нагрузки на ККМ и, следовательно, степенью угнетения костномозгового кроветворения. Накопление СКК в селезенке облученных животных в отдаленные сроки  $\beta$ -облучения (180–270-е сут.), как компенсаторно-приспособительная реакция на фоне преимущественного облучения и повреждения ККМ, происходило во 2-й и 3-й группах. Максимальные значения концентрации КОЕс во всех экспериментальных группах отмечены на 270-е сутки исследования. В дальнейшем происходило снижение данного показателя до уровня возрастной нормы во 2-й группе (11,1 кБк/г) и до 30% от контроля в 1-й группе (1,11 кБк/г). Обращают на себя внимание низкие значения концентрации

КОЕс в селезенке в условиях низко интенсивного  $\beta$ -облучения, не адекватные дозой нагрузке как на костный мозг, так и на селезенку.

**Эритроидные КОЕс селезенки.** Снижение концентрации эритроидных предшественников происходило на всех сроках исследования (90–360-е сут.) и при всех интенсивностях радиационного воздействия (рис. 4.2.2а). В 1-й опытной группе (1,11 кБк/г) численность эритроидных КОЕс поддерживалась в пределах 13–24% от контрольных значений; на 90-е сутки исследования данный показатель в селезенке был на порядок ниже, чем в костном мозге (рис. 4.1.2).

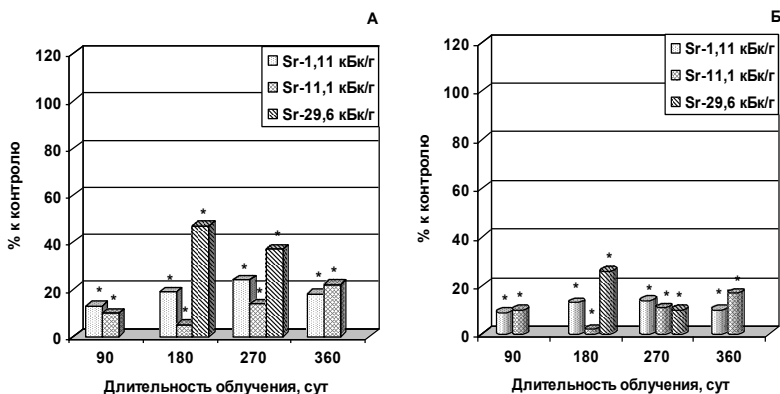


Рис. 4.2.2. Динамика численности (А) и общей продуктивности (Б) эритроидных КОЕс селезенки мышей линии СВА в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Наибольшее угнетение эритропоэтической функции на уровне стволового пула селезенки выявлено в отдаленные сроки после однократного введения  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 11,1 кБк/г – численность КОЕс не превышала 22%, минимальные значения составили 5% от возрастной нормы (180-е сут.). Большая сохранность эритроидных КОЕс была характерна для животных 3-й группы (29,6 кБк/г). Динамика общей клеточной

продуктивности эритроидных предшественников селезенки в целом соответствовала изменениям их численности (рис. 4.2.2 б). Минимальные значения данного показателя (2% от контроля), как и в костном мозге, отмечены во 2-й группе (11,1 кБк/г) на 180-е сутки  $\beta$ -облучения.

Уменьшение скорости клеточной продукции в 2–3 раза по сравнению с контрольными значениями зафиксировано во всех опытных группах (рис. 4.2.3а). В 1-й группе данный радиационно-индуцированный повреждающий эффект носил отсроченный характер (360-е сут.), а во 2-й группе – временный характер (180-е сут.). Следовательно, вклад снижения скорости клеточной продукции в декомпенсацию эритропоэза на уровне стволового пула селезенки до накопления суммарных доз порядка 35 Гр не имеет существенного значения.

Уменьшение доли эритроидных предшественников в селезенке облученных животных происходило во всех экспериментальных группах в отдаленные сроки  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (рис. 4.2.3б). Минимальные значения данного показателя (4% от возрастной нормы) зафиксированы, как и в костном мозге, на 180-е сутки исследования.

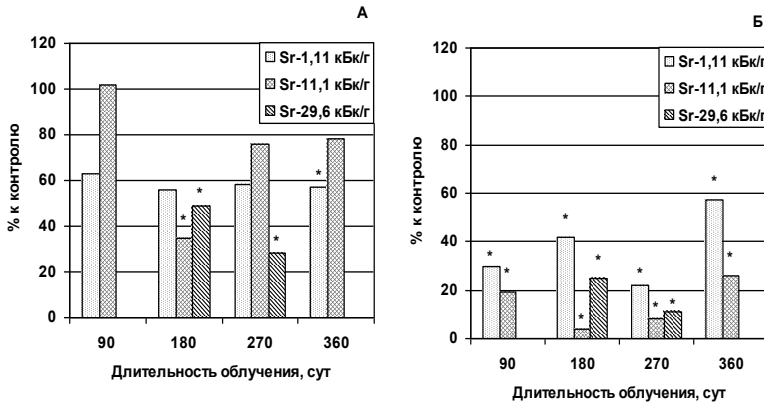


Рис. 4.2.3. Динамика скорости клеточной продукции (А) и доли (Б) эритроидных КОЕс селезенки мышей линии СВА в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )



Таким образом, в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения при всех интенсивностях радиационного воздействия (1,11; 11,1 и 29,6 кБк/г) в стволовом пуле селезенки облученных мышей выявлена стойкая декомпенсация эритропоэтической функции. В данном случае реакции стволовых кроветворных пулов костного мозга и селезенки являются однонаправленными и, следовательно, селезенка не участвует в системной компенсации эритропоэза.

**Гранулоцитарные КОЕс селезенки.** Статистически значимое уменьшение концентрации гранулоцитарных КОЕс, в отличие от эритроидных КОЕс, происходило на заключительном сроке исследования – 360-х сутках (рис. 4.2.4а). На 180-е сутки  $\beta$ -облучения (11,1 кБк/г) в селезенке облученных животных была выявлена временная гиперрепопуляция гранулоцитарных предшественников до 269% от контроля, что можно рассматривать как системную компенсаторную реакцию в условиях снижения численности гранулоцитарных КОЕс в костном мозге.

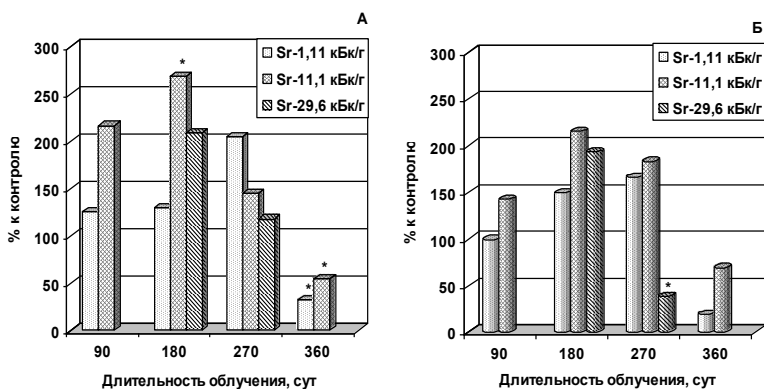


Рис. 4.2.4. Динамика концентрации (А) и общей продуктивности (Б) гранулоцитарных КОЕс селезенки мышей линии СВА в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Декомпенсация гранулоцитопоза в стволовом пуле селезенки, оцененная на основании общей клеточной продуктивности КОЕс (рис. 4.2.4б), выявлена только в 3-й экспериментальной группе (29,6 кБк/г) на 270-е сутки исследования. Сопоставимые значения общей клеточной продуктивности КОЕс отмечены и в костномозговой популяции гранулоцитарных предшественников (рис. 4.1.4б). Однако снижение данного показателя в костном мозге было обусловлено депопуляцией СКК, а в селезенке – снижением скорости клеточной продукции (рис. 4.2.5а). В целом при всех используемых интенсивностях радиационного воздействия (суммарные дозы на селезенку от 0,02 до 2,19 Гр) параметры клеточного цикла и, соответственно, скорость клеточной продукции КОЕс гранулоцитарного направления дифференцировки сохранялись в пределах возрастной нормы.

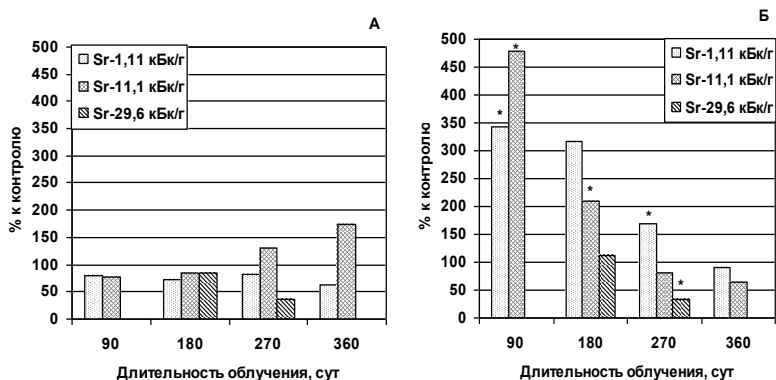


Рис. 4.2.5. Динамика доли (А) и скорости клеточной продукции (Б) гранулоцитарных КОЕс селезенки мышей линии СВА в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Для поддержания количественного клеточного гомеостаза в популяции гранулоцитарных КОЕс селезенки в течение длительного времени (до 270-х сут.) после однократного введения

радионуклида в концентрациях 1,11 и 11,1 кБк/г активно использовался такой механизм компенсации, как увеличение доли КОЕс указанного направления дифференцировки в общем спектре реализуемых дифференцировочных потенциалов СКК (рис. 4.2.5б). При введении саркомогенной концентрации  $^{90}\text{Sr}$  аналогичная компенсаторная реакция была зафиксирована в ранние сроки  $\beta$ -облучения (30-е сут.). Снижение доли гранулоцитарных КОЕс в 3 раза выявлено на 270-е сутки после однократного введения  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 29,6 кБк/г.

Итак, скомпенсированность гранулоцитопоза на уровне стволового пула селезенки облученных мышей до накопления суммарных доз на ККМ порядка 60 Гр определялась эффективными процессами репопуляции, сохранением параметров клеточного цикла на уровне возрастной нормы и увеличением доли гранулоцитарных КОЕс. В целом, исходя из динамики интегрального показателя – общей клеточной продуктивности КОЕс, можно констатировать функционирование популяции гранулоцитарных КОЕс селезенки лишь в пределах возрастной нормы и не включение селезенки в системную компенсаторную реакцию в условиях преимущественного облучения ККМ.

**Мегакариоцитарные КОЕс селезенки.** Снижение концентрации мегакариоцитарных КОЕс в селезенке облученных мышей – до 30% от возрастной нормы, выявлено только на 90–180-е сутки низко интенсивного  $\beta$ -облучения (1,11 кБк/г) (рис. 4.2.6а). Во 2-й (11,1 кБк/г) и 3-й (29,6 кБк/г) экспериментальных группах, начиная со 180-х суток, происходила гиперрепопуляция (сверхнакопление) мегакариоцитарных КОЕс в селезенке; максимальные значения численности мегакариоцитарных предшественников составили 1041% и 1729% соответственно.

Динамика интегрального показателя – общей клеточной продуктивности КОЕ демонстрирует не только полную скомпенсированность мегакариоцитопоза на уровне стволового пула селезенки облученных животных при низко интенсивном

радиационном воздействии (1,11 кБк/г), но и значительные резервные компенсаторные возможности селезенки в отдаленные сроки после введения  $^{90}\text{Sr}$  в концентрациях 11,1 и 29,6 кБк/г (рис. 4.2.6б). Интенсивность реализации компенсаторной реакции носит дозозависимый характер. Рассматриваемая системная компенсаторная реакция селезенки является более эффективной, чем в ранние сроки  $\beta$ -облучения (рис. 3.2.7б) и вполне адекватной состоянию популяции мегакариоцитарных предшественников в костном мозге (рис. 4.1.6б).

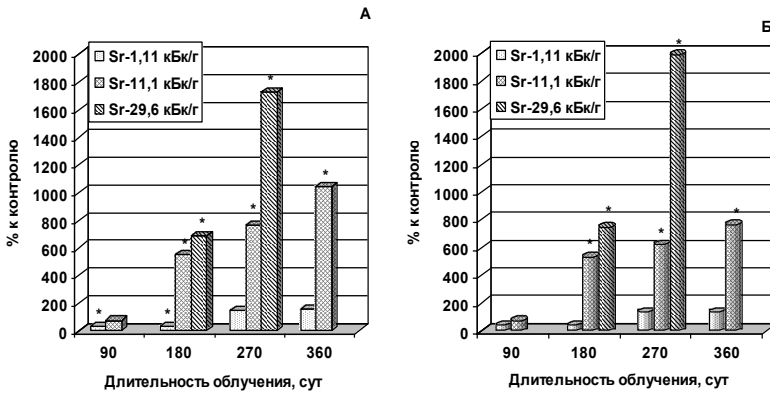


Рис. 4.2.6. Динамика концентрации (А) и общей продуктивности (Б) мегакариоцитарных КОЕс селезенки мышей линии СВА в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Скорость клеточной продукции в популяции мегакариоцитарных КОЕс селезенки сохраняется длительное время в пределах возрастной нормы (рис. 4.2.7а). Статистически значимое снижение данного показателя происходит на 360-е сутки после однократного введения  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 11,1 кБк/г при накоплении суммарной дозы на селезенку порядка 1 Гр. Начиная со 180-х суток наблюдается прогрессирующее увеличение доли мегакариоцитарных КОЕс во всех опытных группах (рис. 4.2.7б).

Данная компенсаторная реакция, в отличие от популяции гранулоцитарных КОЕс, развивается позже, но более интенсивно. Максимальное – 10-кратное увеличение доли мегакариоцитарных предшественников отмечено на 360-е сутки после однократного введения радионуклида в концентрации 11,1 кБк/г (суммарные дозы на КKM 32,9 Гр, на селезенку 0,82 Гр).

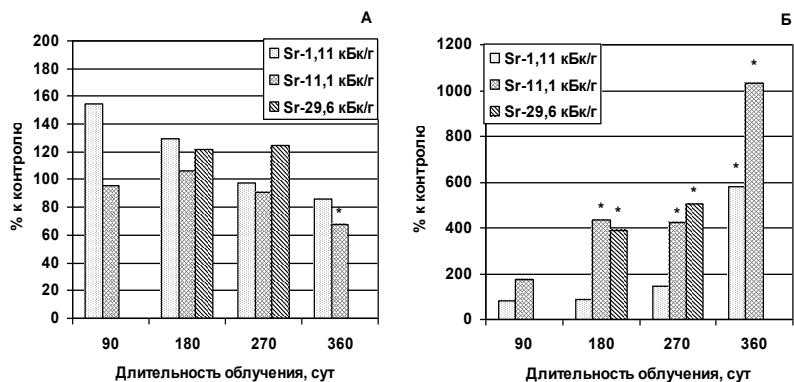


Рис. 4.2.7. Динамика скорости клеточной продукции (А) и доли (Б) мегакариоцитарных КОЕс селезенки мышей линии СВА в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Таким образом, ведущими механизмами компенсации и гиперкомпенсации мегакариоцитопоза на уровне стволового пула селезенки облученных мышей являются активная репопуляция и преимущественная дифференцировка СКК в мегакариоцитарном направлении. Гиперплазию мегакариоцитарного ростка в селезенке следует рассматривать как ярко выраженную системную компенсаторную реакцию в условиях преимущественного облучения КKM.

**Полипотентные КОЕс селезенки.** Снижение концентрации и общей клеточной продуктивности полипотентных КОЕс в селезенке облученных животных обнаружено только на 360-е

сутки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (рис. 4.2.8). Аналогичная ситуация отчасти отмечалась и в популяции гранулоцитарных предшественников (рис. 4.2.4а). Явление гиперрепопуляции полипотентных КОЕс во всех опытных группах на 270-е сутки исследования было сопоставимо по величине (400–560% от контроля) и, следовательно, не зависело от дозовой нагрузки. Указанная компенсаторная реакция нашла свое отражение в динамике общей клеточной продуктивности полипотентных КОЕс (рис. 4.2.8б), что демонстрирует активацию селезеночного кроветворения на 270-е сутки облучения в 1-й (1,11 кБк/г) и 2-й (11,1 кБк/г) группах экспериментальных животных.

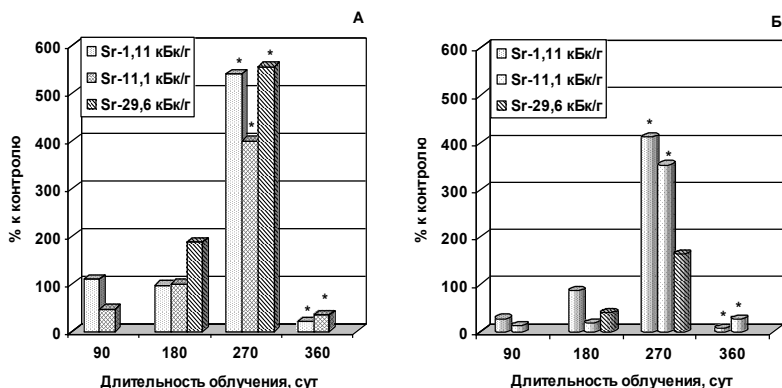


Рис. 4.2.8. Динамика концентрации (А) и общей продуктивности (Б) полипотентных КОЕс селезенки мышей линии СВА в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Статистически значимое снижение скорости клеточной продукции в популяции полипотентных КОЕс произошло только в 1-й группе (1,11 кБк/г) на 360-е сутки облучения (рис. 4.2.9а). Наблюдаемое ранее (90–270-е сут.) сопоставимое по величине

снижение данного параметра во 2-й и 3-й опытных группах не имело статистической значимости.

Увеличение доли полипотентных КОЕс, косвенно отражающее замедление процессов их дифференцировки, дополнительный приток из костного мозга или активацию пролиферации собственных СКК селезенки, происходило на 90-е и 270-е сутки хронического  $\beta$ -облучения после однократного введения радионуклида в концентрациях 1,11 и 11,1 кБк/г (рис. 4.2.9б).

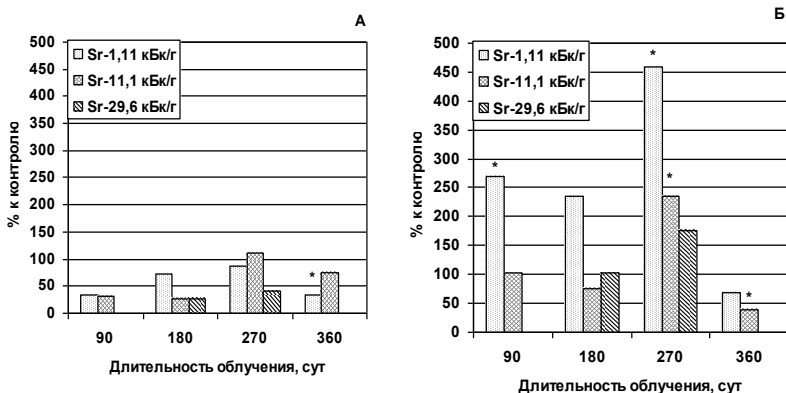


Рис. 4.2.9. Динамика скорости клеточной продукции (А) и доли полипотентных КОЕс селезенки мышей линии СВА в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Снижение доли полипотентных КОЕс на 360-е сутки в 3-й группе экспериментальных животных (29,6 кБк/г) демонстрирует преимущественную ускоренную дифференцировку в сторону мегакариоцитарного ростка. В костном мозге в это время СКК преимущественно дифференцировались в эритроидном направлении (рис. 4.1.9б и 4.1.3б).

### 4.3. Роль миграции стволовых кроветворных клеток в компенсаторно-приспособительных реакциях, реализуемых

**в стволовом кроветворном пуле костного мозга и селезенки  
мышей линии СВА в отдаленные сроки (90–360-е сутки)  
хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы**

Динамика клеточности крови и численности мигрирующих КОЕс в отдаленные сроки (90–360-е сут.) хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы представлена на рис. 4.3.1. Снижение клеточности крови, как и в ранние сроки  $\beta$ -облучения, выявлено на 180–270-е сутки после однократного введения  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 29,6 кБк/г. Данный эффект обусловлен 4-кратным уменьшением клеточности костного мозга и 2-кратным – селезенки (рис. 4.1.1.а и 4.2.1.а). Максимальные значения клеточности крови (81–116% от возрастной нормы) отмечены на 360-е сутки исследования при всех используемых интенсивностях радиационного воздействия.

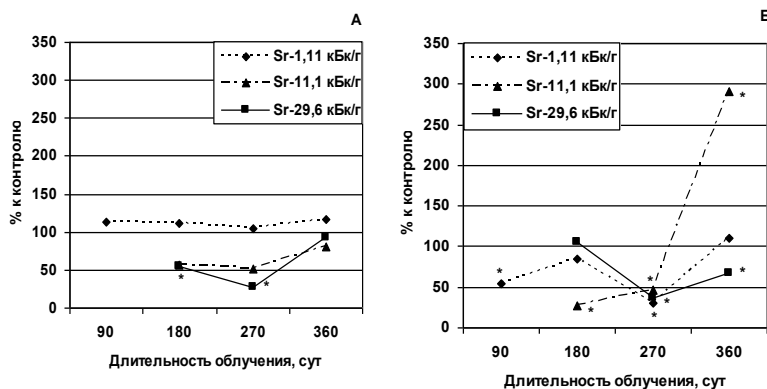


Рис. 4.3.1. Динамика клеточности (А) и концентрации КОЕс (Б) периферической крови мышей линии СВА в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Динамика численности мигрирующих КОЕс при минимальной концентрации (1,11 кБк/г) введенного радионуклида носила неустойчивый колебательный характер в диапазоне от 30 до 110% от контроля (рис. 4.3.1б). Во 2-й опытной группе



(11,1 кБк/г) 3-кратное снижение численности мигрирующих КОЕс (180–270-е сут.) сменялось усилением миграционных процессов в 3 раза на 360-е сутки  $\beta$ -облучения. При этом в костном мозге и селезенке облученных мышей происходило 2-кратное, по сравнению с предыдущим сроком исследования, снижение концентрации КОЕс (рис. 4.1.6 и 4.2.1б), что может указывать на стимуляцию перераспределения СКК в кроветворной системе при суммарных дозах на ККМ порядка 30–35 Гр.

После однократного введения  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 29,6 кБк/г снижение концентрации КОЕс в периферической крови отмечено, начиная с 270-х суток облучения. В указанные сроки исследования в костном мозге численность КОЕс стабилизировалась на уровне 25% от контроля, а в селезенке происходило гиперрепопуляция (сверхнакопление) СКК (рис. 4.1.1б и 4.2.1б). Снижение миграции КОЕс в данных условиях может быть направлено на самоподдержание стволового кроветворного пула в костном мозге и, свидетельствовать об автономности функционирования селезенки, т.е. об активации собственных резервных стволовых клеток в селезенке облученных животных. Интересно отметить, что минимальные значения концентрации КОЕс в периферической крови были зафиксированы на 270-е сутки исследования вне зависимости от интенсивности радиационного воздействия.

***Эритроидные КОЕс периферической крови.*** Уменьшение числа мигрирующих КОЕс эритроидного направления дифференцировки происходило на 270-е сутки  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы вне зависимости от концентрации введенного радионуклида (рис. 4.3.2а). К 360-м суткам исследования в 1-й (1,11 кБк/г) и 2-й (11,1 кБк/г) концентрации эритроидных КОЕс в периферической крови восстановилась до уровня возрастной нормы, а в 3-й группе (29,6 кБк/г) составила 32% от контроля. Снижение численности мигрирующих эритроидных КОЕс во 2-й и 3-й группах облученных животных сопровождалось уменьшением их доли (рис. 4.3.2б).

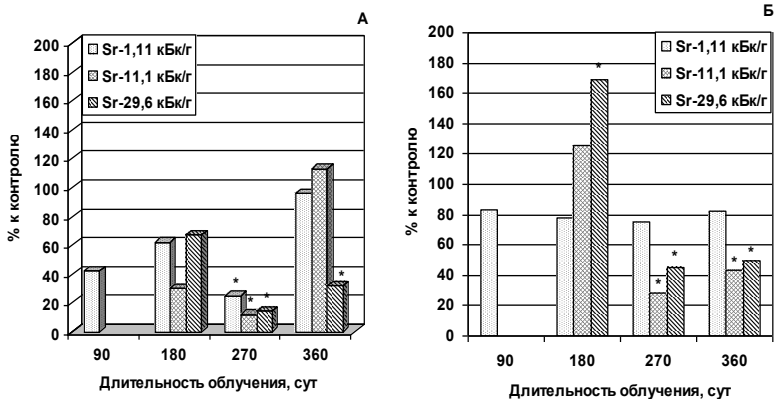


Рис. 4.3.2. Динамика концентрации (А) и доли (Б) эритроидных КОЕс периферической крови мышей линии СВА в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Увеличение доли эритроидных КОЕс в периферической крови (до 169% от контрольных значений) отмечено на 180-е сутки после однократного введения  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 29,6 kBк/г веса животного, когда в костном мозге численность эритроидных предшественников достигла критической величины – 5% от контроля (рис. 4.1.2). Данный факт свидетельствует об активации перераспределения эритроидных КОЕс в кроветворной системе облученных животных при накоплении суммарных доз на ККМ порядка 40 Гр.

**Гранулоцитарные КОЕс периферической крови.** Динамика концентрации гранулоцитарных КОЕс в периферической крови, представленная на рис. 4.3.3а, отражает стабильное сохранение в пределах возрастной нормы миграционных процессов в гранулоцитарном ростке. Временное снижение численности мигрирующих гранулоцитарных предшественников выявлено только в 3-й опытной группе (29,6 kBк/г) на 180-е сутки исследования. Сокращение доли мигрирующих гранулоцитарных КОЕс во 2-й группе (11,1 kBк/г) на 360-е сутки  $\beta$ -облучения

(суммарная доза на ККМ 32,9 Гр) происходит в условиях 10-кратного снижения концентрации гранулоцитарных КОЕс в костном мозге облученных животных (рис. 4.3.3б и 4.1.4).

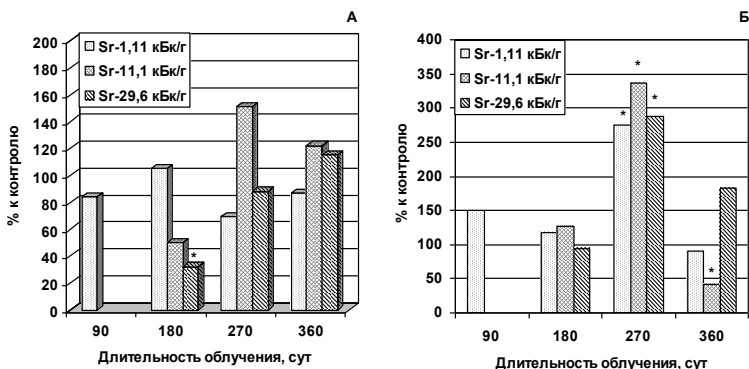


Рис. 4.3.3. Динамика концентрации (А) и доли (Б) гранулоцитарных КОЕс периферической крови мышей линии СВА в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Увеличение доли мигрирующих гранулоцитарных предшественников на 270-е сутки исследования вне зависимости от интенсивности радиационного воздействия может быть следствием активации гранулоцитопоэза в селезенке облученных мышей.

**Мегакариоцитарные КОЕс периферической крови.** На 90-е сутки исследования после однократного введения  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 1,11 kBq/g миграции мегакариоцитарных КОЕс не было обнаружено (суммарная доза на ККМ составила 1,16 Гр) (рис. 4.3.4а). Данный факт на фоне нормальной численности мегакариоцитарных предшественников в костном мозге (рис. 4.1.6а) и 3-кратного сокращения их численности в селезенке (рис. 4.2.6а) облученных животных свидетельствует об автономности функционирования отдельных популяций мегакариоцитарных КОЕс в указанные сроки исследования. Начиная с 270-суток хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью

дозы, происходит усиленная миграция мегакариоцитарных КОЕс, что подтверждается динамикой концентрации и доли мегакариоцитарных предшественников в периферической крови. Наибольшие значения концентрации мегакариоцитарных КОЕс в периферической крови отмечены во 2-й опытной группе (11,1 кБк/г) – 1050% (270-е сут.) и 14550% (360-е сут.).

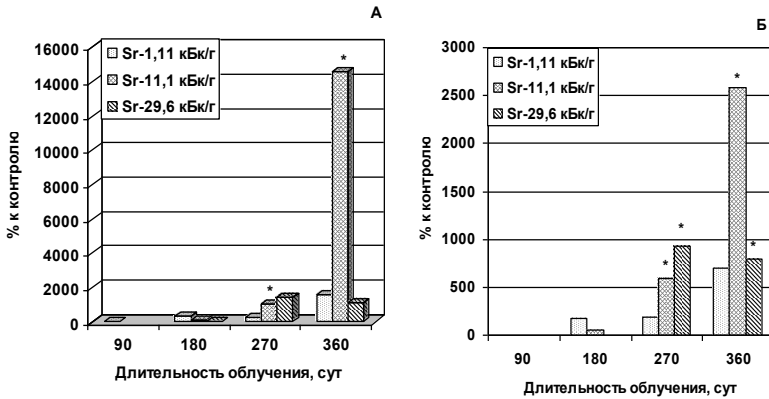


Рис. 4.3.4. Динамика концентрации (А) и доли (Б) мегакариоцитарных КОЕс периферической крови мышей линии СВА в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Увеличение доли мигрирующих мегакариоцитарных КОЕс выявлено во 2-й (11,1 кБк/г) и 3-й (29,6 кБк/г) экспериментальных группах на 270–360-е сутки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы. Данный факт в условиях депопуляции мегакариоцитарных КОЕс в костном мозге (рис. 4.1.6) и их гиперрепопуляции в селезенке (рис. 4.2.6) отражает, скорее всего, миграцию мегакариоцитарных КОЕс из селезенки облученных животных.

**Полипотентные КОЕс периферической крови.** В 1-й опытной группе (1,11 кБк/г) отмечено колебание численности мигрирующих полипотентных КОЕс в диапазоне от 13% до 89% от возрастной нормы (рис. 4.3.5); проходящее снижение

численности происходило на фоне нормальной концентрации полипотентных КОЕс в костном мозге и селезенке (рис. 4.1.8 и 4.2.8). Эти данные, возможно, указывают на автономность функционирования отдельных популяций полипотентных КОЕс, а само снижение миграционных процессов направлено на поддержание численности СКК в костном мозге и селезенке облученных животных.

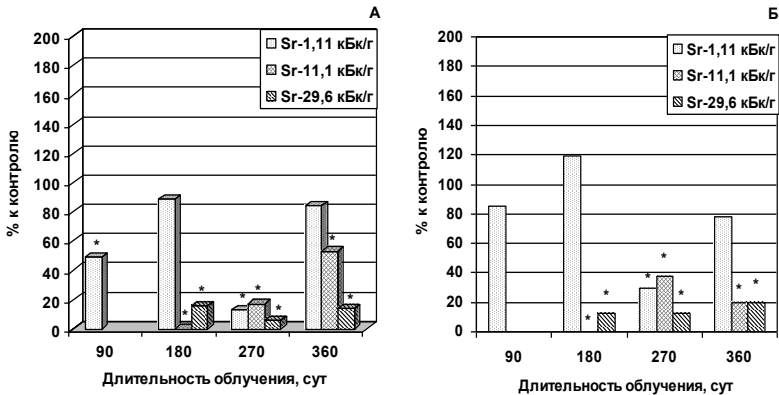


Рис. 4.3.5. Динамика концентрации (А) и доли (Б) полипотентных КОЕс периферической крови мышей линии СВА в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Во 2-й и 3-й группах уменьшение концентрации полипотентных КОЕс в периферической крови происходило на всех исследуемых сроках  $\beta$ -облучения (180–360-е сут.). Обращает на себя внимание тот факт, что на 180–270-е сутки исследования многократное снижение численности мигрирующих полипотентных КОЕс происходило на фоне депопуляции в костном мозге и их нормального содержания или гиперрепопуляции в селезенке облученных животных. Вероятнее всего, это свидетельствует об активации собственных СКК в селезенке в условиях подавления кроветворения в костном мозге.

#### 4.4. Системный анализ адекватности компенсаторно-приспособительных реакций в стволовом кроветворном пуле костного мозга облученных животных в отдаленные сроки (360-е сутки) после однократного введения $^{90}\text{Sr}$ в различных концентрациях

**Эритроидный росток.** На рис. 4.4.1. отражено состояние КОЕс, пролиферативного и созревающего пулов эритроидного ростка костного мозга в отдаленные сроки (360-е сут.) после однократного введения  $^{90}\text{Sr}$  в концентрациях 1,11; 11,1 и 29,6 кБк/г веса животного, суммарные дозы на ККМ составили 3,29; 32,9 и 87,7 Гр соответственно.

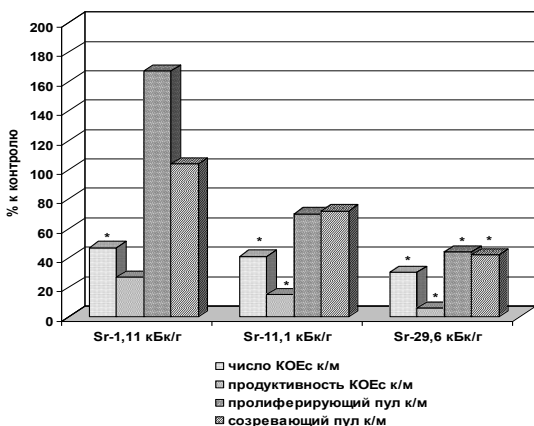


Рис. 4.4.1. Динамика численности и общей продуктивности КОЕс, пролиферативного пула<sup>Δ</sup>, созревающего пула<sup>Δ</sup> эритроидного ростка костного мозга мышей линии СВА на 360-е сутки хронического β-облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Примечание: <sup>Δ</sup> – данные получены канд. биол. наук Е.А. Пряхиным [109]

Отчетливо видно, что декомпенсация эритропоэза происходит ранее в стволовом кроветворном пуле костного мозга и с увеличением дозовой нагрузки отмечается прогрессивное угнетение эритропоэтической функции. Статистически значимое

снижение численности эритроидных КОЕс выявлено даже в условиях низко интенсивного  $\beta$ -облучения (1,11 кБк/г), уменьшение общей клеточной продуктивности КОЕс – после введения  $^{90}\text{Sr}$  в концентрациях 11,1 и 29,6 кБк/г. Сокращение численности пролиферативного и созревающего пулов эритроидного ростка (до 42–44% от контроля) наблюдается только при максимальной интенсивности радиационного воздействия, когда концентрация эритроидных КОЕс уменьшается в 3 раза, а их общая клеточная продуктивность в 17 раз по сравнению с возрастной нормой.

Таким образом, в отдаленные сроки хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы декомпенсация эритропоэза на уровне стволового кроветворного пула выявлена при суммарных дозах на ККМ порядка 30–35 Гр, на уровне пролиферативного и созревающего пулов – порядка 90 Гр. В целом при увеличении дозовой нагрузки отмечается постепенное прогрессивное истощение резервных возможностей эритропоэза в костном мозге облученных животных.

**Гранулоцитарный росток.** Снижение концентрации гранулоцитарных КОЕс, в отличие от эритроидных КОЕс, выявлено только в 1-й (1,11 кБк/г) и во 2-й (11,1 кБк/г) опытных группах (рис. 4.4.2). Декомпенсация гранулоцитопоза оцененная по общей продуктивности гранулоцитарных предшественников происходила только при суммарных дозах на ККМ порядка 30–35 Гр. Уменьшение 10-кратное численности и 25-кратное общей клеточной продуктивности гранулоцитарных КОЕс сопровождалось 2-кратным снижением численности созревающего пула (11,1 кБк/г). Наблюдаемые изменения в созревающем пуле гранулоцитарного ростка в данных условиях могут быть обусловлены, во-первых, ускоренной дифференцировкой гранулоцитарных клеточных элементов и их выходом в кровеносное русло, и во-вторых, задержкой созревания, т.е. увеличением транзитного времени клеток в пролиферирующем пуле. Эти компенсаторно-приспособительные реакции

направлены на поддержание количественного клеточного гомеостаза в гранулоцитарном ростке в условиях угнетения кроветворной функции в стволовой популяции.

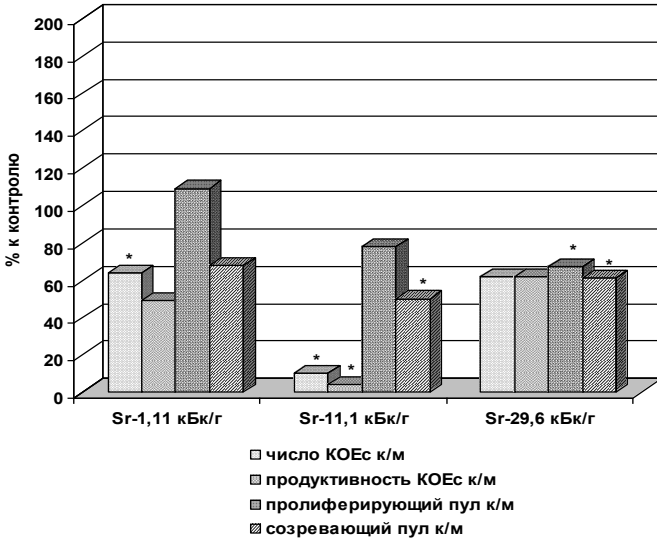


Рис. 4.4.2. Динамика численности и общей продуктивности КОЕс, пролиферативного пула<sup>Δ</sup>, созревающего пула<sup>Δ</sup> гранулоцитарного ростка костного мозга мышей линии СВА на 360-е сутки хронического β-облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Примечание: <sup>Δ</sup> – данные получены канд. биол. наук Е.А. Пряхиным [109]

При саркомогенной концентрации <sup>90</sup>Sr на 360-е сутки исследования (суммарные дозы на ККМ составили 87,7 Гр) происходит нормализация гранулоцитопоэза на уровне стволового кроветворного пула, что демонстрирует высокие резервные возможности гранулоцитарного ростка костного мозга. Продуктивность гранулоцитарных КОЕс в 10 раз превосходит значения данного параметра в популяции эритроидных КОЕс, а численность пролиферативного и созревающего пулов (67 и 61%



от контрольных значений) практически в 1,5 раза выше, чем в эритроидном ростке.

**Мегакариоцитарный росток.** Статистически значимое 7-кратное снижение общей клеточной продуктивности мегакариоцитарных КОЕс отмечено только во 2-й опытной группе (11,1 кБк/г) при суммарной дозе на ККМ 32,9 Гр, при этом численность мегакариобластов достигла минимального значения – 40% от контроля (рис. 4.4.3.).

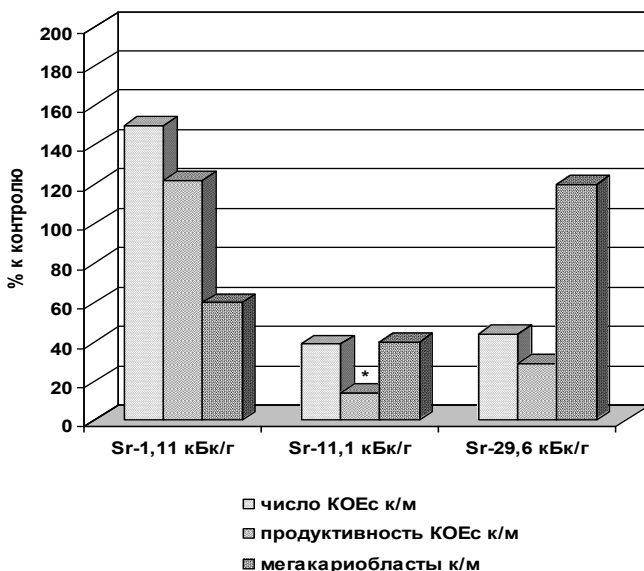


Рис. 4.4.3. Динамика численности и общей продуктивности КОЕс, пролиферативного пула<sup>Δ</sup>, созревающего пула<sup>Δ</sup> мегакариоцитарного ростка костного мозга мышей линии СВА на 360-е сутки хронического β-облучения со снижающейся мощностью дозы (\* –  $p \leq 0,05$ )

Примечание: <sup>Δ</sup> – данные получены канд. биол. наук Е.А. Пряхиным [109]

При более высоких дозовых нагрузках (29,6 кБк/г) происходит нормализация данного показателя и увеличение численности мегакариобластов, что говорит о реализации резервных

возможностей в мегакариоцитарном ростке костного мозга облученных животных. Поддержание в пределах возрастной нормы численности мегакариобластов в диапазоне суммарных доз на ККМ от 3,3 до 87,7 Гр свидетельствует о большей их радиоустойчивости, как полиплоидных клеток, по сравнению с пролиферативно-созревающими клеточными элементами эритроидного и гранулоцитарных ростков кроветворения.

Таким образом, для мегакариоцитарного ростка, как и для гранулоцитарного, критические значения исследуемых показателей наблюдаются в диапазоне суммарных доз на ККМ порядка 30–35 Гр (11,1 кБк/г), при увеличении дозовой нагрузки (29,6 кБк/г) происходит нормализация кроветворной функции на уровне стволового пула, свидетельствующая об активации резервных компенсаторных механизмов в данных ростках кроветворения.

## **V. ЗАКОНОМЕРНОСТИ КОЛИЧЕСТВЕННО-КАЧЕСТВЕННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В СТВОЛОВОМ ПУЛЕ СИСТЕМЫ КЛЕТОЧНОГО ОБНОВЛЕНИЯ КРОВЕТВОРЕНИЯ НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА В НОРМЕ И ПРИ РАДИАЦИОННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ**

### **5.1. Морфофункциональная характеристика КОЕс костного мозга, селезенки и периферической крови мышей линии СВА на разных этапах онтогенеза**

В ходе гистологического исследования было выявлено, что все исследуемые популяции КОЕс мышей линии СВА (3–15 мес.) имеют количественно-качественные отличия. Наибольшей эффективностью колониеобразования характеризуется костный мозг как основной кроветворный орган в постнатальном периоде онтогенеза. Популяции КОЕс селезенки и периферической крови отличаются не только меньшей численностью, но и сниженным пролиферативным потенциалом, что соответствует положению о возрастном составе стволовых клеток гемопоэтической СКО [23, 31, 147]. Возрастная иерархия СКК прослеживается и на уровне одного органа кроветворения. Так, 12-суточные КОЕс костного мозга, как менее дифференцированные гемопоэтические предшественники, превосходят 9-суточные практически по всем исследуемым параметрам за исключением концентрации и общего содержания.

Анализ клеточного состава селезеночных колоний позволил выявить следующие закономерности. Полипотентные предшественники преобладают в менее дифференцированной популяции костного мозга, обеспечивая самый широкий спектр дифференцировочных потенциалов КОЕс. Наибольшей стабильностью обладают гранулоцитарные и мегакариоцитарные предшественники, доля которых составляет в среднем соответственно 11–17% и не более 9% вне зависимости от происхождения КОЕс. Интересен тот факт, что в отличие от литературных данных [107, 136, 217], выявленный нами дифференцировочный потенциал КОЕс периферической крови отражает возможность миграции практически всех типов кроветворных предшественников (эритроидных, гранулоцитарных, смешанных) за исключением мегакариоцитарных. Равновесное участие в миграции различных типов КОЕс обеспечивает полноценный обмен СКК между различными участками кроветворения как в физиологическом равновесном состоянии, так и при экстремальных воздействиях. Полученные данные соответствуют представлению о случайном характере отбора КОЕс для миграции [92]. Исключение составляет мегакариоцитарный росток, полноценное развитие которого, вероятно, нуждается в специфическом кроветворном микроокружении, которое в норме присутствует только в костном мозге.

В ходе исследования нами не отмечено инволюции практически ни одного из показателей кроветворения в исследуемый период онтогенеза (3–15 мес.) как для костного мозга, так и для селезенки и периферической крови. Наоборот, с возрастом происходило достоверное увеличение концентрации КОЕс, среднего и общего объемов продуцируемых ими клеточных клонов. Наибольшие изменения морфометрических параметров отмечены для эритроидных и смешанных колоний. На более поздних этапах постнатального развития (24–28 мес.) по данным ряда авторов [9, 98, 173], при тестировании КОЕс костного мозга наряду со снижением пролиферативного потенциала происходит достоверное уменьшение числа эритроидных или гранулоцитарных колоний.

В то время как число смешанных и мегакариоцитарных предшественников несколько возрастает.

В исследуемый нами период онтогенеза (3–15 мес.) в костном мозге не происходит изменения доли эритроидных и гранулоцитарных колоний, т.е. наблюдается квазистационарное состояние для данных ростков кроветворения. Усиление эритропоэтической функции зарегистрировано у 12–15-месячных животных при тестировании КОЕс селезенки. Двукратное сокращение доли гранулоцитарных предшественников выявлено только в периферической крови, начиная с 9-го месяца индивидуального развития мышей, следовательно, интенсивная рециркуляция (перераспределение) предшественников гранулоцитопоэза происходит у молодых животных (3–4 мес.).

Возрастная динамика смешанных и мегакариоцитарных предшественников выражается в том, что спектр дифференцировочных потенциалов СКК костного мозга, селезенки и периферической крови смещается в сторону смешанных колоний, их доля достоверно возрастает на 30, 100 и 400% соответственно. Разнонаправленной оказалась возрастная динамика мегакариоцитарного ростка исследованных отделов системы крови. Активация мегакарицитопоэза происходила в костном мозге (КОЕс-12сут.) и селезенке, в то время как в периферической крови мышей, начиная с 9-го месяца постнатального развития, рециркуляции мегакариоцитарных предшественников не наблюдалось. Преходящее угнетение мегакариоцитарного ростка происходило в костном мозге у 4-месячных животных.

В соответствии со стохастической теорией кроветворения [228, 238] детерминация дифференцировки СКК в нормальных условиях является нерегулируемым процессом, а действие индукторов гемопоэза типа эритропоэтина, колониестимулирующего фактора направлено на специализацию коммитированных предшественников. Гипотеза индуктивного микроокружения [215, 219, 240, 245], напротив, основывается на данных в пользу существования физиологических механизмов регуляции ранних

этапов дифференцировки СКК. Согласно гипотезе возрастной смены "пластов" кроветворных и некроветворных клеток [23], каждому возрасту свойственен свой набор активных дифференцировочных генов в родоначальных клетках, регулируемый рядом факторов – гормонами, ферментами, ростовыми факторами и др. В настоящее время большое внимание уделяется анализу роли отдельных компонентов микроокружения в регуляции функций СКК, в том числе и тимус-зависимого компонента, так как естественное старение организма сопровождается инволюцией тимуса [26, 71, 76, 95, 96, 98, 100, 107, 128, 129, 141, 157, 222]. Адекватной моделью изучения особенностей дифференцировки стволовых клеток различных органов кроветворения в нормальных условиях, в онтогенезе является тимэктомия и введение гуморальных факторов вилочковой железы [26].

Известно, что в селезеночной ткани мышей в отличие от костного мозга содержится меньшая концентрация стволовых элементов при высоком содержании лимфоцитов [97, 237]. Данные, полученные Э. И. Валькович и соавторами [26], подтверждают существование гетерогенности кроветворного индуктивного микроокружения СКК, зависимого от вилочковой железы, в костном мозге и селезенке мышей линии СВА. При клонировании КОЕс костного мозга происходит стабильное снижение роста гранулоцитарных колоний в разные сроки после тимэктомии. Результаты исследований КОЕс селезенки [107] свидетельствуют об усилении роста эритроидных колоний в ранние сроки после тимэктомии и активации гранулоцитопозза спустя 32–34 недели после операции. Предполагают, что в селезенке лишенных тимуса животных происходит потеря стабильности тимического влияния, проявляющаяся поэтапной элиминацией клонов Т-клеток, противоположным образом влияющих на дифференцировку СКК [26].

Изучение морфологического состава селезеночных колоний, образованных 8- и 11-суточными КОЕс из костного мозга тимэктомированных мышей линии (С57ВL/СВА)F<sub>1</sub> в возрасте от

2–2,5 мес. до 25–26 мес. показало, что число 11-суточных мегакариоцитарных колоний заметно увеличено (примерно в 3 раза) в отличие от нормального костного мозга. Доля мегакариоцитарных колоний, тенденция к увеличению которых наметилась среди 8-суточных колоний, также возрастала. Выявленные изменения дифференцировочного потенциала КОЕс-11сут. у тимэктомированных животных связывают с количественной регуляцией СКК, т.е. с темпом пролиферации клеток колоний конкретных ростков кроветворения. Количественная регуляция СКК, осуществляемая на уровне коммитированных клеток-предшественников линейно-специфическими факторами типа эритропоэтина, ГМ-КСФ, Г-КСФ, М-КСФ, мегакариоцитарного КСФ и др., модифицируется активностями Т-клеточной природы. Отсюда можно полагать, что в отсутствие тимуса ослабляется действие одних линейно-специфических факторов или рецепторов к ним, но усиливается действие других, в частности, стимулирующих мегакариопоэз [128, 129]. С естественной инволюцией тимуса может быть связано и старение эритроидного ростка – у старых мышей линии СВА в возрасте 21–24 месяца наблюдалось снижение всех изучаемых показателей эритропоэза [9]. Косвенно это подтверждается тем, что удаление тимуса и его дисфункции, как правило, сопровождаются эритроидной аплазией и анемией [129, 157].

Таким образом, данные литературы и результаты собственных исследований кроветворной функции в онтогенезе мышей линии СВА указывают на количественно-качественные изменения КОЕс: их числа, пролиферативного и дифференцировочного потенциалов. Установлено возрастное перераспределение отношения эритроидных колоний к гранулоцитарным (Э/Г) и активация мегакариопоэза как в костном мозге, так и в селезенке; а также участие КОЕс практически любого уровня и направления дифференцировки в миграции.

## **5.2. Компенсаторно-приспособительные реакции стволового пула кроветворных клеток, направленные на поддержание общего объема гемопоэтической ткани в условиях хронического радиационного воздействия с убывающей мощностью дозы**

### ***5.2.1. Характеристика фазности изменений количества КОЕс костного мозга, селезенки и периферической крови у облученных животных***

Кинетика КОЕс костного мозга мышей линии СВА при введении  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 1,11 кБк/г веса животного носила фазный характер, сопоставимый с количественными изменениями КОЕс при хроническом  $\gamma$ -облучении с мощностью дозы 1–2,5 сГр/сут [136]. Стресс-реакция характеризовалась опустошением стволового пула в пределах 25–30% от нормы при суммарных дозах на ККМ 0,14–0,25 Гр (6–13-е сут.) и сменилась восстановлением концентрации КОЕс до уровня нормы. В отдаленные сроки исследования (180–360-е сут.) концентрация КОЕс костного мозга стабильно поддерживалась на уровне 55–65% от контроля. Гомеостатические механизмы, удерживающие это состояние, могут заключаться в установившемся равновесии между продукцией КОЕс, их дифференцировкой и гибелью. По данным К.Н. Муксиновой [89], при дефиците КОЕс в 40–50% система гемопоэза способна обеспечить организм клетками крови в пределах физиологической нормы.

Реакция КОЕс селезенки и периферической крови в условиях относительного благополучия в костном мозге носила циклический характер на протяжении всего срока облучения до суммарных доз на ККМ 3,29 Гр: периоды депопуляции неоднократно сменялись восстановлением численности КОЕс до уровня нормы.

В отдаленные сроки (90–360-е сут.) после однократного введения  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации в концентрации 11,1 кБк/г веса



животного наблюдалась дестабилизация численности КОЕс в костном мозге облученных животных. Концентрация 9-суточных КОЕс колебалась в пределах 13–60% от возрастной нормы, количество 12-суточных КОЕс превосходило данные значения в среднем на 10%. Декомпенсация кроветворной функции в стволовом пуле костного мозга сопровождалась активацией кроветворения в селезенке облученных мышей, начиная со 180-х суток исследования. Активное перераспределение СКК – усиление миграции КОЕс, выявлено на заключительном сроке исследования (360-е сут.).

При однократном введении  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 29,6 кБк/г веса животного при суммарной дозе на ККМ 3,76 Гр (6-е сут.) стволовая популяция костного мозга достигла критического состояния – концентрация и общее содержание КОЕс составили 1,5% и 5% соответственно. Последующие активные регенерационные процессы вывели концентрацию 9-суточных КОЕс костного мозга на уровень одновозрастного контроля (суммарная доза на ККМ 9,62 Гр). Полученные нами значения критического уровня запрета на дифференцировку существенно ниже ранее полученной экспериментальной оценки для мышей – 6–10% [180, 243] и приближены к данным по человеку – 0,2–0,9% [122]. Повторное опустошение пула КОЕс (до 25% от нормы) на 30-е сутки  $\beta$ -облучения, опираясь на литературные данные [234], можно рассматривать как дозозависимую реакцию СКК при однократном воздействии  $^{90}\text{Sr}$  в количестве от 93 до 592 кБк/животное. В целом кинетика 9-суточных КОЕс костного мозга в ранние сроки  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы от 73,6 до 31,4 сГр/сут соответствует эффектам однократного общего облучения в сублетальной дозе [64], так как исходная мощность дозы попадает в разряд лимитирующих доз для стволовой популяции кроветворных клеток [243].

В отдаленные сроки исследования (180–360-е сут.) выявлены две волны регенерации стволового пула костного мозга при суммарных дозах на ККМ порядка 41 Гр (до уровня нормы) и

88 Гр (до 25–32% от контроля). Ранее было показано, что хроническое  $\gamma$ -облучение мышей с мощностью дозы 10 сГр/сут [39] и 16 сГр/сут [168, 170, 171] сопровождается репопуляцией КОЕс костного мозга до 50–55% от контроля при суммарных дозах 42–45 Гр. Вероятно, наблюдаемый феномен можно связать с процессами перестройки гемопозиндуцирующего микроокружения (ГИМ) – замещением менее коммитированной радиочувствительной субпопуляции КОЕ<sub>ф</sub> на более дифференцированные и более радиорезистентные субпопуляции КОЕ<sub>ф</sub>. Толерантным уровнем доз для ГИМ (для костного мозга человека при лучевом лечении лимфогрануломатоза) считается суммарная накопленная доза в 30–35 Гр [63]. Более выраженное восполнение стволового пула при  $\beta$ -облучении может определяться снижающейся мощностью дозы радиационного воздействия от 73,6 до порядка 20 сГр/сут.

Регенерационные процессы в отдаленные сроки  $\beta$ -облучения при суммарной дозе 87,7 Гр могут обеспечиваться более радиорезистентными популяциями СКК, наличие которых показано [39, 66, 158, 160, 163]. Подтверждением чему может служить более высокая концентрация менее дифференцированной стволовой субпопуляции (КОЕс-12сут.), которая характеризуется меньшей радиочувствительностью по сравнению с 9-суточными КОЕс [33, 75]. Однако длительная суммация радиационных повреждений приводит к ограничению функциональных возможностей КОЕс – снижаются их пролиферативный и дифференцировочный потенциалы.

Как показали наши исследования саркомогенные дозы  $^{90}\text{Sr}$  (29,6 кБк/г) вызывают резкую перестройку системы гемопоза – активацию селезеночного кроветворения при подавленной функции красного костного мозга. Гиперрегенерация стволовых элементов в селезенке произошла при суммарной дозе на КKM 9,62 Гр и продолжалась до конца наблюдений.

Данные, представленные в работах [146, 191, 241], свидетельствуют о различиях в пострadiационных изменениях

кроветворных территорий в костном мозге и селезенке. При регенерации гемопоэтической ткани в костном мозге регистрируемый уровень стабилизации числа СКК всегда ниже нормального. Причиной этого служит то, что после облучения поддерживающее гемопоэз микроокружение медленно или вообще не восстанавливается (оказывается необратимо поврежденным). Оно может обеспечить заселение и развитие того количества гемопоэтических клеток, которое необходимо для пострadiационной компенсации кроветворения, но нормальное содержание клеток в таком костном мозге не восстанавливается как при общем, так и при местном облучении. Количество КОЕс в селезенке, наоборот, некоторое время поддерживается выше нормального (овершут) и только затем возвращается к исходному уровню.

Сверхнакопление СКК в селезенке облученных животных по мнению многих ученых [51, 67, 134, 143] связано с двумя одновременно протекающими процессами. Во-первых, возможна репопуляция стволового пула селезенки, осуществляемая мигрирующими костномозговыми КОЕс. В наших исследованиях количество мигрирующих СКК стабильно поддерживалось на уровне контрольных значений в течение 180-ти суток до суммарной дозы на КKM 41 Гр. Во-вторых, в селезенке грызунов при радиационном воздействии могут активироваться собственные стволовые клетки, которые в обычных условиях находятся в стадии  $G_0$ . Таким образом, в селезенке облученных животных, видимо, снимается обычное для этого органа ингибирующее действие на пролиферацию СКК.

В целом динамику количества КОЕс в костном мозге, селезенке и периферической крови можно рассматривать как смену процессов угнетения и восстановления, пусковым механизмом которой является достижение критического уровня костномозгового кроветворения с последующей реализацией "запрета на дифференцировку" СКК. Реакцию селезенки (расширение плацдарма кроветворения) мы рассматриваем как компенсаторно-приспособительную в условиях преимущественного облучения

красного костного мозга. Соотношение процессов поражения и восстановления в пуле КОЕс мышей, подвергшихся продолжительному облучению, определяется наличием и интенсивностью восстановительных процессов, развивающихся во время облучения [6, 161, 159]. Уменьшение биологического эффекта радиационного воздействия с малой мощностью дозы на СКК связывают с репарацией лучевых повреждений, изменением их радиорезистентности, укорочением циклов клеточной генерации [16, 39, 151, 159].

### ***5.2.2. Проллиферативный потенциал КОЕс костного мозга, селезенки и периферической крови у облученных животных***

Компенсаторно-приспособительные реакции стволового пула кроветворных клеток в ответ на длительное воздействие радиационного фактора зависели как от мощности дозы, так и от суммарной дозы облучения. Так, первичное опустошение КОЕс костного мозга компенсировалось 2–3-кратным увеличением среднего объема колоний вне зависимости от количества введенного  $^{90}\text{Sr}$ . Отличия между двумя опытными группами заключались в продолжительности данной компенсаторной реакции и широте охвата различных популяций КОЕс. Так, введение радионуклида в количестве 1,11 кБк/г приводило к увеличению пролиферативного потенциала только популяции КОЕс костного мозга в течение 20-и суток после начала облучения до накопления суммарной дозы на ККМ порядка 0,5 Гр. При более интенсивном радиационном воздействии (29,6 кБк/г) данная компенсаторно-приспособительная реакция, продолжаясь в течение 3-х суток (до суммарной дозы на ККМ 2,24 Гр), охватила и популяцию КОЕс селезенки. Таким образом, радиационное воздействие с низкой мощностью дозы (2,76–1,29 сГр/сут) вызывает приспособительную реакцию локального характера, а с мощностью дозы порядка 75–55 сГр/сут сопровождается системной ответной реакцией.

Результаты, полученные при действии других экстремальных факторов, например, цитостатиков, также свидетельствуют, что селезеночные колонии, продуцируемые КОЕс костного мозга мышей, какое-то время после воздействия оставались значительно крупнее. Так называемые экстраколонии указывают на происходящую в условиях напряженного гемопоэза смену клеток-предшественников, обеспечивающих гемопоэз [113]. Следовательно, увеличение пролиферативного потенциала КОЕс в первые сутки воздействия экстремального фактора можно рассматривать как неспецифическую стресс-реакцию на фоне депопуляции СКК, направленную на сохранение/расширение общего объема гемопоэтической ткани.

С накоплением поглощенной дозы ( $^{90}\text{Sr}$ , 11,1 и 29,6 кБк/г) происходило достоверное снижение пролиферативного потенциала СКК всех исследуемых отделов кроветворения. Так, при введении  $^{90}\text{Sr}$  в количестве 29,6 кБк/г снижение данного параметра выявлено: для 9-суточных КОЕс костного мозга – при суммарной дозе на ККМ 9,62 Гр (20-е сут.), периферической крови – при 12,57 Гр (30-е сут.), селезенки – при 41 Гр (180-е сут.) и 12-суточных КОЕс костного мозга – при 68 Гр (270-е сут.). Снижение продуктивности тестируемой гемопоэтической ткани определялось в первую очередь сокращением численности стволовых элементов. Уменьшение пролиферативного потенциала КОЕс существенно отразилось на продуктивности гемопоэтической ткани только при накоплении соответствующих суммарных доз на ККМ: для КОЕс костного мозга, периферической крови – 10–13 Гр и селезенки – порядка 41 Гр. Динамика общего объема колоний определялась морфометрическими показателями смешанных и эритроидных колоний на всех сроках  $\beta$ -облучения.

Снижение, стабилизация или усиление продуктивности мегакариоцитарного ростка происходили только за счет изменения числа колоний, в то время как пролиферативный потенциал мегакариоцитарных предшественников оставался в пределах контрольных значений на протяжении всего срока

хронического радиационного воздействия со снижающейся мощностью дозы от 73,6 до 16,5 сГр/сут.

Интересен тот факт, что при радиационном воздействии меньшей интенсивности (1,11 кБк/г) снижение пролиферативного потенциала КОЕс всех исследуемых отделов кроветворения носило временный характер и достоверное уменьшение общего объема колоний было вызвано, как правило, депопуляцией КОЕс, а не их пролиферативным потенциалом. Для мигрирующих КОЕс морфометрические показатели мегакариоцитарного ростка соответствовали значениям КОЕс-9-сут. костного мозга и селезенки интактных животных.

Снижение пролиферативного потенциала КОЕс можно рассматривать как отдаленный эффект хронического радиационного воздействия вне зависимости от источника облучения. Ранее [29, 30, 168, 170, 171] при хроническом  $\gamma$ -облучении мышей линии СВА с мощностью дозы 16 сГр/сут было выявлено уменьшение среднего объема колоний, продуцируемых КОЕс костного мозга и селезенки, при сопоставимых суммарных дозах облучения – 43,2 Гр и 28,8 Гр соответственно. Достоверное сокращение среднего объема колоний, образуемых как 8- так и 12-суточными КОЕс костного мозга, зарегистрировано в отдаленные сроки после подострого  $\gamma$ -облучения в дозе 4 Гр [29].

Согласно данным, опубликованным в работах [20, 121, 183, 231, 232], радиационное поражение полипотентных СКК приводит к тому, что освободившиеся гемопоэтические "ниши" заполняются любыми стволовыми клетками, в том числе и более поздних возрастов, а значит, с уменьшенной возможностью воспроизведения клеток. Клетки поздних генераций пролиферируют с генерационным циклом меньшей длительности. Это приводит к более быстрому восстановлению численности пула СКК, но впоследствии в этих "нишах" будут воспроизводиться клетки более поздних генераций и никогда не заменятся на истинно полипотентные стволовые клетки. Тем самым сокращается пролиферативный потенциал СКК костного мозга [136].

Уменьшение размеров колоний и соответственно общей массы гемопоэтической ткани под воздействием радиационного фактора может быть обусловлено удлинением клеточного цикла КОЕс или/и увеличением времени, необходимого для дифференцировки, что определяется генетическими повреждениями, персистирующими в продуцирующих эти клоны СКК [29, 23].

Исключение составляет мегакариоцитарный росток. В ходе хронического  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы морфометрические параметры мегакариоцитарных колоний не только не изменяются (КОЕс костного мозга и селезенки), но и увеличиваются (мигрирующие КОЕс), что подтверждает их высокую радиорезистентность.

Таким образом, изменение среднего объема колоний может быть обусловлено снижением пролиферативного потенциала КОЕс той же самой генерации (из-за генетических дефектов в самих СКК и дестабилизации кроветворного микроокружения) или/и сменой клеточных генераций с преобладанием менее или более дифференцированных СКК. В отличие от острого однократного облучения [30] при хроническом радиационном воздействии определенный вклад в снижение пролиферативного потенциала КОЕс кроветворных органов вносит перераспределение клеточных линий при дифференцировке [168, 167, 170].

### ***5.2.3. Дифференцировочный потенциал КОЕс костного мозга, селезенки и периферической крови у облученных животных***

В литературе имеются многочисленные сообщения о взаимоотношениях эритро- и гранулопоэтических ростков кроветворения [4, 8, 45, 54–56, 61, 86, 87, 124, 136, 137, 196, 243]. Установлено, что стимуляция эритропоэза с помощью различных воздействий – кровопотери, гипоксии, фенилгидразной анемии и введения экзогенного эритропоэтина – ослабляет гранулопоэтическую активность. Полученные результаты трактуются с точки зрения существования в организме полипотентной стволовой клетки, дифференцировка которой в том или ином направлении в

значительной степени зависит от запроса со стороны какого-либо дифферона. По крайней мере, можно утверждать, что этот механизм работает при целенаправленных экстремальных воздействиях, когда система выходит из равновесного состояния и возникает необходимость скорейшего количественного восстановления определенного клеточного ряда. По-видимому, все воздействия, стимулирующие или ингибирующие эритропоэз, в той или иной степени обуславливают изменения в пролиферативной и миграционной активностях плюрипотентных СКК и могут выступать в качестве индукторов дифференцировки СКК, когда ее стимуляция в направлении, например, эритропоэза идет в ущерб гранулопоэзу и, наоборот, – в условиях подавленного эритропоэза наблюдается усиление гранулопоэза. По всей вероятности, подобные взаимоотношения могут существовать между эритро- и лимфопоэзом [61].

При воздействии  $^{90}\text{Sr}$  с убывающей мощностью дозы общей реакцией всех исследуемых популяций КОЕс являлось последовательное перераспределение баланса гистологических типов колоний в пользу гранулоцитарного и мегакариоцитарного ростков при угнетении эритроидных и смешанных колоний. Таким образом, наряду с хорошо известными конкурентными отношениями между эритроидным ростком и гранулоцитарным нами на уровне стволового пула клеточных клеток выявлено изменение соотношения эритроидных колоний к мегакариоцитарным.

**Эритроидный росток.** С одной стороны, полученные нами данные в отношении эритроидного роста противоречат положению о том, что при облучении происходит перераспределение дифференцировки СКК с преимущественным коммитированием в эритроидный росток [45, 61, 87]. Данное положение основывается на высокой радиорезистентности созревающего и функционального пула эритропоэза. Срыв эритропоэтической функции происходит при накоплении суммарных доз порядка 80–90 Гр при внутреннем  $\beta$ -облучении [109] и порядка 40 Гр при



общем внешнем  $\gamma$ -облучении [168]. Такой запас прочности эритропоэза объясняется необходимостью поддержания дыхательной функции крови для выживания организма [4, 5]. Механизм реализации преимущественной дифференцировки СКК в направлении эритропоэза связывают с изменением параметров клеточного цикла в условиях активной регенерации кроветворения [61, 161]. Наблюдаемый высокий уровень пролиферативной активности полипотентных СКК [86] при вероятном укорочении продолжительности клеточного цикла обуславливает преимущество эритропоэтического детерминирования, которое при наличии соответствующего микроокружения реализуется стимуляцией эритропоэза [61].

С другой стороны, ранее [161] при гистологическом анализе селезеночных колоний было показано, что кратковременное и пролонгированное облучение мышей линии (СВАхС57В1)F<sub>1</sub> в суммарной дозе 6 Гр сопровождается снижением эритропоэтических потенций КОЕс костного мозга. Снижение способности СКК формировать эритроидные колонии в селезенке реципиентов под влиянием радиации согласуется с положением о высокой радиочувствительности клеток-предшественников эритропоэза [158, 160, 161]. Одним из возможных механизмов, приводящих к тестируемой высокой радиочувствительности предшественников эритропоэза, является увеличение генерационного цикла у части выживших клеток. В результате развитие эритроидных колоний в селезенке мышей-реципиентов ко времени их тестирования (9-е сут.) значительно запаздывает [161]. Косвенным подтверждением тому может служить выявленное нами менее выраженное угнетение эритроидного ростка в популяции 12-суточных КОЕс костного мозга.

Комплексная оценка состояния эритропоэза у мышей линии СВА при  $\gamma$ -облучении с мощностью дозы 16 сГр/сут до суммарной дозы 42,3 Гр, учитывающая все этапы развития кроветворных клеток (КОЕс-9сут. – делящийся пул – созревающий пул костного мозга), показала, что стволовой пул и клетки

последующих этапов дифференцировки находятся в состоянии противофазы [168]. Несоответствие содержания гемопоэтических предшественников и динамики отдельных ростков кроветворения было получено в условиях однократного применения цитостатиков [36]. Данный феномен связывают с различным соотношением процессов пролиферации и дифференцировки кроветворных прекурсоров. Обнаруженный факт дал основание считать, что ведущим механизмом восстановления костномозговых показателей после введения цитостатиков является ускоренная дифференцировка кроветворных клеток предшественников. Следовательно, можно предположить, что при хроническом радиационном воздействии снижение числа и доли эритроидных колоний обусловлено ускоренной дифференцировкой эритроидных предшественников и их выходом в пул созревающих клеточных элементов. О неспецифическом характере реакции предшественников эритропоэза на хроническое радиационное воздействие со снижающейся мощностью дозы от 74 до 17 сГр/сут до суммарных доз порядка 90 Гр свидетельствует отсутствие значимых корреляционных связей между показателями эритроидного ростка и параметрами облучения.

С этих позиций высокая радиочувствительность предшественников эритропоэза, тестируемая по выживаемости КОЕс, может быть связана не только с радиопоражением эритроидного ростка, но и с раздражающим действием ионизирующей радиации на СКК данного направления дифференцировки. Мы предполагаем, что при хроническом радиационном воздействии происходит ускорение дифференцировки СКК и их выхода в пул созревающих клеток, что согласуется с положением о преимущественном коммитировании стволовых клеток в эритроидный росток [45, 50, 87] и интенсификации эритропоэза [4, 5] в целях поддержания гомеостаза облученного организма.

Однако анализ морфометрических параметров эритроидных колоний при тестировании КОЕс облученных животных

выявил многократное снижение пролиферативного потенциала КОЕс. Данный факт может свидетельствовать о вырождении (старении) предшественников эритропоэза в результате накопления и закрепления генетических повреждений в пуле СКК [30].

Естественный уровень резистентности клеток к действию ионизирующей радиации определяет репарация ДНК. Способность КОЕс репарировать СЛП значительно снижается в регенерирующем костном мозге, где СКК активно пролиферируют (т.е. у циклирующих КОЕс) [93]. В период формирования отдаленных эффектов ионизирующей радиации СКК животных несут (накапливают) тяжелые структурные повреждения ДНК, которые мешают течению нормальных метаболических процессов и, в крайнем случае, могут вызвать гибель клеток. Часть повреждений ДНК реализуется в хромосомные aberrации стабильного типа. Нерепарированные нелетальные повреждения ДНК в клетках при воздействии повреждающих агентов – источник возникновения мутаций и злокачественной трансформации клеток [51, 83, 84]. В условиях напряженного гемопоэза, особенно в пуле СКК, следует ожидать увеличения числа злокачественных трансформаций клеток и уменьшения иммунного ответа на опухолевые антигены, а также нарушения иммунного надзора в организме, что в конечном итоге ведет к увеличению выхода злокачественных опухолей [4, 5, 51, 82]. Определенный вклад в регистрируемое уменьшение способности СКК к восстановлению лучевых повреждений в поздние сроки облучения вносит наслоение пострадиационных изменений на возрастные, т.к. у старых животных интенсивность репарационных процессов ниже, чем у молодых за счет увеличения груза мутаций или усиления нестабильности ДНК, особенно у облученных животных [29].

Вышесказанное подтверждается результатами цитологических исследований [168]. Анализ кариоцитов костного мозга мышей линии СВА, облученных с мощностью дозы 16 сГр/сут до

суммарных доз порядка 40 Гр, показал наличие в эритроидном ряду большого числа диспластических изменений, особенно, частоты клеток с кариорексисом, приводящим к гибели клеток.

Однако в целом, несмотря на то, что длительное  $\gamma$ -облучение увеличивает частоту нарушений, ведущих к гибели эритроидных элементов, сам эритропоэз оказывается более устойчивым по сравнению с гранулоцитопоэзом. Следовательно, в ходе эволюции были сформированы механизмы компенсации эритропоэтической функции, реализуемые как на уровне СКК, так и более дифференцированных клеточных элементов. Наличие механизмов количественной компенсации в пролиферирующем и созревающем пулах кроветворных клеток костного мозга эритроидного направления дифференцировки показано в ряде исследований [8, 86, 167, 168].

**Гранулоцитарный росток.** Гранулоцитопоэз на уровне стволового пула характеризуется относительной стабильностью исследуемых параметров на разных этапах онтогенеза как у интактных [9], так и у облученных животных [167, 170]. Изменение баланса гистологических типов колоний в пользу гранулоцитопоэза на фоне угнетения эритропоэза является одним из первых приоритетных направлений количественной передифференцировки КОЕс селезенки и костного мозга при хроническом радиационном воздействии.

Проблема конкурентных отношений эритро- и гранулоцитопоэза достаточно хорошо разработана для КОЕс на модели адреналэктомии и введения малых доз глюкокортикоидов [1,13, 60, 79, 80, 112, 156]. Установлено, что регулирующее влияние гипофизарно-надпочечниковой системы на состояние СКК проявляется не только в активации их пролиферации [13, 112], модификации радиочувствительности КОЕс, но и в изменении соотношения гистологических типов колоний [1, 156]. Найдено, что КОЕс костного мозга усиливали потенции в направлении эритропоэза, а КОЕс селезенки – миелопоэза, что не является характерным для тех же КОЕс нормальных мышей линии

(CBAxС57Bl)F<sub>1</sub>. При этом происходили существенные сдвиги в радиочувствительности СКК: радиорезистентность стволовых элементов костного мозга понижалась, а селезенки – повышалась по сравнению с контролем.

Изменение распределения типов колоний может быть связано с возможностью дистанционного влияния гормонов на КОЕс или на уже коммитированные КОЕс костного мозга. Глюкокортикоиды уменьшают образование глюкозаминогликанов, что, возможно, и оказывает влияние на пролиферацию и дифференцировку клеток эритроидного ряда путем изменения микроокружения или делает более доступным КОЕс для гуморальных или клеточных воздействий [1]. Предполагается, что потенции КОЕс к дифференцировке в направлении эритромиелопоэза находятся в прямой зависимости с состоянием Т-системы иммунитета. Исследования показали, что в условиях стресса, равно как и при введении животным и человеку кортикостероидов, происходит перераспределение кортизонрезистентных Т-лимфоцитов и, в частности, их миграция из лимфоидной ткани в костный мозг. Возможно, что перераспределение Т-лимфоцитов происходит наряду с изменением их субпопуляционного состава или функциональных свойств [1, 156].

В настоящее время показано, что при хроническом радиационном воздействии наряду с радиационно-индуцированными эффектами в кроветворной системе наблюдаются признаки иммунологического дисбаланса с перестройкой внутрисистемных и межсистемных связей между компонентами иммунной и кроветворной систем [168, 169]. Следовательно, активация гранулоцитопоэза, особенно при тестировании КОЕс селезенки облученных животных, может реализовываться через неспецифические механизмы стресс-реакции, связанные с изменением кроветворного микроокружения, в частности, Т-клеточного компонента. Неспецифичность реакции активации гранулоцитопоэза подтверждается отсутствием значимых корреляционных связей показателей гранулоцитарного роста с

параметрами облучения при хроническом радиационном воздействии со снижающейся мощностью дозы от 2,8 до 0,6 сГр/сут (суммарные дозы на ККМ порядка 3 Гр).

**Мегакариоцитарный росток.** Тромбоциты являются более чувствительными к пролонгированному облучению, чем эритроциты и гранулоциты [91, 108], и их количество начинает понижаться при облучении с мощностью дозы 3 и 6 сГр/сут., а при мощности дозы 10 сГр/сут. их число снижается до 50% от контрольных значений при накоплении суммарной дозы порядка 3 Гр. Длительная декомпенсация тромбоцитов объяснялась сокращением числа делений в пролиферативной фазе развития мегакариоцитов и снижением количества СКК данного направления дифференцировки [108]. К сожалению, предшествующие этапы развития тромбоцитарного ряда на этапе костного-мозгового кроветворения в условиях хронического радиационного воздействия практически не отслежены, что препятствует более полной и аргументированной оценке тромбопоэтической функции.

Выявленная нами гиперплазия мегакариоцитарного ростка при тестировании КОЕс селезенки, костного мозга и периферической крови мышей линии СВА при однократном введении  $^{90}\text{Sr}$  в различных концентрациях согласуется с данными [161, 167, 168, 170], полученными для КОЕс костного мозга и селезенки при общем внешнем  $\gamma$ -облучении. В отличие от эритроидного ростка, к усилению потенции КОЕс образовывать колонии мегакариоцитов приводило как кратковременное, так и пролонгированное облучение. Усиление тромбопоэтических потенций СКК под влиянием радиации, вероятно, связано с высокой радиорезистентностью предшественников мегакариоцитов [158, 160, 161], в основе которой, возможно, лежит упорядоченное коммитирование СКК. Модель упорядоченного коммитирования [184] предполагает линейную детерминацию в течение гемогиммунопоэза, когда дифференцировочный потенциал СКК реализуется последовательно, вначале для одного типа

предшественников, затем для другого в таком порядке: мегакарициты, эритроциты, нейтрофилы, моноциты, В-лимфоциты, Т-лимфоциты.

В пользу выраженной радиорезистентности мегакариоцитарных предшественников свидетельствует не только их сверхнакопление в исследуемых отделах кроветворения, но и поддержание морфометрических параметров мегакариоцитарных колоний в пределах нормы или даже их превышение, например, при тестировании КОЕс периферической крови.

Таким образом, сверхнакопление коммитированных предшественников мегакариоцитопоэза на фоне предполагаемой декомпенсации данного ростка на периферии может быть обусловлено резким замедлением дифференцировки гемопоэтических прекурсоров. Скорее всего, нарушение нормального процесса созревания КОЕс мегакариоцитарного направления дифференцировки определяется не столько непосредственным эффектом ионизирующей радиации на сами гемопоэтические клетки, сколько на элементы кроветворного микроокружения. Выраженное радиационное повреждение ГИМ костного мозга [140, 146, 191], как основного плацдарма реализации тромбопоэтической функции, вызывает миграцию мегакариоцитарных предшественников в селезенку облученных животных, где их дальнейшего развития, вероятно, тоже не происходит.

Не менее интересен тот факт, что гиперплазия мегакариоцитарного ростка у облученных животных соответствует возрастным тенденциям, выявленным для КОЕс костного мозга [9, 129]. Согласно гипотезе старения [34], индуцированного ионизирующим излучением, неспецифическое сокращение продолжительности жизни может рассматриваться как преждевременное старение в условиях хронического внешнего облучения в диапазоне мощности доз от 0,19 до 3,5 сГр/сут. При облучении с мощностью дозы 3,5 сГр/сут и выше начинают проявляться специфические для такого рода воздействия эффекты нарушения гемопоэза и сокращение продолжительности

жизни при больших мощностях доз становится специфическим [34]. С этих позиций гиперплазию мегакариоцитарного ростка, как и угнетение эритропоэза на фоне снижения пролиферативного потенциала КОЕс, можно рассматривать как опережающее развертывание во времени возрастных нарушений кроветворной функции, т.е. ускоренное неспецифическое старение организма в условиях хронического радиационного воздействия с убывающей мощностью дозы от 2,8 до 0,6 сГр/сут. Введение  $^{90}\text{Sr}$  в саркомогенных дозах (29,6 кБк/г) приводит, скорее всего, к наслоению радиационно-индуцированных изменений на возрастные, так как у старых животных интенсивность репарационных процессов ниже, чем у молодых за счет увеличения груза мутаций или усиления нестабильности ДНК, особенно у облученных животных [29].

### **5.3. Детерминированность количественно-качественных изменений в стволовом кроветворном пуле при радиационном воздействии**

Исследование взаимосвязей структур биосистемы, их влияние друг на друга в процессе жизнеобеспечения организма видится актуальным, так как именно фактор связи делает систему единым целым [117, 118]. На первостепенное значение связей в жизнедеятельности организма указывают Е.Д. Гольдберг и соавт. [35]. При исследовании сложных биологических систем отслеживать взаимодействие и взаимообусловленность параметров ключевых звеньев гомеостаза позволяет корреляционный анализ [35, 86, 118].

Анализ взаимосвязей исследуемых параметров кроветворения при хроническом радиационном воздействии с убывающей мощностью дозы (в течение 360 суток) указывает на количественно-качественную перестройку системы саморегуляции в стволовом пуле системы клеточного обновления



кроветворения, направленную на поддержание гомеостаза у облученных животных. Общей тенденцией в опытных группах является увеличение числа значимых корреляционных связей между популяциями КОЕс различных отделов кроветворения: при введении  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 1,11 кБк/г – в 1,5 раза, а при 29,6 кБк/г – в 2,5 раза по сравнению с контролем, при этом практически все связи становятся «положительными».

При хроническом  $\beta$ -облучении с убывающей мощностью дозы от 2,8 до 0,6 сГр/сут. до суммарных доз на ККМ порядка 3 Гр центральным звеном ауторегуляции в пуле СКК, как и в контроле, остается популяция 9-суточных КОЕс костного мозга. Число значимых корреляционных связей для данной популяции КОЕс возрастает на 80%, большинство новообразованных связей отражает процессы, однонаправленные с популяцией мигрирующих КОЕс. Новые связи между менее и более дифференцированными популяциями КОЕс костного мозга указывают на возможность внутреннего перераспределения резервов кроветворения, касающегося количества СКК, а также числа и доли эритроидных колоний.

Саркомогенные дозы  $^{90}\text{Sr}$  (29,6 кБк/г) вызывают еще большую перестройку регулирующего аппарата СКК. Активная роль в ауторегуляции кроветворения переходит к более ранним кроветворным предшественникам – 12-суточным КОЕс костного мозга, для параметров которых установлено 30 корреляционных связей. Появляются однонаправленные реакции СКК костного мозга, селезенки и периферической крови не только по отношению к концентрации и общему содержанию КОЕс, но и морфометрическим параметрам продуцируемых ими клеточных клонов. Увеличение числа положительных корреляционных связей между показателями колониеобразования в костном мозге и селезенке можно расценивать как синхронизацию взаимодействия между этими кроветворными органами в обеспечении надежного функционирования системы гемопоэза в целом.

Перераспределение функциональных резервов внутри самого костного мозга между популяциями 9- и 12-суточных КОЕс касаются доли гранулоцитарных и мегакариоцитарных предшественников. Выявленные перестройки в структуре корреляционных связей могут отражать изменение межпопуляционной кооперации СКК на фоне декомпенсации гемопоэтической функции.

В зависимости от количества введенного радионуклида увеличивается число значимых корреляционных связей между исследуемыми показателями кроветворения и параметрами облучения (мощностью дозы и суммарной дозой воздействия). Так, при введении  $^{90}\text{Sr}$  в количестве 1,11 кБк/г зарегистрировано 9 значимых корреляционных связей, а при 29,6 кБк/г – 30, среди которых 50% – «отрицательные». Большинство связей принадлежит стволовым популяциям костного мозга (КОЕс-12-сут.) и селезенки (табл. 10, 11).

Таблица 10

**Корреляционные связи между параметрами кроветворения (КОЕс костного мозга, селезенки и периферической крови) мышей линии СВА и параметрами радиационного воздействия ( $^{90}\text{Sr}$  -1,11 кБк/г)**

Параметры кроветворения	Суммарная доза на ККМ (Гр)				Мощность дозы (сГр/сут.)			
	КОЕс-9-сут. к/м	КОЕс-12-сут. к/м	КОЕс-селезенки	КОЕс-крови	КОЕс-9-сут. к/м	КОЕс-12-сут. к/м	КОЕс-селезенки	КОЕс-крови
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Концентрация КОЕс	-0,305	-0,606	+0,089	+0,291	+0,331	+0,220	+0,067	-0,119
Общее содержание КОЕс	+0,278	+0,151	+0,172	+0,370	-0,772*	-0,644	-0,008	-0,383
Общий объем колоний, мм <sup>3</sup>	-0,014	-0,580	+0,115	+0,433	-0,301	+0,795*	-0,116	-0,475

Окончание табл. 10

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Средний объем колоний, мм <sup>3</sup>	+0,147	-0,466	+0,052	+0,451	-0,235	+0,780*	-0,322	-0,569
Число Э-колоний	-0,438	-0,301	-0,621	-0,124	+0,112	+0,095	+0,732*	+0,439
Число Г-колоний	-0,444	-0,437	+0,168	-0,147	-0,165	+0,176	-0,046	-0,115
Число М-колоний	+0,611	+0,316	+0,749*	+0,645	-0,311	-0,538	-0,606	-0,452
Число С-колоний	-0,052	-0,637	+0,298	+0,429	-0,289	+0,397	-0,253	-0,348
Доля Э-колоний, %	-0,300	+0,150	-0,764*	-0,374	+0,217	-0,079	+0,813**	+0,643
Доля Г-колоний, %	-0,427	-0,228	-0,089	-0,108	+0,071	+0,109	+0,111	-0,224
Доля М-колоний, %	+0,674	+0,580	+0,853**	+0,592	-0,235	-0,656	-0,693	-0,472
Доля С-колоний, %	+0,166	-0,313	+0,463	+0,127	-0,232	+0,408	-0,597	-0,143
Среднее число мегакариоцитов в колонии	+0,278	+0,568	-0,221	-0,101	-0,562	-0,795*	-0,136	+0,518
Общее число мегакариоцитов в колониях	+0,672	+0,414	+0,670	+0,635	-0,422	-0,575	-0,571	-0,397
Число значимых корреляционных связей	---	---	3	---	1	3	2	---

Примечание: Э – эритроидные, Г – гранулоцитарные, М – мегакариоцитарные и С – смешанные колонии;

\* – различия с контролем достоверны при  $p \leq 0,05$ , \*\* – различия с контролем достоверны при  $p \leq 0,01$

Таблица 11

**Корреляционные связи между параметрами кроветворения (КОЕс костного мозга, селезенки и периферической крови) мышей линии СВА и параметрами радиационного воздействия ( $^{90}\text{Sr}$  -29,6 кБк/г)**

Параметры кроветворения	Суммарная доза на ККМ (Гр)				Мощность дозы (сГр/сут.)			
	КОЕс-9сут. к/м	КОЕс-12сут. к/м	КОЕс селезенки	КОЕс крови	КОЕс-9сут. к/м	КОЕс-12сут. к/м	КОЕс-селезенки	КОЕс крови
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Концентрация КОЕс	+0,154	-0,234	+0,741*	-0,410	-0,295	+0,391	-0,753*	+0,500
Общее содержание КОЕс	+0,029	-0,302	+0,760*	-0,335	-0,115	+0,444	-0,735*	+0,611
Общий объем колоний, мм <sup>3</sup>	-0,122	-0,661	-0,247	-0,471	-0,070	+0,779*	-0,079	+0,187
Средний объем колоний, мм <sup>3</sup>	-0,587	-0,881**	-0,669	-0,446	+0,484	+0,886*	+0,616	+0,162
Число Э-колоний	+0,181	-0,007	+0,051	-0,386	-0,336	+0,176	-0,430	+0,211
Число Г-колоний	+0,221	-0,743*	-0,192	-0,411	-0,250	+0,803*	-0,249	+0,624

Окончание табл. 11

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Число М-колоний	+0,687	+0,964**	+0,983**	+0,519	-0,567	-0,911**	-0,674	+0,042
Число С-колоний	-0,139	-0,772*	+0,148	+0,471	-0,061	+0,868*	-0,404	+0,191
Доля Э-колоний, %	+0,251	+0,354	-0,353	-0,047	-0,397	-0,266	-0,084	-0,130
Доля Г-колоний, %	-0,265	-0,707*	-0,730*	-0,155	+0,333	+0,657	+0,604	+0,239
Доля М-колоний, %	+0,823**	+0,994***	+0,971*	+0,758*	-0,543	-0,961**	-0,681	-0,312
Доля С-колоний, %	-0,628	-0,972**	-0,860*	-0,457	+0,491	+0,926**	+0,785*	+0,116
Среднее число мегакариоцитов в колонии	+0,471	0,807*	+0,456	+0,368	-0,199	-0,740*	+0,032	+0,043
Общее число мегакариоцитов в колониях	+0,606	+0,906**	+0,960**	+0,504	-0,501	-0,876**	-0,627	+0,054
Число значимых корреляционных связей	1	9	7	1	---	9	3	---

Примечание: Э – эритроидные, Г – гранулоцитарные, М – мегакариоцитарные и С – смешанные колонии;

\* – различия с контролем достоверны при  $p \leq 0,05$ , \*\* – различия с контролем достоверны при  $p \leq 0,01$

Исчезновение мегакариоцитарных предшественников в костномозговой популяции СКК в ранние сроки (3–30-е сутки) после введения  $^{90}\text{Sr}$  в концентрации 29,6 кБк/г коррелирует с высокой исходной мощностью дозы внутреннего  $\beta$ -облучения в диапазоне от 74 до 31 сГр/сут. ( $r = -0,961$ ). В отдаленные сроки исследования с ростом накопленной суммарной дозы на ККМ у облученных животных происходит активация мегакариоцитопоэза. При большей интенсивности радиационного воздействия (29,6 кБк/г) реакция становится системной: наряду с популяциями КОЕс-9сут. костного мозга и селезенки к ней подключаются мигрирующие КОЕс и менее дифференцированная субпопуляция костного мозга. Интересен тот факт, что гиперплазия мегакариоцитарного ростка у облученных животных несет и возрастную детерминацию, не свойственную исследуемому нами периоду онтогенеза (3–15 мес.) мышей линии СВА (табл. 12). Исходя из возрастных тенденций тромбопоэтической функции, отслеженных на более поздних этапах онтогенеза мышей линии СВА [9, 128, 129], выявленные корреляционные связи могут отражать, предположительно, ускорение темпов старения организма при хроническом радиационном воздействии. связей, существующих в норме; образование новых связей; изменение значения коэффициента, отражающего тесноту связи; смена знаков, как отрицательных на положительные, так и положительных на отрицательные.

Существенной особенностью реакции биологических систем на хроническое радиационное воздействие является возможность развертывания во времени эволюционно закрепленных механизмов компенсаторно-приспособительных реакций и формирования на их основе стратегии адаптации [167, 168]. Ранее опубликованные [168, 169] и изложенные выше данные о перестройке структуры взаимосвязей в стволовом пуле системы клеточного обновления кроветворения при хроническом  $\gamma$ - и  $\beta$ - облучении показывают, что в условиях угнетения кроветворения система гемопоэза работает в режиме поиска нового стационарного состояния, т.е. идет активное подключение различных гомеостатических механизмов.

Таблица 12

**Корреляционные связи между параметрами кроветворения (КОЕс костного мозга, селезенки и периферической крови) и возрастом животных у интактных и облученных мышей линии СВА**

Параметры кроветворения	Возраст животных							
	<sup>90</sup> Sr – 1,11 кБк/г				<sup>90</sup> Sr – 29,6 кБк/г			
	КОЕс-9сут. к/м	КОЕс-12сут. к/м	КОЕс-селезенки	КОЕс-крови	КОЕс-9сут. к/м	КОЕс-12сут. к/м	КОЕс-селезенки	КОЕс-крови
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Концентрация КОЕс	-0,361	-0,628	+0,119	+0,306	+0,188	-0,295	+0,696	-0,417
Общее содержание КОЕс	+0,219	+0,093	+0,200	+0,357	+0,050	-0,377	+0,710	-0,329
Общий объем колоний, мм <sup>3</sup>	-0,099	-0,565	+0,119	+0,388	-0,099	-0,696	-0,286	-0,489
Средний объем колоний, мм <sup>3</sup>	+0,076	-0,444	+0,005	+0,392	-0,585	-0,836	-0,662	-0,461
Число Э-колоний	-0,462	-0,291	-0,582	-0,094	+0,217	-0,044	+0,007	-0,385
Число Г-колоний	-0,497	-0,431	+0,183	-0,164	+0,255	-0,808	-0,248	-0,429
Число М-колоний	+0,657	+0,305	+0,770	+0,674	+0,719	+0,935	+0,973	+0,517

Окончание табл. 12

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Число С-колоний	-0,093	-0,667	+0,305	+0,419	-0,120	-0,790	+0,085	-0,492
Доля Э-колоний, %	-0,298	+0,179	-0,729	-0,348	+0,262	+0,407	-0,377	-0,020
Доля Г-колоний, %	-0,457	-0,213	-0,137	-0,131	-0,267	-0,757	-0,727	-0,172
Доля М-колоний, %	+0,727	+0,580	+0,863	+0,620	+0,816	+0,984	+0,988	+0,744
Доля С-колоний, %	+0,141	-0,339	+0,428	+0,107	-0,635	-0,945	-0,879	-0,489
Среднее число мегакариоцитов в колонии	+0,229	+0,545	-0,258	-0,041	+0,490	+0,810	+0,461	+0,357
Общее число мегакариоцитов в колониях	+0,711	+0,411	+0,684	+0,667	+0,643	+0,911	+0,943	+0,503
Число значимых корреляционных связей	2	---	3	---	2	9	6	1

Примечание: Э – эритроидные, Г – гранулоцитарные, М – мегакариоцитарные и С – смешанные колонии;



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Система клеточного обновления кроветворения интактных мышей линии СВА на этапе онтогенеза от 3-х до 15-и месяцев характеризовалась увеличением концентрации КОЕс, их общего содержания в костного мозга, селезенке и периферической крови, а также среднего и общего объемов продуцируемых ими клонов. Возрастное изменение спектра дифференцировочных потенций КОЕс интактных мышей линии СВА определялось происхождением стволовых кроветворных клеток и выражалось в активации селезеночного эритропоэза, увеличении числа и доли смешанных и мегакариоцитарных предшественников в костном мозге и равновесном участии в миграции различных типов КОЕс.

Кинетика КОЕс костного мозга мышей линии СВА при хроническом внутреннем  $\beta$ -облучении со снижающейся мощностью дозы зависела от концентрации введенного  $^{90}\text{Sr}$ : 1,11 кБк/г вызывало опустошение стволового пула на 25–30%, которое сменялось репопуляцией КОЕс, а в дальнейшем (13-е сутки) – установлением фазы плато на уровне 100–60% от нормы; 11,1 кБк/г вызывало дестабилизацию численности КОЕс в пределах 13–60% от одновозрастного контроля; 29,6 кБк/г приводило к циклической смене процессов угнетения и восстановления, что указывает на напряженность кроветворения в костном мозге облученных животных. Морфофункциональное состояние стволовых кроветворных клеток в селезенке и периферической крови определялось не только параметрами радиационного воздействия, но и глубиной поражения костно-мозгового кроветворения. Активация кроветворения в селезенке происходила при суммарной дозе на ККМ 3,8 Гр (29,6 кБк/г), когда численность стволовой популяции костного мозга достигла критического уровня (5% от нормы). Число мигрирующих СКК поддерживалось в пределах нормы в течение 180 суток исследования (суммарная доза на ККМ порядка 41 Гр) с последующим снижением до уровня 40–70%.

Функционирование системы гемопоэза на уровне, обеспечивающем жизнедеятельность организма в условиях хроничес-

кого  $\beta$ -облучения со снижающейся мощностью дозы поддерживалось последовательным включением эволюционно-закрепленных компенсаторных механизмов, реализуемых в пуле СКК – увеличением пролиферативного потенциала КОЕс, их репопуляцией, изменением спектра реализуемых дифференцировочных потенций стволовых клеток и расширением плацдарма кроветворения (активацией кроветворения в селезенке). Изменение баланса гистологических типов колоний при хроническом  $\beta$ -облучении животных в диапазоне малых и промежуточных мощностей доз проявлялось преимущественной количественной дифференцировкой в направлении гранулоцитарного (в ранние сроки облучения) или мегакариоцитарного ростков (в отдаленные сроки исследования) при снижении числа эритроидных и смешанных колоний. Условия облучения (суммарная доза и мощность дозы) определяли не столько спектр реализуемых механизмов компенсации кроветворения, сколько сроки, интенсивность и, следовательно, эффективность компенсаторно-приспособительных реакций. Для поддержания необходимой продуктивности КОЕс в каждом из ростков кроветворения запускались последовательно или одновременно несколько компенсаторно-приспособительных механизмов, что позволяло избегать жесткой конкуренции кроветворных ростков в условиях депопуляции стволового пула и обеспечивать поддержание кроветворения в целом.

Прогрессивное снижение пролиферативного потенциала КОЕс, приводящее к сокращению объема гемопоэтической ткани, зарегистрировано для 9-суточных КОЕс костного мозга при Суммарных дозах на ККМ порядка 10 Гр, периферической крови – при 13 Гр, селезенки – при 41 Гр и для 12-суточных КОЕс костного мозга – при 68 Гр.

Хроническое радиационное воздействие с убывающей мощностью дозы в диапазоне суммарных доз на ККМ от 0,04 до 87,7 Гр приводит к перестройке внутрисистемных связей в стволовом пуле системы клеточного обновления кроветворения, заметно модифицирующей предшествующие конститутивные механизмы ауторегуляции.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Адюшкин А.И. Изменение соотношения типов колоний, продуцированных КОЕс, в условиях многократного введения глюкокортикоидов в малых дозах / А.И. Адюшкин // Гематология и трансфузиология. – 1983. – Т.28. – № 9. – С. 32-35.
2. Аклеев А.В. Инволюционные изменения иммунного статуса у людей, подвергшихся хроническому радиационному воздействию / А.В. Аклеев // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 1995. – № 3. – С. 8-11.
3. Аклеев А.В. Обобщение результатов многолетнего изучения иммунитета у населения, подвергшегося облучению / А.В. Аклеев А.В., М.М. Косенко // Иммунология. – 1991. – № 3. – С. 4-7.
4. Акоев И.Г. Биофизика познает рак / И.Г. Акоев. – М.: Наука, 1987. – 160 с.
5. Акоев И.Г. Биофизический анализ предпатологических и предлейкозных состояний / И.Г. Акоев, Н.Н. Мотлох. – М.: Наука, 1984. – 288 с.
6. Андреев А.Д. Модели восстановления клеток при фракционированном и пролонгированном облучении / А.Д. Андреев // Радиобиология. – 1984. – Т. 24. – Вып. 2. – С. 261-264.
7. Андреева Л.П. Влияние стронция-90 на кроветворную систему крыс и отдаленные последствия ее поражения в хроническом эксперименте: автореф. дис. ... канд. биол. наук / Л.П. Андреева. – Челябинск, 1972. – 24с.
8. Андреева О.Г. Компенсаторно-приспособительные реакции системы гемопозза при хроническом  $\gamma$ -облучении: дис. ... канд. биол. наук / О.Г. Андреева. – Челябинск, 1998. – 130 с.

9. Андрианова Л.Ф. Пролиферативные и дифференцировочные свойства СКК костного мозга у мышей линии СВА различного возраста / Л.Ф. Андрианова // Физиологический журнал. – 1990. – Т.36. – №5. – С. 31-36.

10. Аршавский И.А. Физиологические механизмы и закономерности индивидуального развития / И.А. Аршавский. – М.: Наука, 1982. – 268 с.

11. Афанасьев Б.В. Родоначальные кроветворные клетки человека / Б.В. Афанасьев, В.А. Алмазов. – Л.: Наука, 1985. – 204 с.

12. Ахмадиева А.Х. Изменение способности КОЕс образовывать макроколонии при длительном хроническом облучении / А.Х. Ахмадиева, В.Г. Тяжелова // Радиобиология. – 1989. – Т.29. – Вып. 2. – С. 211-214.

13. Безин Г.И. Изменение пролиферативной активности гемопоэтических стволовых клеток после адреналэктомии / Г.И. Безин, О.О. Ромашко // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1980. – №3. – С. 326-327.

14. Безин Г.И. Факторы, контролирующие рециркуляцию стволовых клеток. Сообщ. 2. Влияние АКТГ на миграцию стволовых кроветворных клеток из экранированного участка костного мозга у облученных мышей / Г.И. Безин, Р.М. Хаитов, Б.Б. Мороз, Р.В. Петров, О.О. Ромашко // Радиобиология. – 1975. – Т.15. – Вып. 2. – С.193-196.

15. Безин Г.И. Факторы, контролирующие циркуляцию стволовых клеток. Сообщ. 5. Модификация эффектов эндогенных глюкокортикоидов на миграцию КОЕс у Т-дефицитных мышей / Г.И. Безин, Б.Б. Мороз // Радиобиология. – 1983. – Т.23. – Вып.3. – С. 328-331.

16. Белоусова О.И. Изменение радиочувствительности клеток системы крови мышей в период длительного хронического  $\gamma$ -облучения / О.И. Белоусова, М.И. Федотова, П.Д. Горизонтов // Радиобиология. – 1980. – Т. 20. – Вып. 1. – С. 106-109.

17. Белоусова О.И. Радиация и система крови / О.И. Белоусова, П.Д. Горизонтов, М.И. Федотов. – М.: Атомиздат, 1979. – 128 с.
18. Берк К. Анализ данных с помощью Microsoft Excel.: Пер. с англ. / К. Берк, П. Кейри. – М.: Издательский дом «Вильямс», 2005. – 560 с.
19. Биологические эффекты при длительном поступлении радионуклидов / Под ред. В.В. Борисова, Т.М. Воеводина, А.В. Федорова, Н.Г. Яковлева. – М.: Энергоатомиздат, 1988. – 168 с.
20. Боггс Д. Пролиферативный потенциал стволовых кроветворных клеток / Д. Боггс, С. Боггс // Проблемы гематологии и переливания крови. – 1981.– Т. 26. – № 12. – С. 30-33.
21. Бонд В.П. Основы радиобиологии, необходимые для понимания влияния ионизирующих излучений на кроветворение / В.П. Бонд / Руководство по радиационной гематологии /Пер. с англ. А.Л. Выгодской, Д.П. Осанова. -М.: Медицина, 1974. – С. 63-70.
22. Бонд В. Радиационная гибель млекопитающих. Нарушение кинетики клеточных популяций / В. Бонд, Т. Флиднер, Д. Аршамбо / Пер. с англ. - М.: Атомиздат, 1971. – 317с.
23. Бриллиант М.Д. Возрастные различия родоначальных кроветворных клеток и некоторые проблемы канцерогенеза / М.Д. Бриллиант, А.И. Воробьев // Терапевтический архив. – 1990. – № 7. – С. 15-20.
24. Булдаков Л.А. Проблемы распределения и экспериментальной оценки допустимых уровней  $^{137}\text{Cs}$ ,  $^{90}\text{Sr}$  и  $^{106}\text{Ru}$ . / Л.А. Булдаков, Ю.И. Москалев. – М.: Атомиздат, 1968. – 295 с.

25. Бурькина Л.Н. Кинетика накопления и скорость выведения  $\text{Sr}^{90}$  у собак при хроническом его поступлении / Л.Н. Бурькина / Распределение и биологическое действие радиоактивных изотопов: сб. статей / Под ред. Ю.И. Москалева. – М.: Атомиздат, 1966. – С. 66-71.
26. Валькович Э.И. Колониеобразующие единицы костного мозга и селезенки иммунодефицитных мышей в условиях стимуляции клеток тималином / Э.И. Валькович, Б.В. Попов, А.Л. Раковщик // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1986. – Т. ХСІ. – № 9. – С. 70-74.
27. Власов П.А. Морфологическая картина изменений органов кроветворения в отдаленном периоде хронической лучевой болезни, вызванной стронцием-90 / П.А. Власов / Материалы IV конференции ЦНИЛ. – Томск, 1968. – С. 67-69.
28. Власов П.А. Реакция костного мозга на воздействие радиоактивного стронция / П.А. Власов // Радиобиология. – 1964. – Т.4. – Вып. 1. – С. 163-171.
29. Волчков В.А. Закономерности поражения и восстановления стволовых клеток кроветворной ткани при старении облученных объектов: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / В.А. Волков. – Л.: ЦНИРРИ, 1991. – 42 с.
30. Волчков В.А. Неопухолевая отдаленная лучевая патология кроветворения у животных / В.А. Волчков. – СПб.: Центр. НИИ рентгено-радиологии, 1992. – 48 с.
31. Воробьев А.И. Современная схема кроветворения и возможные мишени гемобластозов / А.И. Воробьев, М.Д. Бриллиант, И.Л. Чертков // Терапевтический архив. – 1981. – Т.53. – №9. – С. 3-13.
32. Ган О.А. Клеточная репарация сублетальных радиационных повреждений двух субпопуляций КОЕс из эмбриональной печени и костного мозга взрослых мышей / О.А. Ган, Т.В. Годрия // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1989. – № 1. – С. 89-91.

33. Ган О.А. Сравнительная радиочувствительность КОЕс из костного мозга, эмбриональной печени мышей, формирующих 7- и 11-дневные колонии / О.А. Ган, А.Г. Кноплянников // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1989. – № 1. – С. 93-95.

34. Голощاپов П.В. Сравнительная характеристика эффективности хронического внешнего облучения организма с различной мощностью дозы / П.В. Голощاپов, В.П. Бойцова, М.И. Воробьева / Препринт ЦНИИАтоминформ-ОН-5-88. – М.: ЦНИИАтоминформ, 1988. – 50 с.

35. Гольдберг Е.Д. Закономерности структурной организации систем жизнеобеспечения в норме и при развитии патологического процесса / Е.Д. Гольдберг, А.М. Дыгай, В.В. Удут, С.А. Наумов, И.А. Хлусов. – Томск, 1996. – 282 с.

36. Гольдберг Е.Д. Механизмы цитостатического повреждения и регенерации кроветворной системы / Е.Д. Гольдберг, А.М. Дыгай, В.В. Жданов / Вопросы экспериментальной физиологии. – Екатеринбург, 1997. – С. 77-86.

37. Горизонтов П.Д. Механизмы радиационного поражения и восстановления / П.Д. Горизонтов // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1977. – Вып. 5. – С. 14-23.

38. Горизонтов П.Д. Стресс и реакция органов кроветворения / П.Д. Горизонтов // Патол. физиология и эксперим. медицина. – 1974. – № 2. – С. 3-6.

39. Горизонтов П.Д. Стресс и система крови / П.Д. Горизонтов, О.И. Белоусова, М.И. Федотова. – М.: Медицина, 1983. – 238 с.

40. Григорьев Ю.Г. Соматические эффекты хронического  $\gamma$ -облучения / Ю.Г. Григорьев, В.И. Попов, А.В. Шафиркин. – М.: Энергоатомиздат, 1986. – 200 с.

41. Груздев Г.П. К вопросу о радиочувствительности клеточных элементов эритроидного ростка костного мозга / Г.П. Груздев, А.С. Чистопольский, Л.А. Суворова // Радиационная биология. Радиоэкология. – 1994. – Т. 34. – вып. 4-5. – С. 587-597.

42. Груздев Г.П. Модель регуляции темпа размножения стволовых клеток костного мозга / Г.П. Груздев, А.Я. Моничев // Биофизика. – 1975. – Т. 20. – № 2. – С. 308-312.

43. Груздев Г.П. Проблема радиочувствительности клеточных элементов костного мозга и некоторые оценки пострадиационной кинетики миелопоэза / Г.П. Груздев, А.С. Чистопольский // Радиационная биология. Радиоэкология. – 1992. – Т. 32. – вып. 1. – С. 3-18.

44. Груздев Г.П. Радиочувствительность и пострадиационная кинетика мегакариоцитарного ростка костного мозга / Г.П. Груздев, А.С. Чистопольский, Л.А. Суворова // Радиационная биология. Радиоэкология. – 1996. – Т. 36. – вып. 2. – С. 250-263.

45. Гуськова А.К. Лучевая болезнь человека / А.К. Гуськова, Г.Л. Байсоголов. – М.: Медицина, 1971. – 384 с.

46. Дерюгина Е.И. Пролиферативный потенциал стволовых кроветворных клеток (КОЕс), серийно пассируемых в облученных мышцах в составе очагов эктопического кроветворения / Е.И. Дерюгина, Н.И. Дризе, Г.А. Удалов, И.Л. Чертков // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1988. – №12. – С.718-720.

47. Дерюгина Е.И. Родоначальная кроветворная клетка: возникновение в онтогенезе, пролиферативная активность и пролиферативный потенциал / Е.И. Дерюгина, Н.И. Дризе, Н.И. Оловникова, Е.Ю. Садовникова, И.Л. Чертков // Онтогенез. – 1991. – Т. 22. – № 2. – С. 125-132.



48. Дозовые зависимости нестохастических эффектов, основные концепции и величины, используемые в МКРЗ: Публикации 41, 42 МКРЗ / Пер. с англ. – М.: Энергоатомиздат, 1987. – 88 с.

49. Епифанова О.И. Регуляция размножения клеток в процессе специализации, старения и неопластической трансформации / О.И. Епифанова, В.А. Полуновский, В.В. Терских // Итоги науки и техники. Общие проблемы физико-химической биологии. – М., 1988. – Т. 11. – 98 с.

50. Жербин Е.А. Радиационная гематология / Е.А. Жербин, А.Б. Чухловин. – М.: Медицина, 1989. – 176 с.

51. Жестяников В.Д. Репарация ДНК и ее биологическое значение / В.Д. Жестяников. – М.: Наука, 1979. – 285 с.

52. Захаров В.Н. Изменения системы крови при воздействии радиации и бензола / В.Н. Захаров, А.В. Караулов, В.В. Соколов, В.Н. Фраш. – Новосибирск: Наука, 1990. – 241 с.

53. Зимин Ю.И. Увеличение количества гемопоэтических родоначальных клеток у мышей в начальный период стресс-реакции / Ю.И. Зимин // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1974. – Т. 78. – № 12. – С. 17-19.

54. Зухбая Т.М. Количественные изменения отдельных генераций клеток эритроидного и гранулопоэтического ростков в костном мозге крыс при постоянном гамма-облучении с различной мощностью дозы / Т.М. Зухбая // Радиобиология. – 1979. – Т.19. – Вып. 2. – С. 278-282.

55. Илюхин А.В. Цитокинетика и морфология кроветворения при хроническом облучении / А.В. Илюхин, В.С. Шашков, Т.Е. Бурковская, Э.С. Зубенкова. – М.: Энергоатомиздат, 1982. – 136с.

56. Илюхин А.В. Цитокинетическое и морфологическое изучение процессов поражения и компенсации кроветворения при длительном. воздействии ионизирующего излучения: автореф. дис. ... д-ра биол. наук / А.В. Илюхин. – М., 1974. – 36с.

57. Калина И. Изменение кроветворения и выживаемости мышей при пролонгированном облучении / И. Калина, М. Прасличка // Радиобиология. – 1977. – Т.17. – Вып. 2. – С. 849-851.

58. Карташев А.Г. Взаимосвязь показателей системы крови в постнатальном развитии белых мышей / А.Г. Карташев, Р.Т. Тухватулин, А.К. Баскурян // Физиологический журнал СССР им. И.М. Сеченова. – 1987. – Т. 73. – № 8. – С.1094-1099.

59. Козинец Г.И. Кинетические аспекты гемопоэза / Г.И. Козинец, Е.Д. Гольдберг. – Томск: Изд-во Том. ун-та, 1982. – 306 с.

60. Козлов В.А. Изменение пролиферативной активности полипотентных стволовых кроветворных клеток, вызванное введением глюкокортикоидов и андрогенов / В.А. Козлов, И.Г. Цырлова // Докл. АН СССР. – 1978. – Т.288. – № 2. – С. 501-503.

61. Козлов В.А. Стволовая кроветворная клетка и иммунный ответ / В.А. Козлов, И.Н. Журавкин, И.Г. Цырлова. – Новосибирск, 1982. – 322с.

62. Кожановская Я.К. Активация системы репарации ДНК в тканях мышей, подвергнутых хроническому  $\gamma$ -облучению / Я.К. Кожановская, Л.А. Фоменко, Н.П. Сирота, А.И. Газиев // Радиобиология. – 1989. – Т. 29. – Вып. 1. – С. 8-12.

63. Коноплянников А.Г. Молекулярные и клеточные механизмы поздних лучевых повреждений / А.Г. Коноплянников // Радиационная биология. Радиоэкология. – 1997. – Т. 37. – Вып. 4. – С.621-628.

64. Коноплянников А.Г. Радиобиология стволовых клеток / А.Г. Коноплянников. – М.: Энергоатомиздат, 1984. – 120 с.

65. Коноплянников А.Г. Стволовые клетки самообновляющихся систем как детерминанты выживаемости животных в острый период лучевого поражения / А.Г. Коноплянников // Итоги науки и техники. Сер. Радиационная биология. – М.: ВИНТИ. – 1980. – Т.3. – С. 5-38.

66. Коноплянникова О.А. Возрастные изменения радиочувствительности животных и критических клеточных систем. Сообщ. 2. Радиочувствительность кроветворных колониобразующих единиц у мышей разного возраста / О.А. Коноплянникова, А.Г. Коноплянников // Радиобиология. – 1980. – Т. 20. – Вып. 1. – С. 35-39.

67. Коротный В.С. Количественные соотношения между основными отдаленными эффектами и дозиметрическими параметрами воздействия  $^{90}\text{Sr}$  у крыс / В.С. Коротный, В.Л. Шведов, Е.А. Пряхин / Хроническое радиационное воздействие: риск отдаленных эффектов / Под ред. Л.А. Ильина, А.В. Аклева. – М., 1996. – Т.1. – С. 76-88.

68. Коротный В.С. Патофизиологическое обоснование некоторых путей целенаправленного поиска фармакологических средств противорадиационной защиты: дис. ... д-ра биол. наук / В.С. Коротный. – Обнинск, 1989. – 276 с.

69. Кулагин В.К. Кинетика миграции стволовых кроветворных клеток у мышей после тяжелой механической травмы / В.К. Кулагин, В.Н. Александров // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1982. – Т.93. – № 5. – С. 45-46.

70. Лайта Л.Г. Модели, связанные с влиянием радиации на пул стволовых клеток / Л.Г. Лайта / Руководство по радиационной гематологии /Пер. с англ. А.Л. Выгодской, Д.П. Осанова. – М.: Медицина, 1974. – С. 129-136.

71. Лурия Е.А. О стромальной и Т-клеточной регуляции стволовых кроветворных клеток / Е.А. Лурия, А.Я. Фриденштейн // Терапевтический архив. – 1981. – Т. 53. – № 9. – С. 116-120.

72. Любашевский Н.М. Метаболизм радиоизотопов в скелете позвоночных / Н.М. Любашевский. – М.: Наука, 1980. – 255 с.

73. Любашевский Н.М. Поражение системы крови у крыс при хроническом воздействии стронцием-90 / Н.М. Любашевский, И.Я. Панченко, И.А. Сарapultцев, Т.Н. Тужилкова, В.Л. Шведов / Радиоактивные изотопы во внешней среде и организме. – М., 1970. – С. 110-116.

74. Манько В.М. В-лимфоциты регулируют процессы пролиферации и дифференцировки кроветворных стволовых клеток / В.М. Манько // Гематол. и трансфизиол. – 1997. – Т. 42. – №2. – С. 15 – 19.

75. Манько В.М. Различная радиопоражаемость эндогенных клеток-предшественников, формирующих в селезенке мышей "ранние" и "поздние" очаги кроветворения / В.М. Манько, Т.Б. Руднева, Е.Ю. Осипова, О.Л. Благодравова // Радиобиология. – 1989. – Т.29. – Вып. 3. – С.315-320.

76. Манько В.М. Факторы, контролирующие дифференцировку стволовых клеток. 2. Чувствительность Т-дифференцирующих лимфоцитов к действию радиации и цитокинов / В.М. Манько, Х.С. Саядян, Н.А. Халатян // Цитология. – 1981. – Т. 23. – Вып. 3. – С. 333-339.

77. Михайлова И.А. Возрастные особенности тромбообразования у крыс / И.А. Михайлова, Н.Н. Петрищев, С.Б. Ткаченко // Физиологический журнал СССР. – 1986. – № 12. – С. 1643-1645.

78. Моничев А.Я. Динамика кроветворения / А.Я. Моничев. – М.: Медицина, 1984. – 176 с.

79. Мороз Б.Б. Миграция, пролиферация и дифференцировка стволовых кроветворных клеток в зависимости от уровня эндогенных глюкокортикоидов / Б.Б. Мороз, Г.И. Безин, Р.В. Петров, О.О. Ромашко, В.А. Гаврилов // Стволовые и иммунокомпетентные клетки в норме и при опухолевом росте: сб. науч. тр. – Киев: Наук. думка, 1981. – С. 86-99.

80. Мороз Б.Б. О роли эндогенных глюкокортикоидов в регуляции миграции и рециркуляции стволовых кроветворных элементов / Б.Б. Мороз, Р.В. Петров, Г.И. Безин // Патологическая физиология. – 1978. – Вып. 5. – С. 9-15.

81. Москалев Ю.И. О накоплении стронция-90 в костях крыс и кинетике его выведения / Ю.И. Москалев // Радиобиология. – 1961. – Т.1. – Вып. 1. – С. 65-72.

82. Москалев Ю.И. Отдаленные последствия воздействия ионизирующих излучений / Ю.И. Москалев. – М.: Медицина, 1991. – 464 с.

83. Москалев Ю.И. Радиобиология инкорпорированных радионуклидов / Ю.И. Москалев. – М.: Энергоатомиздат, 1989. – 264 с.

84. Москалев Ю.И. Отдаленные последствия радиационного поражения. Неопухолевые формы / Ю.И. Москалев, В.Н. Стрельцова // Итоги науки и техники. ВИНТИ. Радиационная биология, 1987. – Т.6. – 216 с.

85. Муксинова К.Н. Изменение количества и пролиферативной активности стволовых кроветворных клеток при длительном внешнем  $\alpha$ -облучении / К.Н. Муксинова // Радиобиология. – 1976. – Т.16. – Вып. 5. – С. 693-697.

86. Муксинова К.Н. Клеточные и молекулярные основы перестройки кроветворения при длительном радиационном воздействии / К.Н. Муксинова, Г.С. Мушкачева / Под ред. А.К. Гуськовой. – М.: Энергоатомиздат, 1990. – 160 с.

87. Муксинова К.Н. Нарушение гранулоцитопоза при длительном повторном облучении / К.Н. Муксинова, Л.Д. Мурзина, В.С. Воронин // Медицинская радиология. – 1975. – Т. 20. – № 1. – С. 67-72.

88. Муксинова К.Н. Повреждение стволового кроветворного пула при длительном внешнем облучении у крыс / К.Н. Муксинова // Радиобиология. – 1984б. – Т.24. – Вып. 2. – С. 703-706.

89. Муксинова К.Н. Роль остаточного лучевого повреждения кроветворной системы в нарушении гомеостаза / К.Н. Муксинова, Г.С. Мушкачева / Хроническое радиационное воздействие: риск отдаленных эффектов. – М.: Издат., 1996. – С. 94-102.

90. Натан Д.Г. Регуляция кроветворения / Д.Г. Натан, К.А. Зифф // Гематология и трансфузиология. – 1994. – № 2. – С. 3-10.

91. Оделл Т.Т. Лучевые реакции мегакариоцитарно-тромбоцитарной системы / Т.Т. Оделл // Руководство по радиационной гематологии /Пер. с англ. А.Л. Выгодской, Д.П. Осанова. – М.: Медицина, 1974. – С. 94-101.

92. Патт Х.М. О выходе стволовых кроветворных клеток из костного мозга в кровь / Х.М. Патт, М.А. Малони // Проблема гематологии и переливания крови. – 1982. – Т.27. – Вып. 7. – С.18-21.

93. Переверзев А.Е. Кроветворные колониеобразующие клетки и физические стресс-факторы / А.Е. Переверзев. – Л.: Наука, 1986. – 172 с.

94. Перцев Н.В. Стохастическая модель для исследования динамики популяции стволовых кроветворных клеток / Н.В. Перцев / Математическое моделирование в иммунологии и медицине. – Новосибирск: Наука, 1982. – С. 59-74.

95. Петров Р.В. Взаимодействие лимфоцитов с кроветворными стволовыми клетками / Р.В. Петров, Л.С. Селавина // Микробиология, эпидемиология и иммунология. – 1977. – Вып.11. – С.28-42.

96. Петров Р.В. Взаимодействие стволовых кроветворных клеток с лимфоцитами / Р.В. Петров, В.Н. Швец // Проблемы гематологии и переливания крови. – 1973. – Т.18. – Вып.10. – С.48-54.

97. Петров Р.В. Изменения эритроидного типа дифференцировки стволовых клеток на миелоидный под влиянием лимфоцитов / Р.В. Петров, В.Н. Швец, В.М. Манько // Докл. АН СССР. – 1972. – Т.204. – Вып. 2. – С.480 – 492.

98. Петров Р.В. Контроль и регуляция иммунного ответа / Р.В. Петров, Р.М. Хаитов, В.М. Манько, А.А. Михайлова. – Л.: Медицина, 1981. – 312 с.

99. Петров Р.В. Миграция стволовых клеток из экранизированного костного мозга при неравномерном облучении / Р.В. Петров, Р.М. Хаитов // Радиобиология. – 1972. – Т.12. – Вып. 1. – С. 69-76.

100. Петров Р.В. Факторы, контролирующие дифференцировку стволовых клеток. 1. Изменение направления дифференцировки стволовых кроветворных клеток под влиянием дифференцирующих Т-лимфоцитов / Р.В. Петров, В.М. Манько, Р.М. Хаитов // Цитология. – 1979. – №5. – С.602-610.

101. Петров Р.В. Факторы, контролирующие рециркуляцию стволовых клеток. Сообщ. 3. Влияние тимуса на миграцию и дифференцировку кроветворных стволовых клеток, расселяющихся из экранизированного при облучении костного мозга / Р.В. Петров, Р.М. Хаитов, Н.В. Алейникова, Л.В. Гулак // Радиобиология. – 1976. – Т. 16. – Вып. 4. – С. 560-566.

102. Петрович И.К. Изменение картины крови у животных в отдаленные сроки после введения в организм радиактивных веществ / И.К. Петрович / Влияние радиактивного стронция на живой организм. – М.: Медгиз, 1961. – С.104-119.

103. Петрович И.К. Изменение морфологического состава периферической крови и органов кроветворения у собак, пораженных стронцием-90 / И.К. Петрович / Первая научно-практическая конференция по медицинской радиологии: Доклад УЖА, 1959. – С. 37-42.

104. Пименов Ю.С. Возрастные показатели активности фактора 3 кровяных пластинок / Ю.С. Пименов // Лабораторное дело. – 1973. – № 5. – С. 264-265.

105. Плохинский Н.А. Биометрия / Н.А. Плохинский. – М.: МГУ, 1970. – 368 с.

106. Поверенный А.М. Радиочувствительность плюрипотентных стволовых клеток, определяемая клонированием в селезенке облученных мышей / А.М. Поверенный, О.В. Семина, Т.Н. Семенец, В.К. Иванов, Е.В. Шаповалова // Радиобиология. – 1984. – Т. 24. – Вып. 1. – С. 39-43.

107. Попов Б.В. Дифференцировка стволовых кроветворных клеток из различных отделов кроветворной системы тимэктомированных мышей СВА, стимулированных тимарином или кортексином / Б.В. Попов, Г.А. Белокрылов, Е.В. Ергакова, И.А. Константинова // Радиобиология. – 1984. – Т. 24. – № 2. – С. 252-25

108. Прасличка М.А. Влияние низких суточных мощностей доз пролонгированного облучения на изменение КО-Ес и периферической крови у мышей / М. А. Прасличка, И. Калина // Радиобиология. – 1976. – Т16. – № 3. – С. 376-380.

109. Пряхин Е.А. Динамика изменения репарации ДНК клеток костного мозга у мышей при облучении стронцием-90: дис. ...канд. биол. наук / Е.А. Пряхин. – М., 1997. – 134 с.



110. Рождественский Л.М. Концепция биологического действия ионизирующей радиации низкого уровня (анализ проблемы в аспектах пороговости эффектов и радиочувствительности/радиореактивности биоструктур различного уровня организации) / Л.М. Рождественский // Радиационная биология. Радиоэкология. – 1999. – Т. 39. – № 1. – С. 127-144.

111. Рождественский Л.М. Постлучевая репарация стволовых кроветворных клеток в общерадиобиологическом, клиническом, экспериментальном и методическом аспектах / Л.М. Рождественский // Радиационная биология. Радиоэкология. – 1994. – Т.34. – Вып. 4-5. – С. 520-535.

112. Ромашко О.О. К вопросу о стимулирующем и ингибирующем действии гидрокортизона на родоначальные кроветворные клетки / О.О. Ромашко, Б.Б. Мороз, Г.И. Безин // Проблемы гематологии и переливания крови. – 1979. – Т.24. – № 9. – С. 48-55.

113. Руководство по гематологии: в 2т. / Под редакцией А.И. Воробьева. – М.: Медицина, 1985. – Т. 1 – 448 с.

114. Савченков Ю.И. Динамика показателей крови и кроветворных органов белых крыс в онтогенезе / Ю.И. Савченков, Т.Г. Цыганкова / Тр. Красноярского мед. института. – Красноярск, 1970. – Сб. 9. – Вып. 5. – С. 85-87.

115. Саймон Д. Анализ данных в Excel: наглядный курс создания отчетов, диаграмм и сводных таблиц / Д. Саймон / Пер. с англ. – М.: Издательский дом «Вильямс», 2004. – 528 с.

116. Сарапульцев И.А. Биологическое действие внешних и внутренних источников радиации / И.А. Сарапульцев, Ж.А. Голошапова, В.Л. Шведов, Т.Н. Тужилкова / Под ред. Ю.И. Москалева и В.С. Калистратовой. – М., 1972. – С. 155-159.

117. Саркисов Д.С. Морфология компенсаторно-приспособительных процессов / Д.С. Саркисов, Л.И. Аруин, В.П. Туманов // Итоги науки и техники: серия «Патологическая анатомия». – М., 1983. – 136 с.
118. Саркисов Д.С. Очерки по структурным основам гомеостаза / Д.С. Саркисов. – М.: Медицина, 1977. – 351 с.
119. Сидоренко А.В. Содержание стволовых кроветворных и стромальных клеток-предшественников в костном мозге мышей линии СВА разного возраста / А.В. Сидоренко, Л.Ф. Андрианова // Стволовые клетки и опухолевый рост: сб. науч. тр. – Киев, 1985. – С. 123-127.
120. Скофилд Р. Кинетика стволовых кроветворных клеток / Р. Скофилд, Л.Т. Лайта // Проблемы гематологии и переливания крови. – 1973. – Т.18. – №10. – С.55-60.
121. Скофилд Р. Самоподдерживание стволовых клеток-предшественников / Р. Скофилд, Т.М. Декстер // Проблемы гематологии и переливания крови. – 1982. – Т.17. – Вып. 7. – С. 13-18.
122. Соловьев В.Ю. Оценка критического уровня "запрета на дифференцировку" численности стволовых кроветворных клеток человека / В.Ю. Соловьев, А.Е. Баранов // Радиобиология. – 1989. – Т. 29. – Вып. 6. – С. 835-838.
123. Стрелин Г.С. Регенерационные процессы в развитии и ликвидации лучевого повреждения / Г.С. Стрелин. – М.: Медицина, 1978. – 208 с.
124. Сухова Г.К. Влияние регенерации кроветворных органов на число и тип селезеночных колоний / Г.К. Сухова, Т.Р. Подрабинек, Г.В. Харлова // Бюллетень exper. биологии и медицины. – 1978. – Т.85. – № 2. – С. 219-221.
125. Теста Н. Регуляция клеточных линий в гемопоэзе / Н. Теста // Гематология и трансфузиология. – 1994. – Т. 39. – № 6. – С. 7-8.

126. Тилис Г.И. Возрастные изменения клеточного состава крови у собак / Г.И. Тилис, Л.И. Федотова / Вопросы акушерства и педиатрии. – Фрунзе: Киргистан, 1968. – Вып. 6. – С. 76-78.

127. Тодрия Т.В. Сравнение способности ранних и поздних КОЕс к восстановлению после сублетальных радиационных повреждений / Т.В. Тодрия // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1988. – № 5. – С. 597-599.

128. Тодрия Т.В. Стволовые кроветворные клетки (КОЕс) у тимусдефицитных мышей. I. Содержание ранних и поздних гемопоэтических предшественников в костном мозге тимэктомированных мышей / Т.В. Тодрия // Гематология и трансфузиология. – 1993. – Т. 38. – № 2. – С. 7-9.

129. Тодрия Т.В. Стволовые кроветворные клетки (КОЕс) у тимусдефицитных мышей. II. Морфологический состав селезеночных колоний, образованных 11-суточными КОЕс из костного мозга тимэктомированных мышей / Т.В. Тодрия // Гематология и трансфузиология. – 1993. – Т. 38. – № 2. – С. 31-33.

130. Толстых Е.И. Состояние стволовой популяции системы кроветворения в ранние сроки воздействия на организм  $^{90}\text{Sr}$  / Е.И. Толстых, Д.З. Шибкова, О.Г. Андреева // Вестник ЧГПУ. Серия 4. Естественные науки. – 1996. – № 1. – С. 187-194.

131. Тормозная способность электронов и позитронов: Доклад 37 МКРЕ: пер. с англ. – М.: Энергоатомиздат, 1987. – 328 с.

132. Трентин Д.Д. Кроветворное микроокружение / Д.Д. Трентин // Проблемы гематологии и переливания крови. – 1982. – Т.27. – № 7. – С.52-57.

133. Тришкина А.Н. Радиочувствительность стволовых кроветворных клеток мышей, формирующих селезеночные колонии через 8–12 суток после трансплантации клеток костного мозга / А.Н. Тришкина, А.Г. Коноплянников // Радиобиология. – 1992. – Т.32. – Вып. 2. – С. 207-210.

134. Тужилкова Т.Н. К вопросу о гистологической характеристике клеточных колоний селезенки у мышей, подвергшихся воздействию гамма-облучения / Т.Н. Тужилкова / Лучевое воздействие, восстановление и химическая защита: сб. статей. – Свердловск, 1978 (УНЦ АН СССР). – С.20-23.

135. Тужилкова Т.Н. Патологическая анатомия лучевых поражений при хроническом поступлении  $^{90}\text{Sr}$  / Т.Н. Тужилкова, В.Л. Шведов, Л.П. Андреева, В.П. Семенова, Ж.А. Голощاپов, В.П. Бойцова / Биологическое действие внешних и внутренних источников радиации / Под ред. Ю.И. Москалева, В.С. Калистратовой. – М., Медицина, 1972. – С. 166-176.

136. Тяжелова В.Г. Кинетические принципы в межвидовых экстраполяциях / В.Г. Тяжелова / Отв. ред. И.Г. Акоев. – М.: Наука, 1988. – 193с.

137. Тяжелова В.Г. Моделирование взаимодействия различных ростков кроветворения при ограничении пролиферативных возможностей костного мозга / В.Г. Тяжелова // Радиобиология. – 1984. – Т. 24. – Вып. 5. – С. 690-693.

138. Флиднер Т.М. Морфологические аспекты лучевого поражения / Т.М. Флиднер / Руководство по радиационной гематологии / Пер. с англ. А.Л. Выготской, Д.П. Осанова. – М.: Медицина, 1974. – С. 74 – 77.

139. Фокина Т.В. Возрастные изменения морфологической картины крови у некоторых видов лабораторных животных / Т.В. Фокина / Сб. науч. работ Киогизск. НИИ охраны материнства и детства. – Фрунзе: Киргистан, 1967. – Вып. 4. – С. 206-212.

140. Фриденштейн А.Я. Клеточные основы кроветворного микроокружения / А.Я. Фриденштейн, Е.А. Лурия. – М.: Медицина, 1980. – 216 с.

141. Хаитов Р.М. Зависимость дифференцировки стволовых кроветворных клеток от функционального состояния тимуса / Р.М. Хаитов, Л.В. Рябова // Онтогенез. – 1978. – Т. 9. – № 4. – С. 406-411.

142. Хаитов Р.М. Циркуляция гемопоэтических стволовых клеток в организме / Р.М. Хаитов // Успехи совр. биологии. – 1973. – Т.75. – Вып.1. –С.86-103.

143. Харлова Г.В. Регенерация лимфоидных органов у млекопитающих / Г.В. Харлова. – М.: Медицина, 1975. – 174 с.

144. Хрущов Н.Г. Стволовые клетки крови / Н.Г. Хрущов, В.И. Старостин, Е.И. Домарацкая // Итоги науки и техники. ВНИИТИ. Морфология человека и животных. – Т. 13. – М.: Наука, 1988.– 206 с.

145. Цыганкова Т.П. Показатели крови и кроветворной системы в онтогенезе / Т.П. Цыганкова, Ю.И. Савченков / Матер. 9-й науч. конф. по возрастной морфологии, физиологии и биохимии. – М., 1969. – Т. 2, ч. 2. – С. 304-305.

146. Чертков И.Л. Клеточные основы кроветворения (кроветворные клетки-предшественники) / И.Л. Чертков, А.Я. Фриденштейн. – М.: Медицина, 1977. – 274 с.

147. Чертков И.Л. Новые представления о кроветворении / И.Л. Чертков, Н.И. Дризе // Клиническая медицина. – 1997. – №4. – С. 67.

148. Чертков И.Л. Стволовая кроветворная клетка: дифференцировочный и пролиферативный потенциал / И.Л. Чертков, Е.И. Дерюгина, Р.Д. Левир, Н.Г. Абрахам // Успехи современной биологии. – 1991. – Т. 111. – Вып. 6. – С. 905-920.

149. Чертков И.Л. Стволовая кроветворная клетка и ее дифференцировка в миелоидном и лимфоидном направлениях / И.Л. Чертков / Иммуногенез и клеточная дифференцировка. – М.: Наука, 1978. – С. 102-127.

150. Чертков И.Л. Стволовая кроветворная клетка и ее микроокружение / И.Л. Чертков, О.А. Гуревич. – М.: Медицина, 1984. – 237 с.

151. Чертков К.С. Сопоставление действий кратковременного и пролонгированного облучения в равновеликих не смертельных дозах на кроветворение мышей / К.С. Чертков, С.П. Храмченкова // Радиобиология. – 1972. – Т. 12. – Вып. 1. – С. 77-84.

152. Шафиркин А.В. Некоторые закономерности изменения относительного числа стволовых кроветворных клеток при протяженном облучении с различной мощностью дозы / А.В. Шафиркин // Радиобиология. – 1970. – Т. 23. – Вып. 5. – С. 630-636.

153. Шведов В.Л. Динамика накопления и выведения стронция-90 из скелета крыс в зависимости от их возраста в хроническом эксперименте / В.Л. Шведов // Радиобиология. – 1968. – Т. 8. – Вып. 4. – С.632-635.

154. Шведов В.Л. Накопление радиоактивного стронция в организме мышей и их потомства при длительном его поступлении / В.Л. Шведов / Радиоактивные радионуклиды и организм. – М.: Медицина, 1969. – С. 51-57.

155. Шведов В.Л. Радиобиология стронция-90 / В.Л. Шведов, А.В. Аклеев. – Челябинск: Изд-во «МЕГАС», 2001. – 298 с.

156. Швец В.Н. Влияние гидрокортизона на процесс колониеобразования и дифференцировку гемопоэтических стволовых клеток (КОЕс) интактных и облученных мышей / В.Н. Швец // Радиобиология. – 1982. – Т. 22. – Вып. 2. – С. 264-268.

157. Швец В.Н. Влияние лимфоцитов на гемопоэз в облученном организме / В.Н. Швец // Радиобиология. – 1976. – Т. 16. – Вып. 5. – С. 707-711.

158. Швец В.Н. Влияние мощности дозы  $\gamma$ -лучей  $\text{Co}^{60}$  на колониеобразующие клетки костного мозга мышей / В.Н. Швец // Радиобиология. – 1975. – Т. 15. – Вып. 1. – С. 212-217.

159. Швец В.Н. Изменение количества колониеобразующих единиц костного мозга мышей в процессе облучения с разной мощностью дозы / В.Н. Швец, В.Г. Горлов // Радиобиология. – 1975. – Т. 15. – Вып. 5. – С. 675-679.

160. Швец В.Н. Определение количества и радиочувствительности клеток костного мозга, формирующих в селезенке колонии эритроидного, миелоидного и мегакариоцитарного типов / В.Н. Швец, К.С. Чертков, Л.С. Сеславина // Радиобиология. – 1975. – Т.15. – Вып. 2. – С. 197-201.

161. Швец В.Н. Потенции стволовых кроветворных клеток к дифференцировке при разных мощностях дозы облучения / В.Н. Швец // Радиобиология. – 1976. – Т. 16. – Вып. 4. – С. 618-622.

162. Швец В.Н. Радиочувствительность гемопоэтических стволовых клеток костного мозга мышей при продолжительном облучении / В.Н. Швец // Радиобиология. – 1977. – Т. 17. – Вып. 1. – С. 110-115.

163. Швец В.Н. Радиочувствительность стволовых кроветворных клеток при их клонировании в костном мозге и селезенке / В.Н. Швец, А.В. Шафиркин // Радиобиология. – 1979. – Т.19. – Вып.1. – С. 48-53.

164. Шибкова Д.З. Адаптационно-компенсаторные реакции системы кроветворения при хроническом радиационном воздействии / Д.З. Шибкова, А.В. Аклеев. – М.: Изд-во РАДЭЖОН; Челябинск: Изд-во ЧГПУ, 2006. – 346 с.

165. Шибкова Д.З. Влияние внутреннего облучения  $^{90}\text{Sr}$  на гемопоэтические стволовые клетки мышей СВА / Д.З. Шибкова, О.Г. Андреева, Е.И. Толстых // Радиационная биология. Радиозкология. – 2000. – Т. 40. – Вып. 1. – С. 92-98.

166. Шибкова Д.З. Общие закономерности структурно-функционального обеспечения гомеостаза в норме и при воздействии на организм ионизирующего излучения / Д.З. Шибкова // Науч. журн. ЧГПУ: Сер. 4. Естественные науки. – Челябинск. – 1999. – № 3. – С. 7-53.

167. Шибкова Д.З. Оценка закономерностей гомеостаза при хроническом радиационном воздействии / Д.З. Шибкова, О.Г. Андреева, В.Л. Шведов, А.В. Аклеев // Проблемы радиоэкологии и пограничных дисциплин / Под ред. А.В. Трапезникова и С.М. Вовк. – Заречный, 2000. – Вып. 3. – С. 65-95.

168. Шибкова Д.З. Состояние системы гемоиммунно-поза экспериментальных животных при хроническом радиационном воздействии в диапазоне малых и промежуточных мощностей доз: дис. .... д-ра. биол. наук / Д.З. Шибкова. – Москва, 2001. – 265 с.

169. Шибкова Д.З. Фактор связи - основа жизнеспособности биологических систем / Д.З. Шибкова, О.Г. Андреева, Н.В. Ефимова, А.В. Аклеев // Науч. журн. ЧГПУ: Сер. 4. Естественные науки. – Челябинск. – 2001. – № 4. – С. 80-90.

170. Шибкова Д.З. Численность, пролиферативный и дифференцировочный потенциалы стволовых кроветворных клеток при хроническом радиационном воздействии / Д.З. Шибкова, Н.В. Ефимова, А.В. Аклеев // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2001. – Т. 41. – Вып. 3. – С. 295-300.

171. Шибкова Д.З. Эффекты хронического радиационного воздействия на кинетику, пролиферативный и дифференцировочный потенциал стволовых кроветворных клеток / Д.З. Шибкова, Н.В. Ефимова, А.В. Аклеев // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2000. – № 5. – С. 21-26.



172. Шиффман Ф.Дж. Патофизиология крови: пер. с англ. / Ф. Дж. Шиффман. – М. – СПб.: Изд-во «БИНOM» – «Невский Диалект», 2000. – 448 с.

173. Юшков Б.Г. Система крови и экстремальные воздействия на организм / Б.Г. Юшков, В.Г. Климин, М.В. Северин. – Екатеринбург, 1999. – 202 с.

174. Яковлева Н.Г. Гематологические эффекты при однократном и хроническом воздействии стронция-90 и кальция-45 / Н.Г. Яковлева // Радиационная гигиена: сб. науч. трудов. – Л.: ЛенНИИРГ, 1980. – Вып. 9. – С. 71-77.

175. Ярилин А.А. Действие ионизирующей радиации на лимфоциты (повреждающий и активирующий эффекты) / А.А. Ярилин // Иммунология. – 1988. – Т. 26. – № 5. – С. 5-11.

176. Ястребов А.П. Возрастные особенности состояния пролиферативных процессов в миелоидной ткани / А.П. Ястребов, С.В. Сазонов // Вопросы экспериментальной физиологии. – Екатеринбург: УрО РАН, 1997. – С. 158-163.

177. Akleyv A.V. Health effects of radiation incidents in the Southern Urals / A. V. Akleyv, M.M. Kossenko, L.A. Silkina, M.O. Degteva, V.A. Yachmenyov, A. Awa, M. Akiyama, G.A. Veremeyeva, A.V. Vozilova, S. Kozheurov, O.V. Vyushkova // Stem Cells. – 1995. – V.13 (suppl 1). – P.58-68.

178. Bekkum D.v. Radiation sensitivity of normal and neoplastic (stem) cells in various species / D.v. Bekkum / The hemopoietic stem cell. – Schloss Reisenburg, 1989. – P. 133-139.

179. Biomedical Implication of Radiostrontium Exposure / Eds M. Goldman, K. Bustad. – N.Y.: U.S. Atom. Energy Comm., 1972. – 404 p.

180. Boggs S.S. Cell-cycling characteristics of endogenous spleen colony-forming units / S.S. Boggs, D.R. Boggs // J. Lab. Clin. Med. – 1973. – V. 82. – N 5. – P.740-753.

181. Bond V.P. Mammalian radiation lethality / V.P. Bond, T.M. Flitdner, A. Archambeau. – New York - London, Acad. Press, 1965. – 317 p.

182. Bond V.P. Radiation mortality in different mammalian species / V.P. Bond // Comparative cellular and species radiosensitivity / Bond V.P., Sugahara T. eds., – Tokyo, Igaku Shoin, 1969. – P.5-19.

183. Botnick L.E. Nature of hemopoietic stem cell compartment and its proliferative potential / L.E. Botnick, E.C. Hannon, S. Hellman // Blood Cells. – 1979. – V. 5. – № 2. – P. 195-210.

184. Brown J.M. Stochastic or ordered lineage commitment during hemopoiesis? / J.M. Brown, C.M. Bunce, A.J. Howie, J.M. Lord // Leukemia. – 1987. – V. 1. – № 2. – P. 150-153.

185. Chen M.G. Impaired Elkind recovery in hemopoietic colony forming cells of aged mice / M.G. Chen // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. – 1974. – № 145. – P. 1181-1186.

186. Chu-tse W.U. Haemopoietic stem cell kinetics during continuous irradiation / W.U. Chu-tse, L.G. Lajtha // Intern. J. Rad. Biol. – 1975. – V. 27. – № 1. – P.41-50.

187. Curry J.L. Hemopoietic spleen colony studies. I. Growth and differentiation / J.L. Curry, J.J. Trentin // Develop. Biol. – 1967. – V. 15. – P. 395-413.

188. Curry J.L. Hemopoietic spleen colony studies. II. Erythropoiesis / J.L. Curry, J.J. Trentin, N. Wolf // J. Exp. Med. – 1967. – V. 125. – №5 – P. 703 – 719.

189. Degteva M.O. General approach to dose reconstruction in the population exposed as a result of the release of radiative wastes in to the Teyca river / M.O. Degteva, V.P. Kozheurov, M.I. Vorobiova // The Science of the Total Environment. – 1994. – V.142. – P.49-61.

190. Feinendegen L.E. Radiation sensitivity of the hemopoietic system / L.F. Feinendegen / The hemopoietic stem cell. – Schloss Reisenburg, 1989. – P. 141-142.

191. Fliedner T. Bone marrow structure and its possible significance for hematopoietic cell renewal / T. Fliedner, W. Calvo, V. Kilnert // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 1985. – V. 459. – P. 73 – 84.

192. Gelfant S. Aging: noncycling cells. An explanation / S. Gelfant, J.G. Smith // *Sciens.* – 1972. – V. 178. – № 4059. – P. 357-361.

193. Gidall I. Long-term perturbation of hemopoiesis after moderate damage to stem cells / I. Gidall, E. Istnan, I. Feher // *Exp. Hematol.* – 1985. – V. 13. – P. 647 – 651.

194. Gordon M.Y. Characterization of stroma dependent blast colony-forming cells in human marrow / M.Y. Gordon, C.R. Dowding, G.P. Riley, M.F. Greaves // *J. Cell. Physiol.* – 1987. – V. 130. – P. 163-169.

195. Harrison D.E. Do hemopoietic stem cells age? / D.E. Harrison // *Monogr. Devt. Biol.* – Basel: Karger, 1984. – V. 17. – P. 21-41.

196. Hellman S. Effect of radiation on the capacity of the stem cell compartment to differentiate into granulocytic and erythrocytic progeny / S. Hellman, H.E. Grate, J.T. Chaffey // *Blood.* 1969. – V. 34. – № 2. – P.141-156.

197. Hofer M. The kinetics of endogenous erythroid gaemopoietic spleen colonies in mice between 4 and 10- days after irradiation with dose of 5; 7; 9 Gy / M. Hofer, L. Tkadlecek, S. Viklika, Z. Karpfel // *Folia biol. (CSSR).* – 1987. – V. 33. – P.890-895.

198. Ibrahim N.G. Erythroid colony development as a function of age: the role of marrow cellular heme / N.G. Ibrahim, J.D. Lutton, R.D. Levere // *J. Gerontol.* – 1983. – V. 38. – № 1. – P. 13-17.

199. Imai Y. In vivo radiosensitivity and recovery pattern of the hematopoietic precursor cells and stem cells in mouse bone marrow / Y. Imai, I. Nakano // *Exp. Hematol.* – 1987. – V. 15. – P. 890-895.

200. Inoue T. The influence of in vivo incubation of aged murin spleen colony-forming units on their proliferative capacity / T. Inoue, E.P. Gonkite // *Mech. Ageing and Develop.* – 1983. – V.23. – P. 177-190.

201. International Commission on Radiological Protection. Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. ICRP, Publication 60. – Pergamon Press, Oxford, 1991. – 569 p.

202. Juraskova V. The effect of the continuous irradiation of bone marrow on the colony forming activity and differentiation of the stem cells / V. Juraskova // *Folia biologica (Praha)*. – 1967. – V.1. – № 13. – P. 79-83.

203. Kalina I. Effect of different daily rate of continuous irradiation upon changes in CFU number / I. Kalina, M. Praslicka, J. Petrovicova // *Folia biologica (Praha)*. – 1977. – V. 23. – № 2. – P.111-115.

204. Lajtha J.G. Cytokinetics and regulation of progenitor cells / J.G. Lajtha // *J.Cell Physiol.* – 1966. – V. 67. – suppl. 1. – P. 133-148.

205. Lajtha J.G. Kinetic properties of haemopoietic stem cells / J.G. Lajtha // *Cell Tissue Kinetic.* – 1969. – V. 2. – P.39-49.

206. Lajtha J.G. Stem cells concepts / J.G. Lajtha // *Nouv. rev. franc. hematol.* – 1979. – V. 21. – P. 59-65.

207. Latsinik N.V. Susceptibility to polycythemia of hemopoietic spleen colonies produced by embryonal liver cells / N.V. Latsinik, N.L. Samoylova, J.L. Chertkov // *J. Cell. Physiol.* – 1971. – V. 78. – P. 405-410.

208. Life-Span Radiation Effects Studies in Animal / Eds R. C. Thompson, J.A. Mahaffey. – N.Y.: U.S. Department of Energy, 1986. – 485 p.

209. Lord B.I. On the late seeding of CFU-s to the spleen: 8 is 12- day CFU-s / B.I. Lord, G. Molineux, R. Schofield // *Exp. Hematol.* – 1989. – № 7. – P. 836-842.

210. Lorenz E. Effect of long-continued whole-body damma-irradiation on mice, quinea pigs and rabbits. 3. Effects on life span, weight, blood picture and cancerogenesis and the role of the intensity of radiation / E. Lorenz / Biological effect of external X- and gamma-radiation. – V. 4. – McGraw Hill, New York, 1954. – 300 p.

211. Luria E.A. Differentiation of hepatic and hematopoietic cells and synthesis of blood serum proteins in organ cultures of the liver / E.A. Luria, R.D. Bakirov, T.A. Yeliseyeva // Exptl. Cell Res. – 1969. – № 54. – P. 111-117.

212. Luria E.A. Proliferation of htmopoietic stem cells in culture of embryonal liver of mice / E.A. Luria, N.L. Samoylina, Y.V. Gerasimov, J.L. Chertkov // J. Cell. Physiol. – 1971. – № 78. – P. 461-463.

213. Magli M.C. Transient nature of early haematopoietic spleen colonies / M.C. Magli, N.N. Iscove, N. Odartchenko // Nature. – V. 295. – February 1982. – P.527-529.

214. Makinodan T. Influence of age on cellular differentiation: a T cell model / T. Makinodan, M.P. Chang, N. Kinohara // Exp. Gerontol. – 1986. – № 21. – P. 241-253.

215. Matioli G. Hemopoietic stem cells growth and microdiffusion / G. Matioli, M. Merritt, R. Vasudevan // Math. Biosci. – 1973. – V. 17. – P. 339-355.

216. Mays C.W. Biomedical Implication of Radiostrontium Exposure / C.W. Mays, R.D. Lloyd / Goldman M. and Bustad L.K. eds. – N.Y., U.S. Atomic Energy Commission, 1972. – P. 352-370.

217. Messner H.A. Clonogenik hemopoietic progenitors in human peripheral blood / H.A. Messner / The hemopoietic stem cell. – Schloss Reisenburg, 1989. – P. 53-56.

218. Metcalf D. Haemopoietic cells / D. Metcalf, M.A.S. Moore. – Amsterdam-London., North-Holland Publ., 1971. – 542 p.

219. Metcalf D. Regulation of self-replication in normal and leukemic stem cells / D. Metcalf / Normal and neoplastic hematopoiesis. – N. Y., Alan R. Liss, 1983. – P. 141-156.

220. Micklem H.S. Cell proliferation in haemopoietic spleen colonies of mice: difference between colonies derived from injected adult bone marrow and fetal liver cells / H.S. Micklem // Cell Tissue Kinet. – 1972. – V.5. – P. 159-164.

221. Mikori T. Cytological study of hemopoietic spleen colonies / T. Mikori, M. Feldman // Transplantation. – 1965. – № 3. – P. 98-113.

222. Miller J.F.A.P. Effect of thymectomy in adult mice on immunological responsiveness / J.F.A.P. Miller // Nature. – 1965. – V. 208. – P. 1337-1338.

223. Monig H. Haematological studies on  $^{90}\text{Sr}$  -  $^{90}\text{Y}$  - toxicity. I: Ferrokintetic changes in peripheral blood of mice / H. Monig, A.F.G. Stevenson, I. Seiter, K.-H. Steinbach // Radiat. Environ. Biophys. – 1980. – V. 18. – P. 137-148.

224. Moore M.A.S. Ontogeny of the haemopoietic system: Volk soc origin of in vivo and in vitro colony forming cells in the developing mouse embryo / M.A.S. Moore, D. Metcalf // Brit. J. Haematol. – 1970. – V. 18. – P. 279-296.

225. Nilsson A. Effect of radiostrontium on the blood and haematopoietic tissues of mice / A. Nilsson // Acta Vet. Scand. – 1963. – V. 3. – P. 103-117.

226. Nilsson A. Effect of syngeneic bone marrow and thymus cell transplantation to  $^{90}\text{Sr}$  irradiated mice / A. Nilsson, P. Bierke, A. Broome-Karlsson // Acta Radiol. Oncol. – 1980. – V.19. – Fasc. 1. – P. 29-36.

227. Nilsson A. Pathologic effects of different doses of radiostrontium in mice. Dose effect relationship in  $^{90}\text{Sr}$ -induced tumours / A. Nilsson // Acta Radiol. Ther. Phys. Biol. – 1970. – V. 9. – P. 155-175.

228. Ogawa M. Hierarchy of hemopoietic stem cells assayable in culture; statistical analysis of their self-renewal and differentiation / M. Ogawa, T. Nakahata, P.N. Porter / Normal and neoplastic hematopoiesis. – N. Y., Alan R. Liss, 1983. – P. 213-223.

229. Pozzi L.V. CFU in fetal spleen and peripheral blood / L.V. Pozzi, U. Andreozzi, G. Silini // Acta haematol. – 1972. – V. 48. – P. 337-346.

230. Rosendaal M. Haemopoietic stem cells are organized for use on the basis of their generation age / M. Rosendaal, G.S. Hodgson, T.R. Bradley // Nature. – 1976. – V. 264. – P. 68-69.

231. Schofield R. CFU-S repopulation after low-dose whole-body radiation / R. Schofield, T.M. Dexter // Radiat. Res. – 1982. – V. 89. – №3. – P.607-617.

232. Schofield R. The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell: a hypothesis / R. Schofield // Blood Cells. – 1978. – V. 4. – № 1. – P. 7-25.

233. Siminovich L. Radiation response of hemopoietic colony-forming cells derived from different sources / L. Siminovich, J.E. Till, E.A. McCulloch // Radiat. Res. – 1965. – V. 24. – P. 482-493.

234. Stevenson F.F.G. Haematological studies on  $^{90}\text{Sr}$ - $^{90}\text{Y}$ -toxicity. II.: Femoral CFU-s kinetics and mitogen response of spleen cells / F.F.G. Stevenson, R. Daculsi, H. Monig // Radiat. Environ. Biophys. – 1982. – V.20. – P. 275-287.

235. Stevenson F.F.G. The influence of age and sex on the activity ratio of yttrium-90 to strontium-90 in the rat skeleton after incorporation of strontium-90 / F.F.G. Stevenson // Health Phys. – 1975. – V. 29. – P. 285-290.

236. Tice R.R. Cytokinetic analysis of the impaired proliferative response of peripheral lymphocytes from aged humans to PHA / R.R. Tice, E.L. Schneider, D. Kram, P. Thorne // J. Exp. Med. – 1979. – V. 149. – P. 1029-1041.

237. Till J.F. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells / J.F. Till, E.A. McCulloch // *Radiat. Res.* – 1961. – V. 14. – P. 213-222.

238. Till J.F. A stochastic model of stem cell proliferation based on the growth of spleen colony-forming cells / J.F. Till, E.A. McCulloch, L. Siminovitch // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1964. – V.51. – P. 29-36.

239. Till J.F. Hemopoietic stem cell differentiation / J.F. Till, E.A. McCulloch // *Biochem. Biophys. Acta.* – 1980. – № 605. – P. 431-459.

240. Trentin J.J. Determination of bone marrow stem cell differentiation by stromal hemopoietic inductive microenvironment (HIM) / J.J. Trentin // *American Journal of Pathology.* – 1971. – V. 65. – № 3. – P. 621-628.

241. Vos O. Multiplication of CFU in mice after X-irradiation and bone marrow transplantation / O. Vos // *Cell and Tissue Kinet.* – 1972. – V. 5. – № 4. – P. 341-350.

242. Mathematical modeling of cell proliferation: stem cell regulation in hemopoiesis, Volume I / Wichmann H.E., Loffler M. (Eds.). – CRC Press, Boca Raton, 1985. – P. 1-235.

243. Wichmann H.E., Loffler M. Stem cell kinetics after radiation exposure in a biomathematical model / H.E. Wichmann, M. Loffler / *The hemopoietic stem cell.* – Schloss Reisenburg, 1989. – P. 149-160.

244. Wiktor-Jedrzejczak W. Erythropoietic stimulation enhances and erythropoietic inhibition suppresses, multidirectional differentiation in 5-day transient endogenous spleen colonies / W. Wiktor-Jedrzejczak // *Experientia.* – 1981. – V. 37. – P. 1024-1026.

245. Wolf N.S. Hemopoietic colony studies / N.S. Wolf, J.J. Trentin // *J. Exp. Med.* – 1968. – V. 127. – P. 205-207.

246. Wu Chu-Tse. Haemopoietic stem cell kinetics during continuous irradiation / Chu-Tse Wu, L.G. Lajtha // *Intern. J. Radiat. Biol.* – 1975. – V. 27. – № 1. – P.41-50.



## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Г-КСФ – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор

ГИМ – гемопозиндуцирующее окружение

ГМ-КСФ – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор

ККМ – красный костный мозг

КОЕс – колониеобразующая единица селезеночная

КОЕс-9-сут. – колониеобразующая единица селезеночная, тестируемая на 9-е сутки экзотеста

КОЕс-12-сут. – колониеобразующая единица селезеночная, тестируемая на 12-е сутки экзотеста

КОЕф – колониеобразующая единица фибробластов

КСФ – колониестимулирующий фактор

М-КСФ – макрофагальный колониестимулирующий фактор

СКК – стволовая кроветворная клетка

44 47 48 50 51 52 53 55 56 160

161 162 163 165 166