

УДК 615.27+612.014.48:616.155:599.23

Н. К. Родіонова¹, Н. П. Атаманюк¹✉, Л. П. Дерев'янку¹, В. В. Талько¹, А. М. Яніна¹,
М. В. Шелковський¹, Г. В. Косякова², О. Ф. Мегедь², Н. М. Гула², А. А. Чумак¹

¹Державна установа “Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України”, вул. Мельникова, 53, 04050, Київ, Україна,

²Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна Національної академії наук України, вул. Леонтовича, 9, 01601, Київ, Україна

КОМБІНОВАНИЙ ВПЛИВ N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІНУ ТА ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЕННЯ НА ГЕМАТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЩУРІВ

Мета дослідження – вивчити особливості змін гематологічних показників периферичної крові щурів в умовах комбінованого впливу N-стеароїлетаноламіну (NSE) (10,0 мг/кг) та іонізуючого випромінення (6,0 Гр) для виявлення радіомодифікуючих властивостей препарату.

Методи: гематологічні, статистичні.

Результати. За даних умов експерименту введення NSE опроміненним щурам призводило до збільшення ознак ураження кровотворної системи, що свідчить про його радіосенсибілізуючу дію.

Висновки. В умовах комбінованого впливу NSE та одноразового опромінення на основі якісних та кількісних змін гематологічних показників периферичної крові щурів встановлена радіосенсибілізуюча дія препарату. За даних умов експерименту встановлений вплив препарату NSE на швидкість відновних процесів (сповільнення) у периферичній крові щурів після опромінення.

Ключові слова: N-стеароїлетаноламін, іонізуюче випромінення, гематологічні показники, периферична кров.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2013. Вип. 18. С. 356–365.

N. K. Rodionova¹, N. P. Atamaniuk¹✉, L. P. Derev'yanko¹, V. V. Tal'ko¹, A. M. Yanina¹,
M. V. Shelkovskiy¹, G. V. Kosyakova², O. Ph. Mehed², N. M. Gula², A. A. Chumak¹

¹State Institution “National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Melnykov str., 53, Kyiv, 04050, Ukraine

²A. V. Palladin Institute of Biochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

Combined effect of N-stearoyilethanolamine and ionizing radiation on hematological indices of peripheral blood in rats

The study objective was to explore the peculiarities of peripheral blood values in rats under the combined influence of 10.0 mg/kg N-stearoylethanolamine (NSE) and 6.0 Gy dose of ionizing radiation to identify the radiomodifying properties of the drug.

Methods: hematological, statistical.

Results: it was found that NSE injection to irradiated rats leads to exacerbation of hematopoietic system disorders indicating to radiosensitizing effect of the substance.

Conclusions. The radiosensitizing effect of the drug was established according to qualitative and quantitative abnormalities in peripheral blood values of the rats. Effect of the NSE drug on the rate of recovery processes (i.e. retardation) in the peripheral blood of rats after irradiation was established under these experimental conditions.

Key words: N-stearoylethanolamine, ionizing radiation, hematological parameters, peripheral blood.

Problems of radiation medicine and radiobiology. 2013;18:356–365.

✉ Атаманюк Наталя Павлівна, e-mail: ataman_natali@mail.ru

© Родіонова Н. К., Атаманюк Н. П., Дерев'янку Л. П., Талько В. В., Яніна А. М., Шелковський М. В., Косякова Г. В., Мегедь О. Ф., Гула Н. М., Чумак А. А., 2013

Наукова розробка нових методів і засобів, спрямованих на збереження здоров'я населення, профілактику та лікування онкологічних та непухлинних тяжких захворювань в умовах погіршення стану довкілля є одним з пріоритетних завдань в галузі медицини і біології. В останні роки значна увага в цьому напрямку звернута до препаратів, діючою речовиною яких є канабіноїди – терпенфенольні сполуки, які містяться в рослинах родини конопляних (Cannabaceae). На особливу увагу заслуговують малополярні біологічно активні речовини – N-ацилетаноламіни (NAE), які мають канабіміметичні властивості і здатні впливати на біохімічні процеси, що лежать в основі патогенезу багатьох захворювань [1, 2]. Показано, що NAE з насиченими ланцюжками, зокрема, N-стеароїлетаноламін (NSE) може пригнічувати ріст пухлин, підвищувати активність ферментів антиоксидантної системи (зокрема, каталази) і гальмувати накопичення продуктів перекисного окислення ліпідів [3–6]. Встановлені радіозахисні властивості NSE в дозі 50,0 мг/кг маси тіла за умов застосування його перед опроміненням в дозі 2,0 Гр [7]. Ми вивчали в експерименті можливість застосування NSE в дозі 10,0 мг/кг як радіомодифікуючого засобу при опроміненні в дозі 6,0 Гр.

МЕТА

Мета дослідження – вивчити особливості змін гематологічних показників периферичної крові щурів в умовах комбінованого впливу NSE (10,0 мг/кг) та іонізуючого випромінювання (6,0 Гр) для виявлення радіомодифікуючих властивостей препарату.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експериментальні дослідження проведені на статево-зрілих білих лабораторних щурах-самцях масою 180–200 г. Тварин утримували у віварії на стандартному раціоні і доступі до води. Розподіл тварин (по 18 в кожній групі) здійснено у відповідності до умов експерименту: 1 – контроль – інтактні тварини; 2 – пероральне щоденне введення фізіологічного розчину; 3 – пероральне щоденне введення NSE; 4 – одноразове тотальне опромінення; 5 – пероральне щоденне введення NSE перед опроміненням; 6 – пероральне щоденне введення NSE після опромінення.

Тварин опромінювали одноразово тотально в дозі 6,0 Гр на апараті “Тератрон” (Канада), джерело опромінення – ^{60}Co , потужність поглинутої дози 1,02 Гр/хв. NSE вводили перорально через зонд в дозі 10,0 мг/кг маси тіла один раз на добу протягом 7 діб до або

Research and development of the new methods and tools on preservation of public health, both with prevention and treatment of cancer and other serious diseases under the environmental deterioration is an essential issue in medicine and biology. In recent years a considerable attention was given in this regard to the drug products of cannabinoids i.e. the terpenfenol compounds found in the hemp family plants (Cannabaceae). The low-polarity bioactive substances N-acylethanolamines (NAE) are of especial concern here as they have kanabimimetic properties and can influence on biochemical pathways underlying the pathogenesis of many diseases [1, 2]. The saturated-chain NAE i.e. N-stearoylethanolamine (NSE) was shown capable to inhibit the tumor growth, increase activity of antioxidant enzyme systems (i.e. catalase) and inhibit the accumulation of lipids peroxidation products [3–6]. Radioprotective properties of NSE were established at a dose of 50.0 mg/kg body weight when used before irradiation at a dose of 2.0 Gy. We studied experimentally the possibility of NSE administration in a dose of 10.0 mg/kg prior to irradiation in dose of 6.0 Gy [7].

STUDY OBJECTIVE

The objective of the study was to explore the peculiarities of peripheral blood values in rats under the combined influence of 10.0 mg/kg NSE and 6.0 Gy dose of ionizing radiation to identify the radiomodifying properties of the drug.

MATERIALS AND METHODS

Experimental studies were conducted on the mature white male laboratory rats 180–200 g body weight. Animals were managed in an animal facility on a standard diet with access to water. Animals were distributed (18 in each groups) according to the study design: 1st group – the Control i.e. intact animals, 2nd group – oral administration of saline daily, 3rd group – oral administration of NSE daily, 4th group – single total irradiation, 5th group – oral administration of NSE daily prior to irradiation, and 6th group received oral administration of NSE daily after irradiation.

Animals were irradiated once totally at a dose of 6.0 Gy at the “Teratron” device (Canada) with ^{60}Co radiation source. An absorbed dose rate was 1.02 Gy/min. NSE was administered orally through a tube at a dose of 10.0 mg/kg body weight once daily

після опромінення. Забір крові з хвостової вени здійснювали через 3, 7, 14 діб після опромінення. На 7 та 14-ту добу щурів виводили з дослідження шляхом гільйотинування. Вимірювали масу тимусу тварин. Підрахунок формених елементів периферичної крові проводили меланжерно-камерним способом. Лейкограми в мазках крові підраховували на 200 клітин. Проводили диференційний підрахунок лімфоцитів в залежності від їх величини. Виділено дві фракції лімфоцитів – великі та малі. Статистичну обробку даних проводили з використанням параметричного t-критерію Стюдента за допомогою пакету прикладних програм Statistica 5,0.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Гематологічний профіль тварин контрольної групи, які обстежувались в динаміці паралельно з дослідними щурами, відповідав фізіологічній нормі для даного виду тварин (табл. 1). Відмічалася лабільність вмісту лейкоцитів та їх окремих фракцій з відхиленнями у деяких тварин на 20–25 %. На 7-му добу число лейкоцитів і лімфоцитів дещо перевищувало вихідні дані, але в межах фізіоло-

for 7 days before or after irradiation. Blood sampling from the tail vein was performed 3, 7, and 14 days upon irradiation. Animals were taken from the study at days 7 and 14 by means of guillotining. Body weight of animals was measured at that. Peripheral blood cell count was performed with melange-chamber (color blending) method. Differential WBC count was applied in blood smears per 200 cells. Lymphocyte count was differential depending on the cell size i.e. in two lymphocyte fractions of small and large ones. Statistical data of was performed using the parametric Student's t-test via Statistica 5.0 software application.

RESULTS AND DISCUSSION

Hematological profile of the control group of animals examined along with the experimental rats just corresponded to normal physiological values for this type of animals (table 1). Labile count of the WBC and their individual fractions was observed, namely for 20–25% in some animals. On day 7 the number of leukocytes and lymphocytes was slightly higher than initial, however these deviations were within

Таблиця 1

Характеристика гематологічних показників у щурів контрольної групи, $M \pm m$

Table 1

Hematological indices in the control group of rats ($M \pm m$)

Показники / parameters	Термін дослідження / term of study			
	3 доби / 3 days (n=6) (вихідні дані, baseline data)	7 діб / 7 days (n=6)	14 діб / 14 days (n=6)	
Еритроцити / erythrocytes	$10^{12}/л (10^{12}/L)$	$6,14 \pm 0,42$	$6,25 \pm 0,27$	$6,95 \pm 0,32$
Тромбоцити / platelets	$10^9/л (10^9/L)$	$350,00 \pm 5,76$	$516,67 \pm 31,80$	$356,67 \pm 37,56$
Лейкоцити / leukocytes	$10^9/л (10^9/L)$	$21,2 \pm 1,8$	$25,93 \pm 6,2$	$16,13 \pm 0,97$
Нейтрофільні гранулоцити / neutrophilic granulocytes				
паличкоядерні / band forms	%	$2,33 \pm 0,67$	$2,67 \pm 0,88$	$1,67 \pm 0,33$
абс. кільк., $10^9/л / abs. count (10^9/L)$		$0,48 \pm 0,13$	$0,26 \pm 0,06$	$0,21 \pm 0,06$
сегментоядерні / segmented	%	$9,00 \pm 1,15$	$12,67 \pm 1,76$	$14,67 \pm 8,29$
абс. кільк., $10^9/л (10^9/L)$		$1,91 \pm 0,33$	$3,2 \pm 0,71$	$2,21 \pm 1,12$
Еозинофільні гранулоцити / eosinophilic granulocytes	%	$0,67 \pm 0,33$	$1,67 \pm 0,33$	$1,67 \pm 0,33$
абс. кільк., $10^9/л / abs. count (10^9/L)$		$0,14 \pm 0,07$	$0,45 \pm 0,16$	$0,26 \pm 0,05$
Моноцити / monocytes	%	$1,67 \pm 0,67$	$1,67 \pm 0,13$	$4,33 \pm 0,67$
абс. кільк., $10^9/л / abs. count (10^9/L)$		$0,36 \pm 0,15$	$0,45 \pm 0,08$	$0,69 \pm 0,09$
Лімфоцити / lymphocytes	%	$85,67 \pm 0,33$	$81,33 \pm 2,67$	$77,67 \pm 8,84$
абс. кільк., $10^9/л / abs. count (10^9/L)$		$18,7 \pm 1,61$	$21,31 \pm 3,54$	$12,87 \pm 2,19$
Лімфоцити великі / lymphocytes large	%	$18,67 \pm 0,88$	$24,67 \pm 5,84$	$22,67 \pm 6,44$
Лімфоцити малі / lymphocytes small	%	$67,33 \pm 0,88$	$56,67 \pm 7,62$	$55,00 \pm 12,43$
Імунобласти / immunoblasts	%	$0,33 \pm 0,33$	0	0
абс. кільк., $10^9/л / abs. count (10^9/L)$		$0,08 \pm 0,11$	0	0
ВГЛ / LGL	%	$0,67 \pm 0,67$	$0,67 \pm 0,33$	$1,00 \pm 1,00$
Лімфоцити атипові / atypical lymphocytes	%	$1,67 \pm 0,88$	$2,33 \pm 1,01$	$2,67 \pm 0,88$

Таблиця 2

Характеристика гематологічних показників у щурів після введення NSE в дозі 10,0 мг/кг, $M \pm m$

Table 2

Hematological indices in rats after the 10.0 mg/kg NSE injection ($M \pm m$)

Показники / parameters		Термін дослідження / term of study		
		3 доби / 3 days (n=6) (вихідні дані, baseline data)	7 діб / 7 days (n=6)	14 діб / 14 days (n=6)
Еритроцити / erythrocytes	$10^{12}/л (10^{12}/L)$	6,58±0,22	6,55±0,37	6,85±0,19
Тромбоцити / platelets	$10^9/л (10^9/L)$	193,33±46,67	336,67±136,91	206,67±43,33
Лейкоцити / leukocytes	$10^9/л (10^9/L)$	21,83±3,36	17,67±1,83	17,17±0,747
Нейтрофільні гранулоцити / neutrophilic granulocytes				
паличкоядерні / band forms	%	2,67±0,33	2,33±1,33	3,33±1,20
абс. кільк., $10^9/л / abs. count (10^9/L)$		0,60±0,45	0,44±0,28	0,57±0,20
сегментоядерні / segmented	%	11,00±2,5	16,00±7,00	10,00±3,05
абс. кільк., $10^9/л (10^9/L)$		2,27±0,26	2,33±0,67	1,67±0,48
Еозинофільні гранулоцити / eosinophilic granulocytes	%	0,67±0,33	2,60±1,20	1,67±0,67
абс. кільк., $10^9/л / abs. count (10^9/L)$		0,12±0,05	0,35±0,04	0,30±0,13
Моноцити / monocytes	%	1,00±0,01	1,67±0,6	0,83±0,33
абс. кільк., $10^9/л / abs. count (10^9/L)$		0,22±0,00	0,29±0,12	0,14±0,09
Лімфоцити / lymphocytes	%	85,00±2,08	76,33±5,92	83,67±2,33
абс. кільк., $10^9/л / abs. count (10^9/L)$		8,5±2,0	13,44±1,61	14,40±1,03
Лімфоцити великі / lymphocytes large	%	24,33±2,19	18,67±4,70	18,66±2,33
Лімфоцити малі / lymphocytes small	%	60,67±0,33	57,67±3,67	65,00±1,73
Імунобласти / immunoblasts	%	0,33±0,33	0,67±0,34	0,33±0,33
абс. кільк., $10^9/л / abs. count (10^9/L)$		0,09±0,09	0,12±0,06	0,06±0,06
ВГЛ / LGL	%	1,67±0,33	0	1,33±0,88
Лімфоцити атипів / atypical lymphocytes	%	4,00±0,58*	3,66±0,33	4,00±1,00

Примітки. * – $p < 0,05$ – різниця достовірна порівняно з даними тварин контрольної групи (табл. 1).
Note. * – $p < 0,05$ – significant difference vs. control group of animals (tabl. 1).

гічних коливань і не супроводжувалось патологічними зсувами лейкоцитарної формули. Атипів клітини в лейкограмах тварин контрольної групи не перевищували 1–2 %. Це були переважно лімфоїдні елементи: лімфоцити з лопатевими ядрами, гіпербазофільні лімфоцити, ворсинчасті лімфоцити. У крові інтактних тварин рідко зустрічались імуно- та плазмобласти. У інтактних щурів (вихідні дані) переважали малі лімфоцити, індекс великі/малі складав $0,27 \pm 0,05$. Для складу периферичної крові щурів характерною ознакою був незначний анізо-, пойкилоцитоз і поліхроматофілія еритроцитів, наявність невеликої кількості нормобластів (до 1 %).

Після введення NSE (табл. 2) суттєвих змін складу периферичної крові не спостерігали, але була збільшена кількість атипів лімфоцитів переважно з ознаками порушень процесів проліферації – двоядерні клітини з включенням ядерної речовини в цитоплазмі (мікроядрами), лімфоцити з лопатевими ядрами тощо ($4,00 \pm 0,58$ %). Практично в усіх

physiological fluctuations been not accompanied by leucogram abnormalities. It should be noted that there were no more than 1–2% atypical cells in leucogram of the control group animals. Those were mainly the lymphoid elements i.e. cells with blade nuclei, hiperbasophylic lymphocytes, villous lymphocytes. Immunoblasts and plasmoblasts were rarely seen in a blood of intact animals. Small lymphocytes were predominating in the intact rats with a large/small index value of 0.27 ± 0.05 . There were such characteristic features as minimal anizo-, poikilocytosis and polychromatophilia of erythrocytes both with a small amount (1%) of normoblasts in the peripheral blood of rats.

After NSE injection (table 2) no significant changes of the peripheral blood were observed, but there was an increased number of atypical lymphocytes (4.00 ± 0.58 %) featuring mainly the proliferation disorders, namely the binuclear cells with nucleolar substance inclusions in the cytoplasm (micronuclei) and lymphocytes with blade

тварин була збільшена кількість великих гранульованих лімфоцитів (ВГЛ), що опосередковано свідчить про вплив NSE на імунну систему. З літературних джерел відомо, що NSE призводить до порушення проліферації та підвищення рівня апоптозу, що, можливо, і є причиною виявлених нами змін [4, 6].

В експерименті були досліджені зміни гематологічних показників у тварин, яким замість NSE вводили фізіологічний розчин. Відмінностей гематологічних показників периферичної крові у них порівняно з інтактними тваринами не встановлено (дані не представлено).

При дослідженні показників периферичної крові у тварин після одноразового опромінення в дозі 6,0 Гр (табл. 3) зміни в системі крові були типовими для опромінення в сублетально-летальних дозах з розвитком гострої променевої хвороби. Через 3 доби відмічали достовірну тромбоцитопенію, лейкопенію та тенденцію до зниження вмісту еритроцитів у периферичній крові. За умов опромінення в даній дозі кількість лей-

nuclei, etc. Nearly all animals had an increased number of the large granular lymphocytes (LGL), which indirectly imply the NSE impact on immune system. It is known from the literature that NSE disrupts the cell proliferation and intensifies the apoptosis, which, perhaps, is the source of disorders that we have identified [4, 6].

Changes of hematological parameters were assayed in animals to whom the saline was injected instead of NSE. No differences in hematological parameters of peripheral blood were found between them and the intact animals (data not presented).

In the study of peripheral blood in animals after a single exposure at a dose of 6.0 Gy (table 3) the changes in a blood were typical to the effect of exposure at the sublethal-lethal doses resulting in an acute radiation sickness. Significant thrombocytopenia, leukopenia, and a trend of RBC count decrease were found in the peripheral blood 3 days later. White cell count

Таблиця 3

Характеристика гематологічних показників у щурів після опромінення в дозі 6,0 Гр, $M \pm m$

Table 3

Hematological indices in rats after the 6.0 Gy irradiation ($M \pm m$)

Показники / parameters		Термін дослідження / term of study		
		3 доби / 3 days (n=6) (вихідні дані, baseline data)	7 діб / 7 days (n=6)	14 діб / 14 days (n=6)
Еритроцити / erythrocytes	$10^{12}/л (10^{12}/L)$	5,24±0,27	4,87±0,18*	3,10±0,94*
Тромбоцити / platelets	$10^9/л (10^9/L)$	183,33±12,89*	75,00±17,56*	86,67±62,27*
Лейкоцити / leukocytes	$10^9/л (10^9/L)$	0,57±0,03*	0,98±0,14*	3,85±1,39*
Нейтрофільні гранулоцити / neutrophilic granulocytes				
паличкоядерні / band forms	%	2,00±0,58	4,67±1,20	1,33±0,67
абс. кільк., $10^9/л$ / abs. count ($10^9/L$)		0,01±0,001*	0,04±0,01*	0,15±0,08*
сегментоядерні / segmented	%	9,33±1,76	45,67±9,02*	19,00±3,00
абс. кільк., $10^9/л$ ($10^9/L$)		0,05±0,008*	0,43±0,05*	0,71±0,04*
Еозинофільні гранулоцити / eosinophilic granulocytes	%	0,67±0,33	0,67±0,67	0,67±0,31
абс. кільк., $10^9/л$ / abs. count ($10^9/L$)		0,004±0,002*	0,006±0,006*	0,03±0,01*
Моноцити / monocytes	%	4,00±1,15	2,33±0,88	1,33±0,33
абс. кільк., $10^9/л$ / abs. count ($10^9/L$)		0,022±0,005*	0,025±0,013*	0,058±0,031*
Лімфоцити / lymphocytes	%	83,67±2,03	48,00±0,39*	75,67±3,18
абс. кільк., $10^9/л$ / abs. count ($10^9/L$)		0,47±0,037*	0,47±0,17*	2,91±1,01*
Лімфоцити великі / lymphocytes large	%	30,00±8,00	26,33±0,11	23,00±3,61
Лімфоцити малі / lymphocytes small	%	53,67±8,41	18,33±2,40	52,67±5,61
Імунобласти / immunoblasts	%	2,00±1,15	1,67±1,67	1,67±0,88
ВГЛ / LGL	%	1,00±0,58	0	0
Лімфоцити атипові / atypical lymphocytes	%	3,33±0,01	5,33±2,03	1,67±1,67
Оксифільні нормобласти / oxyphilic normoblasts	%	0	2,67±0,34	1,67±0,69

Примітки. * – $p < 0,05$ – різниця достовірна порівняно з даними тварин контрольної групи (табл. 1).
Note. * – $p < 0.05$ – significant difference vs. control group of animals (tabl. 1).

Таблиця 4

Характеристика гематологічних показників у щурів після введення NSE в дозі 10,0 мг/кг протягом 7 діб і опромінених в дозі 6,0 Гр, $M \pm m$

Table 4

Hematological indices in rats after the 10.0 mg/kg NSE injection and 6.0 Gy irradiation ($M \pm m$)

Показники / parameters	Термін дослідження / term of study			
	3 доби / 3 days (n=6) (вихідні дані, baseline data)	7 діб / 7 days (n=6)	14 діб / 14 days (n=6)	
Еритроцити / erythrocytes	$10^{12}/л (10^{12}/L)$	5,73±0,27	4,85±0,19*	3,10±0,79*
Тромбоцити / platelets	$10^9/л (10^9/L)$	183,33±43,72*	223,33±59,25#	50,00±15,28*
Лейкоцити / leukocytes	$10^9/л (10^9/L)$	0,93±0,22*	0,87±0,12*	2,00±0,45*
Нейтрофільні гранулоцити / neutrophilic granulocytes				
метаміелоц. / metamyelocytes	%	0	0	0,33±0,33
абс. кільк., $10^9/л (10^9/L)$				0,006±0,006
паличкоядерні / band forms	%	0	6,33±1,45	2,33±0,88
абс. кільк., $10^9/л / abs. count (10^9/L)$			0,05±0,001*	0,06±0,03*
сегментоядерні / segmented	%	7,67±3,18	24,00±1,73	10,33±3,84
абс. кільк., $10^9/л (10^9/L)$		0,06±0,01*	0,21±0,003*,#	0,23±0,12*,#
Еозинофільні гранулоцити / eosinophilic granulocytes	%	0	0	1,33±0,88
абс. кільк., $10^9/л / abs. count (10^9/L)$				0,03±0,02
Моноцити / monocytes	%	2,00±1,00	2,33±0,88	2,00±1,00
абс. кільк., $10^9/л / abs. count (10^9/L)$		0,01±0,005*	0,02±0,005*	0,03±0,01*
Лімфоцити / lymphocytes	%	889,67±3,93	67,33±2,60	79,67±2,40
абс. кільк., $10^9/л / abs. count (10^9/L)$		0,85±0,22*	0,58±0,09*	1,57±0,09*
Лімфоцити великі / lymphocytes large	%	32,00±7,02	29,33±5,17	30,33±1,20
Лімфоцити малі / lymphocytes small	%	57,76±9,24	38,00±8,27	52,67±6,33
Імунобласти / immunoblasts	%	0,67±0,67	0	0,67±0,33
ВГЛ / LGL	%	0,67±0,33	0	0,67±0,34
Лімфоцити атипові / atypical lymphocytes	%	7,07±1,65	8,67±4,83	6,00±0,58
Оксифільні нормобласти / oxyphilic normoblasts	%	1,00±0,69	4,67±1,72	2,67±0,34

Примітки. * – $p < 0,05$ – різниця достовірна порівняно з даними тварин контрольної групи (див. табл. 1)

– $p < 0,05$ – різниця достовірна порівняно з даними опромінених тварин (див. табл. 3).

Note. * – $p < 0,05$ - significant difference compared with animals of control group (tabl.1)

– $p < 0,05$ – significant difference compared with the data of irradiated animals (tabl 3).

коцитів досягала критичного рівня і у всіх тварин була меншою $1,0 \cdot 10^9/л$. Це стосувалось як лімфоцитарної, так і гранулоцитарної ланок клітин периферичної крові. У тварин відмічено також незначний відносний моноцитоз, появу імунобластів та атипових лімфоцитів, які були представлені переважно формами клітинного розпаду: каріопікноз, каріорексис, вакуолізація цитоплазми, цитоліз та інші. В подальшому вміст еритроцитів та тромбоцитів прогресивно знижувався, і на 14-ту добу кількість еритроцитів була зниженою більше, ніж у два рази порівняно з показником у контролі. В крові зустрічались молоді бластні клітини еритроїдного ряду кровотворення.

В період розпалу променевої хвороби (7-а доба) на фоні вкрай низьких кількісних показників відмічено відносне збільшення вмісту нейтрофілів (у 1,7 раза

reached a critical level under this dose of irradiation being $1.0 \cdot 10^9/L$ in all animals. Such a pattern was observed for both lymphocytes and granulocytes. Somewhat relative monocytosis, appearance of immunoblasts and atypical lymphocytes mainly represented by the form of cell dissolution (karyopyknosis, karyorhexis, cytoplasmic vacuolization, cytolysis etc.) were also observed. Furthermore, the RBC and platelet count decreased progressively and on day 14 the RBC number was reduced more than twice vs. values in the control group. Young blast erythroid cells were also seen in a blood.

During the height of radiation sickness (7th day) a relatively increased number of neutrophilic granulocytes (1.7 times vs. control) with leukocyte for-

порівняно з контролем) зі зсувом лейкоцитарної формули вліво і появою в крові молодих гранулоцитарних елементів аж до метамієлоцитів. Серед лімфоцитів в даний термін дослідження переважали великі лімфоцити. Співвідношення великі/малі лімфоцити складало 1,44, у тварин контрольної групи – 0,43. Високою залишалась також кількість атипичних клітин.

На 14-ту добу спостерігали початок відновлювальних процесів у системі крові. Вміст лейкоцитів збільшився до $(3,85 \pm 1,39) \cdot 10^9/\text{л}$ порівняно з $(0,98 \pm 0,14) \cdot 10^9/\text{л}$ на 7-му добу. Але кількість еритроцитів та тромбоцитів ще залишалась на низькому рівні, що обумовлено специфікою кінетичних параметрів клітин даних рядів кровотворення.

У тварин, яких опромінювали після попереднього введення NSE (табл. 4), на 3-ю добу вміст еритроцитів та лейкоцитів був недостовірно вищий відносно показника у лише опромінених тварин. В період розпаду променевої хвороби (7-а доба) відмінною особливістю гематологічних показників у щурів даної групи був високий вміст тромбоцитів у периферичній крові: $223,33 \pm 59,25$ порівняно з показником $75,00 \pm 17,56$ групи лише опромінених тварин, та значно більший відсоток лімфоцитів у лейкограмі. Враховуючи виявлений вплив NSE на лімфоїдну ланку крові тварин, можна припустити, що і в даному випадку проявився механізм радіомодифікуючої дії препарату. Це підтверджується більшим збереженням маси тимусу в цій групі тварин $271,3 \pm 11,1$ мг відносно показника опромінених тварин $208,1 \pm 12,2$ мг і щурів, яким NSE вводили після опромінення $233,7 \pm 10,8$ мг, ($p < 0,05$). Як і у випадку окремої дії NSE на систему крові тварин, у щурів даної групи відмічалась значна кількість атипичних лімфоцитів, які є результатом порушень процесів мітотичного поділу клітин та процесів їх дозрівання. Відновлювальний період в цій групі тварин був тривалішим, порівнюючи з аналогічним періодом лише опромінених тварин: на 14-ту добу кількість клітин периферичної крові у них була меншою.

Введення NSE після опромінення (табл. 5) призвело до збільшення ранньої реакції кровотворної системи. У тварин відмічали відносний нейтрофільний гранулоцитоз з появою значної кількості паличкоядерних нейтрофілів значних розмірів з ніжною сітчастою структурою хроматину, що вказує на їх прискорений вихід із кісткового мозку в периферичну кров.

Ця реакція сприяла тому, що в подальші терміни дослідження зниження вмісту нейтрофільних лейкоцитів було більш вираженим, ніж за умов опромінен-

mula shift to left and the appearance of young granulocytic elements up to metamielocytes was registered in the blood on the background of extremely low quantitative indices. The large cells were prevalent among lymphocytes in this study period. The large/small lymphocytes ratio amounted to 1.44, while in the animals of the control group this figure was 0.43. Atypical cell number remained high.

Recovery processes in the blood system occurred on the 14th day of survey. The WBC count increased to $(3.85 \pm 1.39) \cdot 10^9/\text{L}$ compared to $(0.98 \pm 0.14) \cdot 10^9/\text{L}$ on the 7th day. However the RBC and platelets count remained at a low levels due to the specific kinetic parameters of cells of these hematopoietic lineages.

In animals irradiated after NSE administration (table 4) the content of erythrocytes and leukocytes on the 3rd day was slightly (not significantly) higher relatively to indices of exposed animals. At the height of radiation sickness (7th day) there was such a distinguishing feature of hematological parameters in rats as a high platelet count in peripheral blood i.e. 223.33 ± 59.25 compared to the 75.00 ± 17.56 in groups of only irradiated animals, and significantly higher percentage of lymphocytes in leucogram. Taking into consideration the found impact of NSE on lymphoid lineage of animal blood we can assume there is a radiomodifying pathway of drug effect in this case. It is confirmed by a greater preservation of thymus weight in this group of animals 271.3 ± 11.1 mg relatively to index of irradiated animals 208.1 ± 12.2 mg and relatively to rats to whom NSE was administered after the exposure 233.7 ± 10.8 mg ($p < 0.05$). As in case of a separate NSE effect on the blood system of animals in this group a significant number of atypical lymphocytes was observed being the result of abnormal mitotic cell division and maturation process. Recovery period in this group of animals was more slow vs. the same period of only irradiated animals: on the 14th day the peripheral blood cells quantity was lower.

NSE injection after irradiation (table 5) resulted in an amplified early hematopoietic response. Relative neutrophilic granulocytosis was noted in animals with considerable number of sizable band neutrophilic granulocytes with soft mesh structure of chromatin indicating their rapid release from the bone marrow to circulation.

This reaction predisposed to a more pronounced reduction of neutrophilic leukocyte number later on than in cases of exposure. That is

Таблиця 5

Характеристика гематологічних показників у щурів після опромінення в дозі 6,0 Гр і введення NSE в дозі 10,0 мг/кг протягом 7 діб, $M \pm m$

Table 5

Hematological indices in rats after 6.0 Gy irradiation and 10.0 mg/kg NSE administration ($M \pm m$)

Показники / parameters		Термін дослідження / term of study		
		3 доби / 3 days (n=6) (вихідні дані, baseline data)	7 діб / 7 days (n=6)	14 діб / 14 days (n=6)
Еритроцити / erythrocytes	$10^{12}/л$ ($10^{12}/L$)	5,64±0,14	4,69±0,55	3,02±0,23
Тромбоцити / platelets	$10^9/л$ ($10^9/L$)	255,00±101,00*	170,00±77,67*	60,00±25,17*
Лейкоцити / leukocytes	$10^9/л$ ($10^9/L$)	0,50±0,30*	0,70±0,18*	2,35±1,17*
Нейтрофільні гранулоцити / neutrophilic granulocytes				
паличкоядерні / band forms	%	8,45±1,53#	4,00±1,53	2,16±0,93
абс. кільк., $10^9/л$ / abs. count ($10^9/L$)		0,04±0,007*.#	0,024±0,006*	0,004±0,016*
сегментоядерні / segmented	%	19,93±1,32#	28,00±7,02	7,17±3,98
абс. кільк., $10^9/л$ ($10^9/L$)		0,28±0,024*.#	0,22±0,11*	0,12±0,52*.#
Еозинофільні гранулоцити / eosinophilic granulocytes	%	0	0	0
абс. кільк., $10^9/л$ / abs. count ($10^9/L$)				
Моноцити / monocytes	%	0	4,67±0,67	1,17±0,44
абс. кільк., $10^9/л$ / abs. count ($10^9/L$)			0,03±0,006*	0,01±0,002*
Лімфоцити / lymphocytes	%	64,87±1,06#	61,00±4,51*	87,33±5,36
абс. кільк., $10^9/л$ / abs. count ($10^9/L$)		0,28±0,24*.#	0,41±0,075*	2,11±1,07*
Лімфоцити великі / lymphocytes large	%	14,37±1,89	27,00±1,00	22,33±5,61
Лімфоцити малі / lymphocytes small	%	49,08±1,91	34,00±4,16	65,00±10,50
Імунобласти / immunoblasts	%	1,00±0,09	1,00±1,00	1,33±0,33
ВГЛ / LGL	%	0	0,67±0,67	0,33±0,33
Лімфоцити атипіві / atypical lymphocytes	%	12,67±4,53*	5,67±1,20	4,00±0,58
Оксифільні нормобласти / oxyphilic normoblasts	%	0	1,67±0,69	1,33±0,34

Примітки. * – $p < 0,05$ – різниця достовірна порівняно з даними тварин контрольної групи (див. табл. 1)# – $p < 0,05$ – різниця достовірна порівняно з даними опромінених тварин (див. табл. 3).Note. * – $p < 0,05$ – significant difference compared with animals of control group (tabl.1)# – $p < 0,05$ – significant difference compared with the data of irradiated animals (tabl 3).

ня. Тобто, введення NSE після опромінення сприяло подразненню кровотворення з наступним більш швидким виснаженням і сповільнення відновлювальних процесів [4, 6].

Таким чином, ми встановили, що комбінований вплив іонізуючого випромінювання в дозі 6,0 Гр і введення NSE в дозі 10,0 мг/кг в умовах експерименту призводив до збільшення ознак ураження кровотворної системи. З нашої точки зору, це ураження може пояснюватись двома механізмами, а саме: в умовах даного співвідношення величини факторів впливу (опромінення в великій дозі – 6,0 Гр – і введення NSE в незначній дозі – 10,0 мг/кг) радіозахисні властивості препарату не проявляються. Його недостатньо для компенсації порушення окисного гомеостазу, який при опроміненні виходить за межі контрольованого процесу. З іншого боку, враховуючи вплив обох факторів на регуляцію мітотичного поділу клітин

an injection of NSE after irradiation promoted the stimulation of hematopoiesis followed by more rapid exhaustion and delayed reparative processes [4, 6].

Thus, we have found that a combined effect of ionizing radiation at a dose of 6.0 Gy and NSE injection in a dose of 10.0 mg/kg under the experimental conditions resulted in exacerbated disorders of the hematopoietic system. From our point of view this abnormality can be explained by two pathways, namely the radioprotective properties of drug do not occur under such a ratio of impacts (exposure to a high dose of 6.0 Gy and NSE administration in a small dose of 10.0 mg/kg). The effect is not enough to compensate the disorders of oxidative homeostasis that under irradiation laps over the controlled process. On the other hand, taking into account the impact of both factors on the regulation

(затримка фаз мітозу), їх дія відбувається в одному напрямку, що призводить до збільшення ураження кровотворної системи, можливо, за рахунок зростання кількості апоптотичних клітин [8–10].

ВИСНОВКИ

1. В умовах комбінованого впливу NSE (10,0 мг/кг) та одноразового опромінення (6,0 Гр) на основі якісних та кількісних змін гематологічних показників периферичної крові щурів встановлена радіосенсибілізуюча дія препарату.
2. За даних умов експерименту встановлений вплив препарату NSE (10,0 мг/кг) на швидкість відновних процесів (сповільнення) в периферичній крові щурів після опромінення в дозі 6,0 Гр.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- 1 N-ацилетаноламіни – новий клас природних адренотропних модуляторів / О. Д. Жуков, М. В. Артамонов, В. М. Клімашевський [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2000. – Т. 72, № 2. – С. 24–27.
- 2 Effects of N-acylethanolamines and various antimetabolic agents on apoptotic DNA fragmentation in conventionally normal and tumor tissue of human adrenals / N. Kostyuchenko, V. Puchkarev, G. Kashevarov [et al.] // Exp. Oncol. – 2005. – Vol. 27, No. 3. – P. 215–219.
- 3 Вплив N-стеароїлетаноламіну на ліпідні компоненти мікросом печінки та серця за дії на щурів іонізуючого випромінювання / М. В. Артамонов, О. Д. Жуков, Т. М. Горідько [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2003. – Т. 75, № 4. – С. 81–90.
- 4 N-стеароїлетаноламін гальмує ріст та метастазування карциноми Льюїса та модулює ліпідний склад легеневої тканини у мишей за канцерогенезу / Н. М. Гула, Т. О. Хмель, В. М. Клімашевський [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2006. – Т. 78, № 1. – С. 135–142.
- 5 Хмель Т. О. Вплив N-стеароїлетаноламіну на ліпідний склад злоякісних та умовно нормальних клітин : автореф. дис. ...канд. біол. наук: 03.00.04 / Хмель Тетяна Олександрівна. – К., 2008. – 20 с.
- 6 N-стеароїлетаноламін інгібує проліферацію трансформованих клітин та модулює активність мітохондріальних ензимів у нормальних і трансформованих клітинах / Т. О. Хмель, Н. М. Гула, В. С. Асмолькова, Г. Й. Лавренчук // Укр. біохім. журн. – 2009. – Т. 81, № 3. – С. 108–116.
- 7 Ефекти N-стеароїлетаноламіну на систему антиоксидантного захисту в опромінених щурів / Т. М. Горідько, Є. А. Гудзь, А. А. Чумак [та ін.] // Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. – 2011. – Вип. 16. – С. 284–291.
- 8 Anandamide inhibits Chk2 and activates Chk1 leading to cell cycle arrest in human breast cancer cells / C. Laezza, S. Pisanti, E. Crescenzi, M. Bifulco // FEBS Lett. – 2006. – Vol. 580, no. 26. – P. 6076–6082.
- 9 Inhibition of skin tumor growth and angiogenesis in vivo by activation of cannabinoid receptors / M. L. Casanova, C. Blazquez, J. Martinez-Palacio [et al.] // J. Clin. Invest. – 2003. – Vol. 111, no. 1. – P. 43–50.

of mitotic cell division (mitotic phases delay) their action appears in one direction leading to exacerbated damage of hematopoietic system possibly due to an increase of the apoptotic cell number [8–10].

CONCLUSIONS

1. The radiosensitizing effect of the drug was established according to qualitative and quantitative abnormalities in peripheral blood values of the rats under the combined effect of NSE (10.0 mg/kg) and a single dose irradiation (6.0 Gy).
2. Effect of the NSE drug (10.0 mg/kg) on the rate of recovery processes (i.e. retardation) in the peripheral blood of rats after irradiation at a dose of 6.0 Gy was established under these experimental conditions.

REFERENCES

1. Zhukov OD, Artamonov MV, Klimashevs'kyi VM, Hosiieva NM, Marhitych VM, Hula NM. [N-acylethanolamine – a new class of natural adrenotropic modulators]. Ukr Biokhim Zh. 2000 Mar–Apr; 72(2):24–7. Ukrainian.
2. Kostyuchenko N, Pushkarev V, Kashevarov G, Tronko M, Komisarenko I, Mikosha O. Effects of N-acylethanolamines and various antimetabolic agents on apoptotic DNA fragmentation in conventionally normal and tumor tissue of human adrenals. Exp Oncol. 2005;27(3):215–9.
3. Artamonov MV, Zhukov OD, Horid'ko TM, Klimashevs'kyi VM, Martseniuk OP, Hula NM. [Effect of N-stearoylethanolamine and ionizing radiation on lipid components of the liver and heart microsomes in rats]. Ukr Biokhim Zh. 2003 Jul–Aug;75(4):81–90. Ukrainian.
4. Gula NM, Khmel TO, Klimashevsky VM, Kulik GI, Todor I.M. [N-stearoylethanolamine inhibits growth and metastasis of the lewis carcinoma and modulates lipid composition of the lung under tumorigenesis in mice]. Ukr Biokhim Zh. 2006;78(1):135–42. Ukrainian.
5. Khmel T. [Effect of N-stearoylethanolamine on the lipid composition of malignant and normal cells conditionally] [The dissertation abstract of candidate of biological science]. Kyiv: Palladin Institute Of Biochemistry Of The National Academy Of Sciences Of Ukraine; 2008. 20 p. Ukrainian.
6. Khmel' TO, Hula NM, Asmol'kova VS, Lavrenchuk HI. [N-stearoylethanolamine inhibits the proliferation of transformed cells and modulates mitochondrial enzyme activity in normal and transformed cells]. Ukr Biokhim Zh. 2009 May–Jun;81(3):108–16. Ukrainian.
7. Goridko TM, Gudzy EA, Chumak AA, Khmel TO, Berdyshev AG, Tal'ko W, Shelkovskii MV, Gula NM. [N-stearoylethanolamine effects in the antioxidant protection of irradiated rats]. Problemy radiatsiinoi medytsyny ta radiobiologii. 2011;(16):284–91. Ukrainian.

10 Anandamide induces apoptosis in human cells via vanilloid receptors. Evidence for a protective role of cannabinoid receptors / M. Maccarrone, T. Lorenzon, M. Bari [et al.] // J. Biol. Chem. – 2000 – Vol. 275, no. 41. – P. 31938–31945.

8. Laezza C, Pisanti S, Crescenzi E, Bifulco M. Anandamide inhibits Chk2 and activates Chk1 leading to cell cycle arrest in human breast cancer cells. FEBS Lett. 2006;580(26):6076–82.

9. Casanova ML, Blazquez C, Martinez-Palacio J, Villanueva C, Fernandez-Acenero MJ, Huffman JW, et al. Inhibition of skin tumor growth and angiogenesis in vivo by activation of cannabinoid receptors. J Clin Invest. 2003;111(1):43–50.

10. Maccarrone M, Lorenzon T, Bari M, Melino G, Finazzi-Agro A. Anandamide induces apoptosis in human cells via vanilloid receptors. Evidence for a protective role of cannabinoid receptors. J Biol Chem. 2000;275(41):31938–45.

Стаття надійшла до редакції 22.08.2013

Received: 22.08.2013