

БИОИНДИКАЦИЯ РАДИАЦИОННОГО ПОРАЖЕНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Джелиев Л.И., Институт экспериментальной патологии и терапии АН Абхазии, Сухум, Абхазия, instpath@mail333.com

Баркая В.С., Институт экспериментальной патологии и терапии АН Абхазии, Сухум, Абхазия, instpath@mail333.com

Одна из важных проблем радиобиологии – оценка полученной организмом лучевой нагрузки по биологическим эффектам. К настоящему времени предложен ряд методов индикации радиационного поражения: гематологический, цитологический, биохимический, цитогенетический и другие. Оценивая в целом эти методы, следует подчеркнуть, что большинство из них, несомненно, информативны, достаточно реально отражают глубину радиационного поражения на различных стадиях лучевого процесса. Недостатком их является трудоемкость, порой необходимость дорогостоящих реактивов, сложных приборов и времени для проведения конкретного теста. Всё это снижает их практическое применение, когда, например, в аварийной ситуации, необходимо обследовать контингент людей на факт облученности. И главное неудобство этих методов состоит в их инвазивности, т.е. необходимости взятия биоматериала и последующей его обработки. В этой связи представляется актуальной разработка неинвазивных и технически простых индикаторов радиационного поражения. Одним из таких новых мало изученных методов является метод точечной кожной электрометрии (Неборский и др., 1986), получивший распространение в практической медицине. Установлено, что по изменению электрических параметров акупунктурных зон (АКЗ) можно судить о тех или иных процессах в организме человека. Важно, что изменения электрометрических характеристик АКЗ проявляются раньше, чем явные клинические признаки патологии. Имеется сообщение об информативности метода при поражении ионизирующим излучением крыс (Катасонов и др., 1990).

В настоящей работе в опытах на морских свинках и обезьянах проведено сравнение информативности некоторых известных инвазивных тестов на облученность организма с показателями кожной электрометрии.

Предлагаемый метод кожной электрометрии основан на изменении электропроводности участка кожного покрова. Величина электропроводности зависит от количества свободных электрических зарядов и их подвижности, что говорит о её непосредственной связи с состоянием кожного покрова.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на 40 морских свинках массой 250-600 г и 16 макаках резусах и павианах гамадрилах массой 8-10 кг. Облучение животных проводилось γ -лучами на установке ГУБЭ-4000. Работа состояла из следующих этапов.

1. Отработка метода кожной электрометрии на интактных животных (морские свинки). С этой целью производилось общее термическое воздействие на организм (нагревание животных в термостате при температуре воздуха 55-60°C до достижения температуры тела 41°C). На этом этапе были отобраны наиболее оптимальные для электрометрии участки на кожной поверхности морских свинок: область носа, ушная раковина, подушечки передней и задней конечностей (всего 4 точки). Показатели кожной электрометрии коррелировали с общеклиническими показателями (частота дыхания, температура тела), а также с состоянием кожного кровотока на исследуемых участках, отмечаемом визуально (покраснение кожи в результате гиперемии).

2. Получение модели лучевого поражения морских свинок различной степени тяжести: от легкой до сверхлетальной. Животные были разделены на 4 группы по 15-25 особей. Каждая группа была облучена в дозах соответственно 2, 5, 10, 20 Гр. Оценка состояния животных осуществлялась по общеклиническим проявлениям, изменениям в крови, динамике изменений в костном мозге (количество миелокариоцитов в 1 голени), патоморфологической картине погибших животных.

3. Биоиндикация радиационного поражения в указанных дозах методом кожной электрометрии в опытах на морских свинках. Измерения проводились прибором «Элитерис-ЭД». С помощью электрода (второй электрод фиксировался на постоянном участке тела) на исследуемый участок кожного покрова подавалось напряжение 18 V, и микроамперметром регистрировалась сила тока на этом участке.

4. Моделирование острой лучевой болезни на обезьянах. Этот этап является особенно важным, поскольку обезьяны наиболее близки к человеку по своим анатомо-физиологическим параметрам (Яковлева, 1966). Животные были подвергнуты γ -облучению в дозах 0,5, 2,0, 3,0, 4,0 и 6 Гр. Оценивались клиническое состояние, гематологические показатели животных. В качестве биоиндикаторов была исследована активность ферментов сыворотки крови: бутирилхолинэстеразы, аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ), α -амилазы, щелочной фосфатазы микрометодами по А.А.Покровскому [1969].

5. Исследование кожной электропроводности в опытах на облученных обезьянах. Измерение КЭП проводилось на ладонях и подошвах.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

1. Биоиндикация лучевой болезни у морских свинок

Клинико-гематологические показатели. При дозе облучения 2 Гр лучевая болезнь протекала сравнительно легко. Сдвиги в клеточном составе крови прослеживались спустя 24 часа после облучения. Максимальное снижение количества тромбоцитов прослеживалось к 14-м суткам (до 10^5 в 1 мм^3), лейкоцитов к 7-м суткам ($3,6 \cdot 10^3$ в 1 мм^3), миелокариоцитов к 5-м суткам ($115,4 \cdot 10^6$ на одну голень). Гибели не отмечалось. Наблюдались слабо выраженные геморрагии на коже грудного отдела туловища.

При 5 Гр отмечались выраженные гематологические изменения. К 2-й неделе наблюдалась значительная тромбоцитопения (до $53 \cdot 10^3$), множественные геморрагии на туловище. К 30-м суткам выжило 20% животных. У погибших животных на вскрытии отмечались очаги кровоизлияния в подкожной клетчатке, легких, перикарде.

Еще острее была лучевая болезнь при облучении животных в дозе 10 Гр. При этой дозе к 14-м суткам погибли все облученные животные. По всему туловищу отмечались множественные геморрагии. С 7-х суток наблюдалась глубокая тромбоцитопения (до $38 \cdot 10^3$), количество лейкоцитов снижалось до 700, кариоцитов – до $7,2 \cdot 10^6$. На вскрытии в органах наблюдались массивные кровоизлияния.

Наиболее тяжело лучевая болезнь протекала при сверхлетальной дозе – 20 Гр. С первых же часов животные были вялыми, заторможенными, у них был снижен аппетит, наблюдался жидкий стул. С 8-х – 9-х суток отмечались очаги кровоизлияний на туловище, в паховых зонах. Содержание тромбоцитов падало до $15 \cdot 10^3$, лейкоцитов – до 600, количество кариоцитов снижалось до $4,4 \cdot 10^6$. На вскрытии в брюшной полости – сгустки крови, в легких – крупные очаги кровоизлияний, по ходу желудочно-кишечного тракта – массивные кровоизлияния.

Динамика кожной электропроводности. Величина электропроводности в АКЗ резко снижалась с первых же часов и к 5 часам после лучевой нагрузки (2 Гр) приближалась к 35% от исходного уровня. Повторное снижение этого показателя

прослеживается спустя 12 часов от начала эксперимента. Как отмечено выше, при этой дозе поражения инвазивные индикаторы тоже регистрировали факт облученности животного, но отчетливо лишь в поздние сроки поражения.

При дозе облучения 5 Гр динамика электропроводности была более демонстративной. Как видно из рис. 1, кривая КЭП в течение 17 часов после облучения неуклонно продолжает снижаться, и к указанному сроку величина электропроводности составляет всего 25% фонового значения.

Описанная выше тенденция еще более выражена у животных, получивших дозу γ -облучения 10 Гр. На рис. 2 на фоне отмеченных выше значительных изменений лабораторных показателей и общего состояния животных отчетливо видно, как на 20-м и 24-м часах после облучения показатель КЭП падает почти до нулевого уровня.

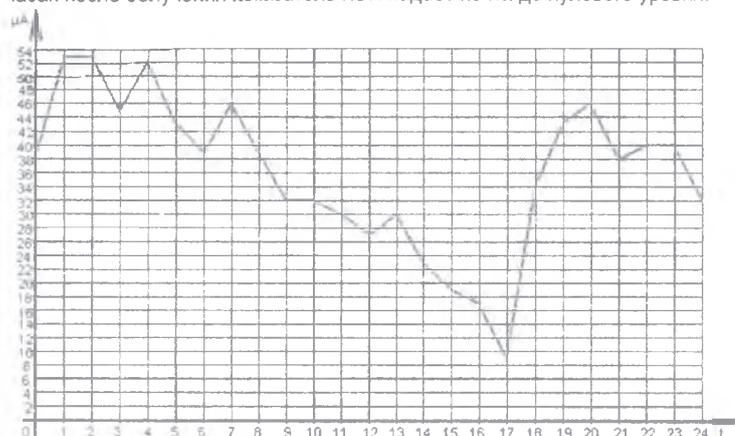


Рис. 1. Динамика КЭП у морских свинок, облученных в дозе 5 Гр.

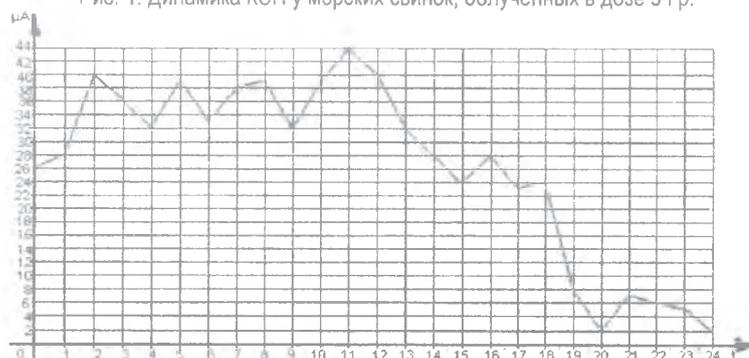


Рис. 2. Динамика КЭП у морских свинок, облученных в дозе 10 Гр.

Особый интерес представляет динамика показателя КЭП у животных, облученных в дозе 20 Гр. Результаты индикации радиационного воздействия представлены на рис. 3. Как отмечалось выше, при этой дозе развивается лучевая болезнь крайне тяжелой степени (глубокая тромбоцитопения, лейкоцитопения, опустошение костного мозга, тяжелое общее состояние). В то же время показатель электропроводности изменяется в противоположном направлении: уже к первому часу после облучения он резко

возрастает и остается на этом уровне в течение суток. По-видимому, подобная динамика КЭП связана с тем, что при такой сверхлетальной лучевой нагрузке организм уже не в состоянии установить адекватный режим регуляции.

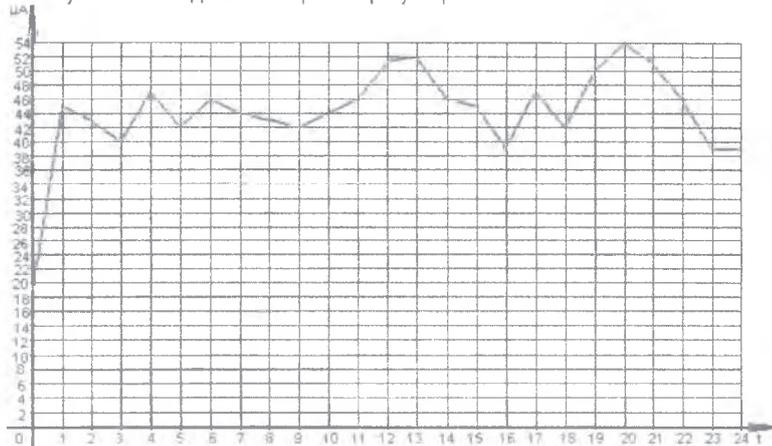


Рис.3. Динамика КЭП у животных, получивших дозу 20 Гр.

2. Биоиндикация лучевого поражения обезьян

Клинико-гематологические показатели. При дозе радиации 0,5 Гр ни в ранние, ни в поздние сроки особых отклонений в состоянии животных не прослеживалось. Обезьяны были активны, хорошо поедали корм. В крови в первые часы отмечался небольшой лейкоцитоз, в последующие сроки содержание лейкоцитов незначительно снизилось, а к 14-м суткам восстановилось до исходного уровня. Через сутки после облучения содержание лимфоцитов уменьшилось на 15% от исходного и сохранялось на этом уровне до 14-дня лучевой нагрузки. Существенно не изменялись и показатели красной крови и тромбоцитов.

При дозе 2 Гр животные в первые дни после облучения также выглядели вполне здоровыми. Сохранялись двигательная активность, пищевые рефлексy. Первичная реакция не отмечалась. В периферической крови в первые часы после облучения наблюдались лейкоцитоз и снижение уровня лимфоцитов (на 50% от исходного). В разгар заболевания прослеживалась некоторая вялость, жидкий стул. Содержание лимфоцитов и нейтрофилов уменьшалось до 30 – 35% от исходного. Незначительное снижение тромбоцитов отмечено к 10-м суткам поражения. С 15-х суток отмечалась тенденция к восстановлению гематологических показателей.

При дозе 4 Гр у животных отчетливо прослеживались все стадии лучевой болезни. Первичная реакция развивалась в первые часы после облучения: животные были малоподвижны, отказывались от пищи. Через 60 минут была однократная рвота. Спустя 1,5 часа восстанавливалась двигательная активность, появлялся интерес к пище.

В латентный период состояние животных удовлетворительное: они подвижны, охотно поедали пищу, стул нормальный. Объективные данные, однако, указывают на наличие патологического процесса: температура тела повышена, в крови – лейкопения с преобладанием лимфопении при некотором снижении содержания эритроцитов и гемоглобина.

В период разгара лучевой болезни (с 8-го дня) у обезьян наиболее типичные симптомы – резкая слабость, снижение двигательной активности, падение мышечного тонуса, нарушение аппетита (Семенов, 1959). Стул жидкий, с примесью крови. В крови

резко снижено количество лейкоцитов (до 1000 клеток в 1 мм^3), СОЭ повышена до 60 мм/ч. Начинает снижаться содержание эритроцитов, число тромбоцитов ко 2-3-й неделе падает до 50000 в 1 мм^3 .

С 21-х суток намечается нормализация нарушенных систем. Основные гематологические показатели приближаются к фоновым значениям к 30-му дню лучевой болезни.

Биохимические показатели. Как описано выше, в качестве биоиндикаторов радиационного поражения была исследована в различные сроки после облучения обезьян активность ферментов: АЛТ, АСТ, бутирилхолинэстеразы, α -амилазы и щелочной фосфатазы (рис. 4, 5).

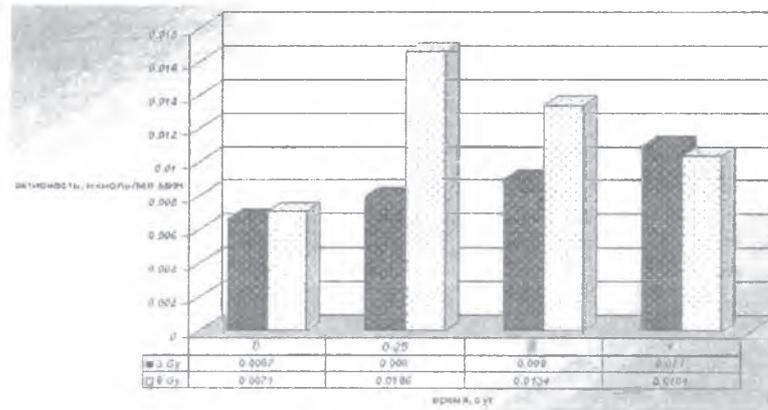


Рис. 4. Динамика активности АЛТ

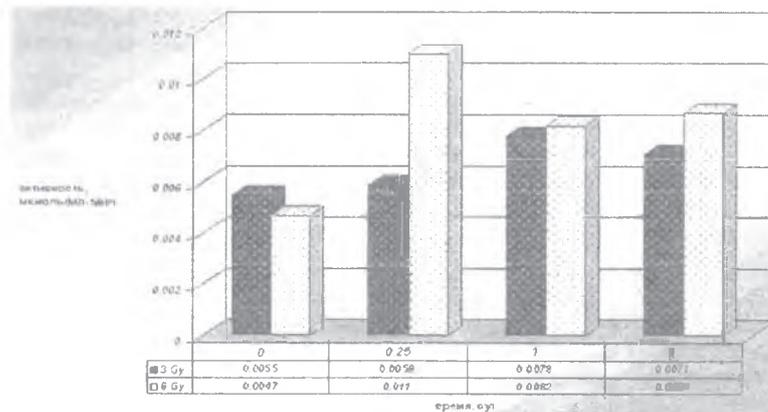


Рис. 5. Динамика активности АСТ 1

В исследованных пробах крови отмечено колебание активности ферментов, при этом прослеживается определенная закономерность: небольшой подъем активности ферментов при облучении в дозе 3 Гр для бутирилхолинэстеразы через 6 ч – 1 сутки и на 4-е сутки (рис. 6) с дальнейшим падением к 25-м суткам. Такое же незначительное отклонение от исходной величины получено на 4-7-е сутки для трансаминаз и амилазы (рис. 4-6).

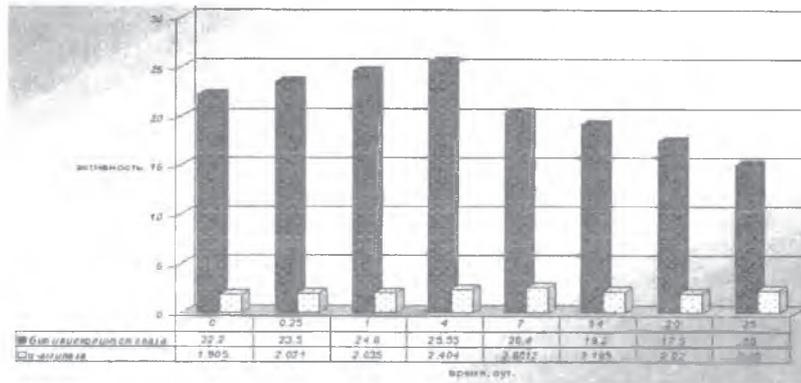


Рис. 6. Активность бутирилхолинэстеразы и α-амилазы

Сходная картина была получена при облучении животных удвоенной дозой радиации (6 Гр). Все величины активности, так же как и при дозе 3 Гр, ограничивались незначительными отклонениями. Однако следует отметить разницу в том, что при 6 Гр увеличение активности ферментов в сыворотке через 1-3 и 7 суток было несколько большим, чем в предыдущей серии, т.е. при 3 Гр. Особенно это выражено для активности трансаминаз. Для активности же бутирилхолинэстеразы и щелочной фосфатазы достоверных различий между исходной величиной и поэтапными величинами получено не было.

Динамика кожной электропроводности. Биоиндикацию данным методом осуществляли по описанной выше методике. Однако, в отличие от опытов на морских свинках, измерение проводили спустя 60 минут после облучения, чтобы ослабить влияние условий эксперимента (доставка животных в облучатель, размещение их в камере, погружаемой в γ-поле и т.д.). Перед облучением животных КЭП определяли многократно и вычисляли средний показатель из 3-5 измерений с интервалами 10-15 минут также с целью адаптации. Результаты представлены на рис. 7 и 8.

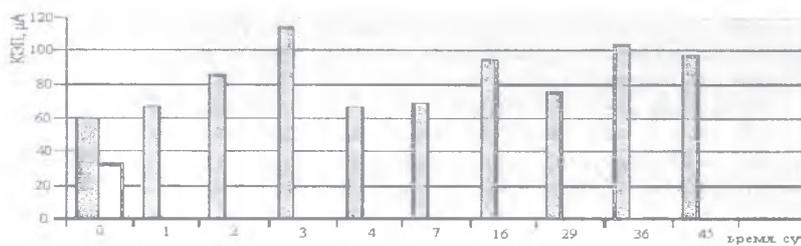


Рис. 7. Динамика КЭП обезьян при облучении в дозе 0,5 Гр.

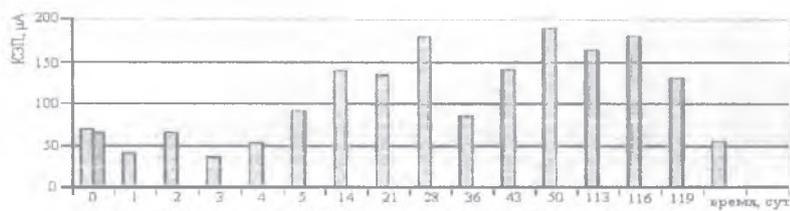


Рис. 8. Динамика КЭП обезьян при облучении в дозе 2 Гр.

На рис. 7 представлена динамика КЭП обезьян, облученных в дозе всего 0,5 Гр, при которой, как отмечалось, не прослеживались заметные проявления лучевой нагрузки. Тем не менее, даже при такой дозе уже вскоре после облучения (спустя 1,5-2 часа) регистрируется снижение кожной электропроводности. В последующие дни она колеблется в пределах, превышающих начальные показатели. Более демонстративен показатель КЭП при дозе 2 Гр (рис. 8). Снижаясь на 1-е и 3-и сутки после радиационного воздействия, в последующие сроки наблюдения отмечается подъем и снижение показателя, что, вероятно, связано с фазами лучевой болезни.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на двух видах животных показана информативность электрометрии кожи как неинвазивного индикатора радиационного поражения. Особенно важны результаты, полученные на приматах, поскольку, как известно, в главных своих чертах лучевая болезнь обезьян весьма сходна с таковой у человека.

Метод кожной электрометрии представляет собой биоиндикатор, по которому можно оперативно констатировать сам факт облученности. Важно, что он информативен уже в первые часы после радиационного воздействия на организм даже в небольших дозах (0,5 Гр), когда практически отсутствуют заметные изменения, определяемые другими, инвазивными индикаторами (гематологическими, цитологическими). Метод позволяет также проводить корреляцию с тяжестью поражения и дает возможность прогнозировать исход поражения. Бесспорно, использованные инвазивные методы также информативны, особенно при высоких поражающих дозах. По динамике клеточного состава периферической крови, особенно лимфоцитов, нейтрофилов, кардиоцитов костного мозга, изменению активности отдельных ферментов тоже можно оценивать тяжесть и исход радиационного поражения. Однако метод кожной электрометрии прост, доступен, не требует получения биоматериала и его обработки. Поэтому информацию он выдает в короткие сроки (7-8 мин) обследования. Конечно, он не является универсальным, специфичным только для лучевого процесса, но с успехом может быть включен в комплекс клинико-лабораторных методов диагностики ранних радиационных поражений.

ЛИТЕРАТУРА

Катасонов С.Н., Шишкина С.К., Мальцева И.О., Рябова Т.Я. Исследование измерений электрических параметров кожного покрова крыс // Космическая биология и авиакосмическая медицина, 1990. № 4. С. 34-35.

Неборский А.Т., Белканиа Г.С. Электрокожная проводимость у человека и обезьян // Космическая биология и авиакосмическая медицина, 1986. № 3. С. 61-68.

Биохимические методы исследования в клинике. Справочник. (Под ред. А.А.Покровского). М., 1969. С. 117-119, 132, 164, 174.

Семенов Л.Ф. Клиника острой лучевой болезни // Острая лучевая болезнь и её отдаленные последствия. Сухум, 1959. С. 3-7.

Яковлева Л.А. Сравнительное исследование лучевой болезни и её последствий. Л.: Медицина, 1966. 259 с.