

УДК 615.27+612.014.48:616.155:559.23

Н. К. Родіонова¹✉, Н. П. Атаманиук¹, Л. П. Дерев'янку¹, В. В. Талько¹, А. М. Яніна¹,
М. В. Шелковський¹, Г. В. Косякова², О. Ф. Мегедь², А. Г. Бердишев², Н. М. Гула²,
А. А. Чумак¹

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

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

ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН ГЕМАТОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЩУРІВ ПРИ ВВЕДЕННІ N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІНУ ЗА УМОВ КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ ОПРОМІНЕННЯ ТА СТРЕСУ

Мета – вивчити особливості змін гематологічних показників периферичної крові щурів за умов введення N-стеароїлетаноламіну (NSE) до та після комбінованої дії іонізуючого випромінювання та емоційно-больового стресу.

Методи: гематологічні, статистичні.

Результати. На основі кількісних і якісних змін гематологічних показників периферичної крові встановлено, що введення щурам NSE (10,0 мг/кг) до та після комбінованого впливу одноразового тотального опромінення (6,0 Гр) і емоційно-больового стресу (фут-шок) призводить до зниження кількості циркулюючих клітин периферичної крові, збільшення ознак ураження кровотворної системи з прискоренням процесів виснаження.

Висновок. Введення щурам NSE (10,0 мг/кг) в умовах комбінованого впливу іонізуючого випромінювання (6,0 Гр) і емоційно-больового стресу сповільнює перебіг відновних процесів і прискорює процеси виснаження у кровотворній системі, що свідчить про радіосенсибілізуючу дію препарату.

Ключові слова: щури-самці, N-стеароїлетаноламін, іонізуюче випромінювання, стрес, гематологічні показники, периферична кров.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2014. Вип. 19. С. 441–449.

N. K. Rodionova¹✉, N. P. Atamaniuk¹, L. P. Derevyanko¹, V. V. Tal'ko¹, A. M. Yanina¹,
M. V. Shelkovskiy¹, G. V. Kosyakova², O. Ph. Mehed², A. G. Berdyshev², 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, Leontovych str, 9, Kyiv, 01601, Ukraine

Peculiarity of changes of peripheral blood hematological indices in rats under N-stearoylethanolamine administration conditioned by combined effects of ionizing radiation and stress

Objective – to investigate the peculiarities of peripheral blood indices changes in rats under the N-steroyil-ethanolamine treatment before and after combined effects of ionizing radiation and stress.

Methods: hematological, statistical.

Results: Per oral administration of NSE (10,0 mg / kg) before and after the combined effects of single whole-body irradiation (6.0 Gy) and emotionally-algesic stress (foot-shock) leads to reduction in the number of circulating peripheral blood cells, increasing signs of damage of the hematopoietic system with accelerated exhaustion processes.

✉ Родіонова Наталя Костянтинівна, e-mail: nsakhalin@i.ua

Conclusions. NSE administration (10,0 mg / kg) in rats under the combined influence of ionizing radiation (6 Gy) and emotionally-algesic stress slows down the course of regenerative processes and accelerates the depletion of the hematopoietic system, proving for its radiosensitizing effects.

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

Problems of radiation medicine and radiobiology. 2014;19:441-449.

ВСТУП

Після відкриття ендоканабіноїдної системи спеціалістами інтенсивно вивчається вплив канабімімітичних препаратів на організм. Особлива увага звертається на дослідження біологічно активних речовин N-ацилетаноламінів (NAE), які мають канабімімітичні властивості і здатні впливати на біохімічні процеси, що лежать в основі патогенезу багатьох захворювань [1–2]. NAE з насиченими ланцюжками, зокрема, N-стеароїлетаноламін (NSE), рекомендований для застосування як лікарський засіб, що має протипухлинні властивості [3]. Встановлені радіозахисні властивості NSE в дозі 50,0 мг/кг маси тіла за умов застосування його перед опроміненням в дозі 2,0 Гр [4], визначені радіомодифікуючі властивості NSE в дозі 10,0 мг/кг маси тіла за умов застосування його перед і після опромінення в дозі 6,0 Гр [5]. Враховуючи різнобічну дію препарату NSE, доцільним уявляється виявлення його радіомодифікуючих властивостей та можливості застосування за умов комбінованої дії чинників стресу радіаційної та нерадіаційної природи.

МЕТА

Мета дослідження – вивчити особливості змін гематологічних показників периферичної крові щурів за умов введення N-стеароїлетаноламіну до та після комбінованої дії іонізуючого випромінювання та емоційно-больового стресу.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експериментальні дослідження проведені на 66 статевозрілих білих лабораторних щурах-самцях масою 180–200 г. Тварин утримували у віварії на стандартному раціоні і доступі до води. Експеримент здійснено у відповідності до конвенції Ради Європи щодо захисту хребетних тварин, яких використовують у наукових цілях. (прийнятої у Страсбурзі, 1986).

Розподіл тварин по групах здійснено у відповідності до умов експерименту (табл. 1).

NSE вводили перорально через зонд в дозі 10,0 мг/кг маси тіла одноразово щоденно впродовж 7 діб за різних умов його застосування (до та після опромінення).

INTRODUCTION

After the opening of endocannabinoid system specialists are intensively studying influence of cannabinimimetic preparations on an organism. The special attention is paid to studies of biologically active substances N-acylethanolamines (NAE) as they have cannabinimimetic properties and are able to influence on biochemical pathways underlying the pathogenesis of many diseases [1–2]. The saturated-chain NAE i.e. N-stearoylethanol amine (NSE) is recommended for use as a drug with antineoplastic properties [3]. Radioprotective properties of NSE were established at the dose of 50.0 mg/kg body weight when used before irradiation at a dose of 2.0 Gy [4]. Radiomodifying properties of NSE administration in a dose of 10.0 mg/kg prior to irradiation in a dose of 6.0 Gy were studied experimentally [5]. Taking into consideration the wide range of NSE effects it seems appropriate to study and identify its radiomodifying properties and consider possible application under the combined impact of stress factors both radiation and nonradiation nature.

OBJECTIVE

The objective of the study was to explore the peculiarities of hematological indices of peripheral blood changes under the N-stearoylethanolamine administration in rats conditioned by combined effects of ionizing radiation and emotionally-algesic stress.

MATERIAL AND METHODS

Experiments were conducted on 66 mature white male laboratory rats weighing 180–200 g. Animals were kept in vivarium on a standard diet with access to water ad lib. Experiments were undertaken with accordance to Convention of European Council about protection of vertebral animals used for research purposes (adopted in Strasbourg, 1986).

Animals were divided per groups in accordance with the design of experiment (Table 1).

NSE was administered orally through an enteral feeding tube at a dose of 10.0 mg/kg of body weight once daily for 7 days before and after the conditioning.

Таблиця 1
Дизайн експерименту (розподіл щурів по групах дослідження)
Table 1
Design of experiment (rats distribution by groups)

Група, №* Group, No*	Впливи / actions		
	Опромінення, 6,0 Гр Irradiation, 6.0 Gy	Стрес Stress	NSE 10 мг/кг NSE 10 mg/kg
Біологічний контроль Biological control	–	–	–
NSE контроль NSE control	–	–	7 діб 7 days
1	+	–	–
2	+	–	7 діб до опромінення 7 days before irradiation
3	+	–	7 діб після опромінення 7 days after irradiation
4	–	+	–
5	–	+	7 діб до стресу 7 days stress
6	–	+	7 діб після стресу 7 days after stress
7	+	+	–
8	+	+	7 діб до опромінення і стресу 7 days before irradiation and stress
9	+	+	7 діб після опромінення і стресу 7 days after irradiation and stress

Примітка. * – в кожній групі n = 6.
 Note. * – In each group n = 6.

Щурів опромінювали одноразово тотально в дозі 6,0 Гр на радіотерапевтичному апараті “Тератрон” (Канада), (джерело – ^{60}Co , потужність дози опромінення $4,39 \times 10^{-4}$ Кл/(кг · с), поле опромінення 20×20 см).

Використовували модель емоційно-больового стресу із застосуванням подразнення електричним струмом (фут-шок). В спеціально сконструйованих камерах тварини зазнавали впливу електростимуляції кінцівок упродовж заданого програмою часу (в даному експерименті 20 хв). Було використано скануючий стабілізований постійний електричний струм, який подавався на підлогу та стінки камери з амплітудою 0,8 мА та сканування 8 суміжних електродів тривалістю в 75 мс. Сила струму в усіх дослідах була постійною. Параметри подразнення електричним струмом, зокрема силу струму, визначали з даних літератури та власних досліджень [6]. Опромінення і стрес виконували в межах однієї доби (доба 0). Контролем для всіх груп тварин слугували інтактні щури відповідної статі, віку і маси.

Забір крові з хвостової вени здійснювали через 3, 7, 14 діб після доби 0. Підрахунок формених елементів пе-

Rats were exposed to 6.0 Gy of whole-body gamma-irradiation at the radiotherapy unit “Teratron” (Canada), (^{60}Co source, 4.39×10^{-4} C/kg-sec dose rate, 20×20 cm irradiation field).

The emotionally-algesic stress model was applied through the electric shock irritation (foot-shock). Animals were exposed to electrical stimulation of extremities in the specially designed chambers over the time specified by a software (20 min in this experiment) A scanning stabilized direct current supplied to the floor and walls of chamber with an amplitude of 0.8 mA and scanning of the 8 adjacent electrodes lasting 75 msec were used. The strength of current in all experiments was constant. Parameters of electric irritation and the strength of current in particular were defined from the literature data and author’s research [6]. Irradiation and stress were performed within one day (zero day). Intact rats of respective sex, age, and weight were used as a control for all groups of animals.

Blood sampling from the tail vein was performed 3, 7, and 14 days upon zero day. Peripheral blood

риферичної крові проводили меланжерно-камерним способом. Лейкограми в мазках крові підраховували на 200 клітин. Проводили диференційний підрахунок лімфоцитів в залежності від їх величини. Здійснювали підрахунок патологічних, атипових клітин.

Статистичну обробку даних проводили з використанням параметричного t-критерію Стьюдента за допомогою пакету прикладних програм Statistica 5,0.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Гематологічний профіль тварин контрольної групи, яких обстежували в динаміці паралельно з дослідними щурами, відповідав фізіологічній нормі. Після введення NSE суттєвих змін складу периферичної крові не спостерігали, але на 3-ю добу дослідження

cell count was performed with melange-chamber (color blending) method. Differential WBC count was performed in blood smears per 200 cells. Lymphocytes were differentiated depending on the cell size, pathological and atypical cells.

Statistical data was performed using the parametric Student's t-test with Statistica 5.0 software application.

RESULTS AND DISCUSSION

Hematological profile of the control group of animals examined along with experimental rats corresponded to normal physiological values for this type of animals. No significant changes of the peripheral blood were observed after NSE administration. At

Таблиця 2

Кількість атипових лімфоцитів в периферичній крові щурів за умов введення N-стеароїлетаноламіну до та після комбінованої дії іонізуючого випромінювання і стресу, $M \pm m$

Table 2

Atypical lymphocytes content in peripheral blood of rats under N-stearoylethanolamine administration before and after combined effects of ionizing radiation and stress, $M \pm m$

Умови експерименту, групи Experimental conditions, groups	Вміст атипових лімфоцитів по термінах дослідження, % Atypical lymphocytes content by experimental time-frame, %		
	3 доби / days	7 діб / days	14 діб / days
Біологічний контроль Biological control	1,67 ± 0,88	2,33 ± 1,01	2,67 ± 0,88
Контроль NSE NSE control	4,00 ± 0,58*	3,66 ± 0,33	4,00 ± 1,00
Одноразове тотальне опромінення (1) ^{&} A single whole-body irradiation (1)	3,33 ± 0,01	5,33 ± 2,03	1,67 ± 1,67
Введення NSE перед опроміненням (2) NSE administration before irradiation (2)	7,07 ± 1,65	8,67 ± 4,83	6,00 ± 0,58
Введення NSE після опромінення (3) NSE administration after irradiation (3)	12,67 ± 4,53*	5,67 ± 1,20	4,00 ± 0,58
Тварини, які були піддані стресу (4) Stress exposed animals (4)	2,64 ± 0,67	1,33 ± 0,67	4,00 ± 1,53
Введення NSE перед стресом (5) NSE administration before stress (5)	3,46 ± 0,60	3,35 ± 0,69	3,00 ± 1,03
Введення NSE після стресу (6) NSE administration after stress (6)	1,42 ± 0,55	1,88 ± 0,60	4,10 ± 1,24
Тварини, які були піддані опроміненню і стресу (7) Animals exposed to irradiation and stress (7)	3,33 ± 0,01	4,67 ± 2,02	1,67 ± 1,67
Введення NSE перед опромінення і стресом (8) NSE administration before irradiation and stress(8)	10,43 ± 1,23**	5,6 ± 2,33	9,33 ± 1,20**
Введення NSE після опромінення і стресу (9) NSE administration after irradiation and stress (9)	8,00 ± 1,07**	8,67 ± 2,91*	3,0 ± 2,04

Примітка. * – статистично достовірні розбіжності з контролем ($p < 0,05$);

** – статистично достовірні розбіжності з показниками опромінених тварин ($p < 0,05$);

& – номер групи згідно з табл. 1.

Note. * – statistically reliable differences with the control ($p < 0,05$);

** – statistically reliable divergences with the indexes of the radiation-exposed animals $p < 0,05$);

& – group No according to table 1.

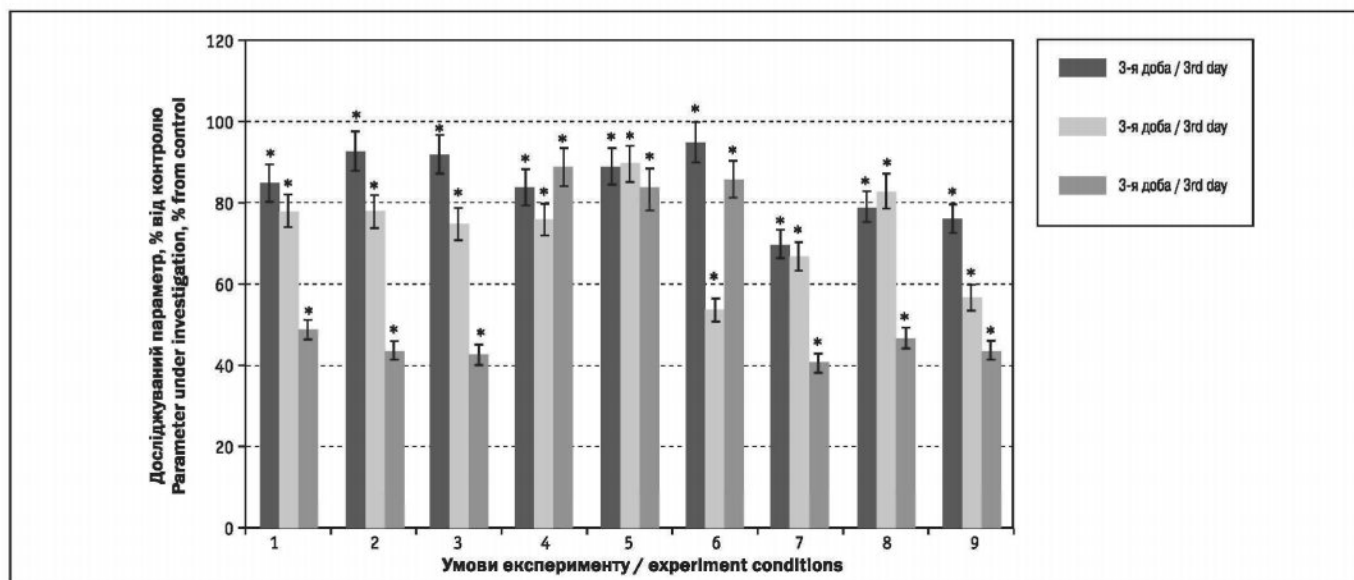


Рисунок 1. Вміст еритроцитів в периферичній крові щурів за умов введення N-стеароїлетаноламіну до та після комбінованої дії іонізуючого випромінювання і стресу.

Умови експерименту (групи): 1 – опромінення (6,0 Гр); 2 – введення NSE до опромінення; 3 – введення NSE після опромінення; 4 – стрес; 5 – введення NSE до стресу; 6 – введення NSE після стресу; 7 – опромінення + стрес; 8 – введення NSE до опромінення і стресу; 9 – введення NSE після опромінення і стресу.

* – статистично достовірні розбіжності з контролем ($p < 0,05$).

Figure 1. Erythrocytes (RBC) content in peripheral blood of rats under N-stearoylethanolamine before and after combined effects of ionizing radiation and stress.

Experimental conditions (groups): 1 – irradiation (6.0 Gy); 2 – NSE oral introduction before irradiation; 3 – NSE introduction after irradiation; 4 – stress; 5 – NSE introduction before stress; 6 – NSE introduction after stress; 7 – irradiation + stress; 8 – NSE introduction before irradiation + stress; 9 – NSE introduction after irradiation + stress.

* – significant differences from control ($p < 0.05$).

визначали вірогідне збільшення кількості атипичних лімфоцитів порівняно з показником в контролі ($4,00 \pm 0,58$ проти $1,67 \pm 0,88$; $p < 0,05$) (табл. 2), переважно з ознаками порушень процесів проліферації: двоядерні, клітини з мікроядрами, лімфоцити з лопатевими ядрами та ін. Практично в усіх тварин була збільшена кількість великих гранульованих лімфоцитів (ВГЛ). 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 [5].

Одноразове тотальне опромінення щурів в дозі 6,0 Гр викликало типові для сублетально-летальних доз з розвитком гострої променевої хвороби зміни в усіх ланках клітин периферичної крові. Через 3 доби відмічали тенденцію до зниження вмісту еритроцитів (рис. 1), достовірну тромбоцитопенію (рис. 2), лейкопенію (рис. 3). В період розпалу променевої хвороби (7-а доба) на тлі низьких кількісних показників відмічено відносне збільшення вмісту нейтрофілів зі зсувом лейкоцитарної формули ліворуч і появою в крові молодих гранулоцитарних еле-

the day 3 there was an increased number of atypical lymphocytes vs. the rate in the group of biological control (4.00 ± 0.58 vs 1.67 ± 0.88 ; $p < 0.05$) (Table 2), featuring mainly the proliferation disorders, namely binuclear cells, cells with nucleolar substance inclusions in the cytoplasm (micronuclei) and lymphocytes with blade-shaped nuclei, etc. Nearly all animals had an increased number of the large granular lymphocytes. 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 [5].

A single total irradiation of rats at a dose of 6,0 Gy caused the typical for sublethal-lethal doses changes resulting in an acute radiation sickness at all levels of peripheral blood cells. Trend of RBC count decrease (Fig. 1), significant thrombocytopenia (Fig. 2), leucopenia (Fig. 3) were found in the peripheral blood 3 days later. During the height of radiation sickness (7th day) a relatively increased number of neutrophilic granulocytes with leukocyte formula shift to left and the appearance of young granulocytic elements up to metamyelo-

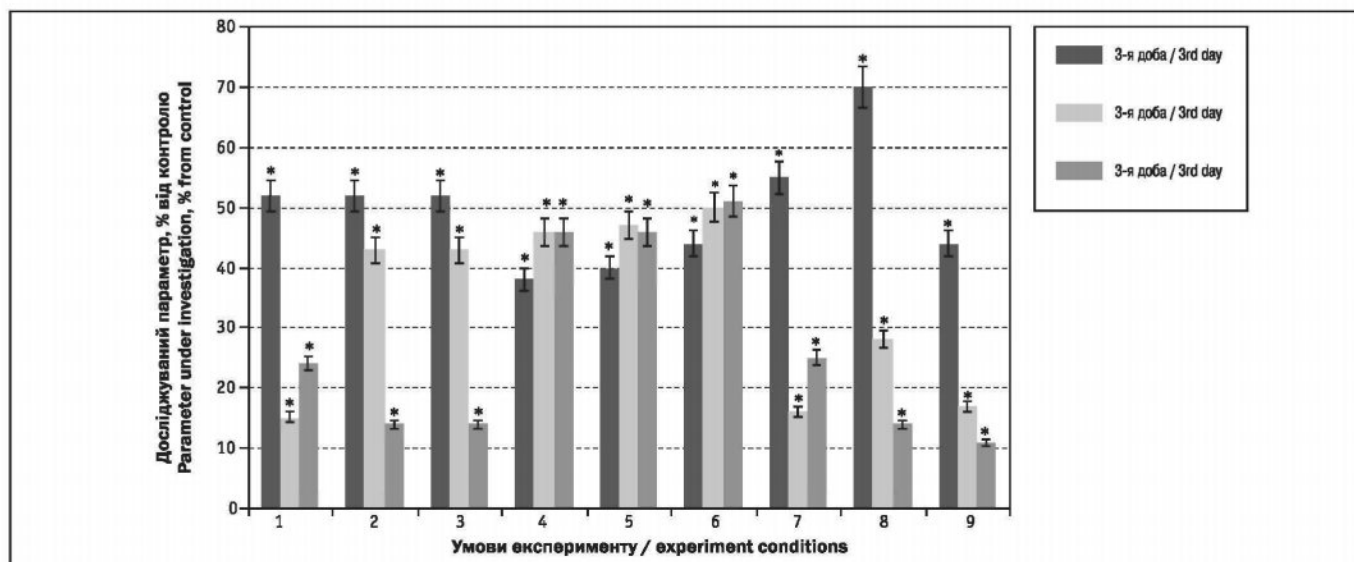


Рисунок 2. Вміст тромбоцитів в периферичній крові щурів за умов введення N-стеароїлетаноламіну до та після комбінованої дії іонізуючого випромінювання і стресу.

Примітки. Див. рис. 1.

Figure 2. Platelets content of peripheral blood of rats under N-stearoylethanolamine introduction before and after combined effects of ionizing radiation and stress.

Notes. See Fig. 1

ментів аж до метамієлоцитів. На 14-ту добу спостерігали початок відновлювальних процесів в системі крові.

У тварин, яких опромінювали після попереднього введення NSE, на 3-ю добу вміст еритроцитів (рис. 1) та лейкоцитів (рис. 3) 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 порівняно з показником групи лише опромінених тварин (рис. 3) та значно більший відсоток лімфоцитів у лейкограмі. Враховуючи виявлений вплив NSE на лімфоїдну ланку крові тварин, можна припустити, що в даному випадку проявився механізм радіомодифікуючої дії препарату. 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 (табл. 2). Відновлювальний період в цій групі тварин був тривалішим, порівнюючи з аналогічним періодом лише опромінених тварин: на 14-ту добу кількість клітин та тромбоцитів периферичної крові у них була меншою (рис. 1–3).

Введення NSE після опромінення призводило до підвищення вмісту тромбоцитів (рис. 2) та відсотку лімфоцитів в периферичній крові у порівнянні з відповідним показником опромінених тварин (в період розпаду променевої хвороби, 7-а доба). Вве-

cytes was registered in the blood against the background of extremely low quantitative indices. Initial recovery processes in the blood system.

In animals irradiated after NSE administration the content of RBC (Fig. 1) and WBC (Fig. 3) at 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 compared to the group of only irradiated animals (Fig. 3), and significantly higher percentage of lymphocytes in leucogram. Taking into consideration the found impact of NSE on lymphoid lineage of animal blood it can be assumed that in this case there was a radio-modifying pathway of drug effects. As in case of a separate NSE effects 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 (Table 2). Recovery period in this group of animals was more slow vs. the same period of only irradiated animals: on the 14th day the quantity of nucleated cells and platelets in peripheral blood was lower (Fig. 1–3).

NSE introduction after irradiation resulted in an increase in platelet count (Fig. 2) and the percentage of lymphocytes in the peripheral blood compared with the corresponding figure of exposed animals (during the height of radiation sickness,

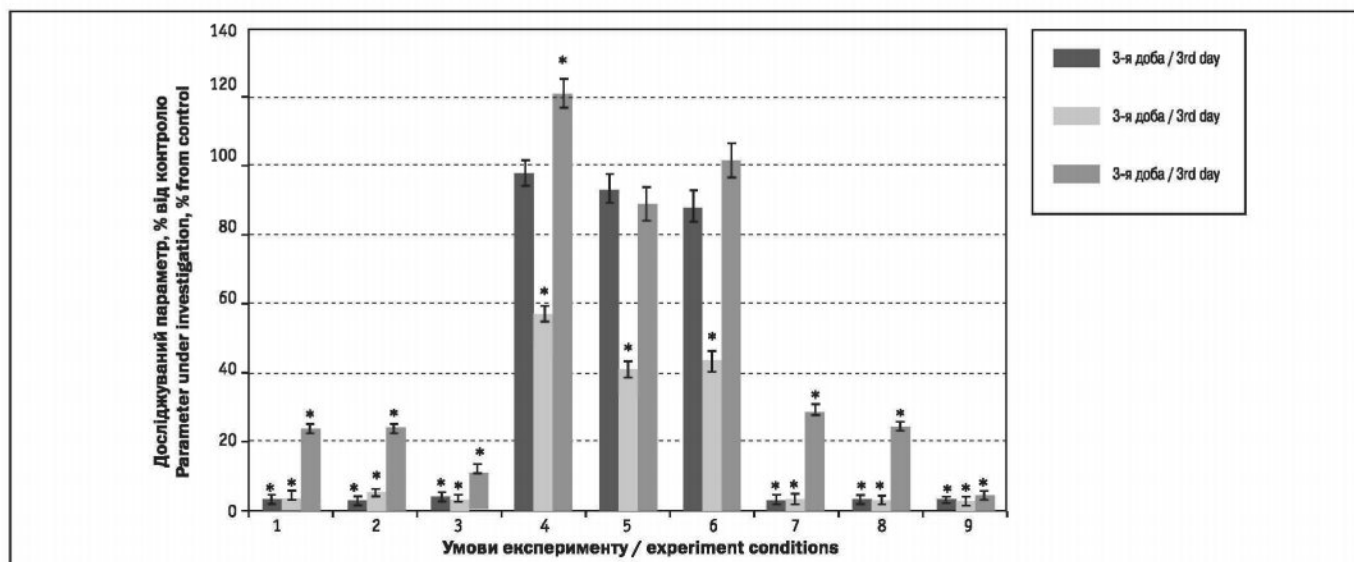


Рисунок 2. Вміст лейкоцитів в периферичній крові щурів за умов введення N-стеароїлетаноламіну до та після комбінованої дії іонізуючого випромінювання і стресу.

Примітки. Див. рис. 1.

Figure 2. Leukocytes (WBC) content in peripheral blood of rats under N-stearoylethanolamine introduction before and after combined effects of ionizing radiation and stress.

Notes. See Fig. 1

дення NSE після опромінення призводило 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 опромінення. Тобто, введення NSE після опромінення сприяло стимуляції кровотворення з наступним більш швидким виснаженням і зниженням відновлювальних процесів [5].

Емоційно-больовий стрес призводив до суттєвих змін в клітинних ланках периферичної крові. На 3-ю добу після стресу у тварин відмічали тенденцію до зниження вмісту еритроцитів в периферичній крові (рис. 1), достовірну тромбоцитопенію (рис. 2) та збільшення вмісту нейтрофілів (рис. 3), – реакція клітин паростків кровотворення, проліферація та диференціювання яких відбувається у кістковому мозку. З боку лімфоцитарної ланки в даний термін відмічено збільшення вмісту імунобластів та великих гранульованих лімфоцитів, тобто реактивні зміни захисного характеру. На 7-му добу після стресу визначалося прогресування змін: кількість еритроцитів була зниженою на 24 %, а лейкоцитів на 54 % у порівнянні з контролем.

При збереженні відсотку лімфоцитів навіть на дещо вищому рівні відносно контролю, їх абсолютна

the 7th day). Injection of NSE after irradiation led to an increase in early reaction of the blood system. Relative neutrophilic granulocytosis was noted in animals with considerable number of sizeable band neutrophilic granulocytes with soft reticulate 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 only exposure. That is an injection of NSE after irradiation promoted the stimulation of hematopoiesis followed by more rapid exhaustion and delayed reparative processes [5].

Emotionally-algesic stress resulted in significant changes in cellular population of peripheral blood. On the third day after stress a downward RBC count in the peripheral blood (Fig. 1), thrombocytopenia (Fig. 2) were noted and an increase in the content of neutrophils (Fig. 3) as a response of hemopoietic germ cell, which proliferation and differentiation occurs in the bone marrow. At this term marked increase in the content of immunoblasts and large granular lymphocytes i.e. reactive changes of protective nature were seen in the lymphocytic link. Seventh day after stress was determined by the progression of changes: the number of RBC was reduced by 24 %, and WBC by 54 % compared with control.

Though the percentage of lymphocytes was even at a slightly higher level than in control, their

кількість також була зниженою на 40 % порівняно з контролем. Ймовірно, стресорний вплив порушує баланс між стимуляторами та інгібіторами гемопоезу, за умов дії даного стресового чинника відбувалися зміни на рівні ранніх клітин-попередників з пригніченням їх проліферативної активності та наступним зниженням в периферичній крові вмісту еритроцитів, тромбоцитів, нейтрофілів та лімфоцитів. Ці зміни не були тривалими, і у подальший термін (на 14-ту добу) визначалося повне відновлення.

Введення NSE незалежно від послідовності застосування емоційно-больового стресу сприяло прискоренню відновлюваних процесів еритроїдної ланки кровотворення (рис. 1), практично не позначалося на змінах тромбоцитарної ланки (рис.2). Попереднє введення NSE призводило до більш вираженого ушкодження та тривалішого відновлення кількості лейкоцитів в периферичній крові (рис. 3).

Комбінований вплив опромінення і стресу призводив до суттєвих змін у клітинному складі периферичної крові. У цілому спрямованість (пригнічення) та виразність порушень кількісного складу і якісні характеристики клітин периферичної крові були подібні до змін після опромінення, тобто були типовими для розвитку гострої променевої хвороби. Відмінність полягала у більш ранньому (на 3-ю добу) і тривалішому зниженню кількості еритроцитів за умов комбінованого впливу опромінення і стресу у порівнянні лише з опроміненням (рис. 1).

За умов введення NSE перед опроміненням і стресом кількісні зміни клітинного складу периферичної крові були аналогічні показникам тільки опромінених тварин. Відмінність встановлена при аналізі якісних змін в клітинах крові. Упродовж усього терміну досліджень у щурів відмічалось збільшення відсотку атипичних лімфоцитів (табл. 2), особливо клітин з каріорексисом, що є морфологічним проявом апоптозу, а також двоядерних клітин, які виникають у разі порушень процесів мітотичного поділу клітин [2, 3, 6]. Крім того, у щурів даної групи частіше, ніж у групі тварин, яким вводили NSE перед опроміненням, зустрічались молоді ядерні еритроїдні клітини, практично в усіх тварин спостерігався анізо-пойкілоцитоз та поліхроматофілія еритроцитів. Це свідчить про те, що на тлі попереднього застосування NSE стрес і опромінення призводять до більшого подразнення кровотворення з відповідною активацією компенсаторних процесів.

Таким чином, встановлено, що введення NSE в дозі 10,0 мг/кг маси тіла до та після комбінованого впливу іонізуючого випромінювання в дозі 6,0 Гр та емоційно-больового стресу призводило у кінцевому

absolute number was also reduced by 40% compared to control. Perhaps effects of stress upsets the balance between stimulators and inhibitors of hematopoiesis, under the action of stress factors there were changes at the level of early progenitor cells with inhibition of proliferative activity and subsequent decrease in peripheral blood erythrocytes, platelets, neutrophils and lymphocytes. These changes were not prolonged, and in the subsequent term (14 day) complete recovery was determined.

Injection of NSE regardless of the sequence of application of emotionally painful stress accelerated the renewable processes in erythroid hematopoiesis (Fig. 1) with virtually no effect on the changes in platelet system (Figure 2). Previous injection of NSE led to more pronounced injury and longer recovery of leukocytes in peripheral blood (Fig. 3).

The combined effects of radiation and stress led to significant changes in the cellular composition of peripheral blood. In general orientation (inhibition) and severity of disturbances of quantitative composition and qualitative characteristics of peripheral blood cells were similar to the changes after irradiation, i.e. were typical for acute radiation sickness. Distinction was in an earlier (on the 3rd day) and long-lasting decrease in the number of RBC under conditions of combined effects of irradiation and stress compared with radiation alone (Fig. 1).

Quantitative changes in cellular composition of peripheral blood of rats receiving NSE prior to irradiation and stress were similar to parameters of only irradiated animals. Only qualitative changes had the distinction. During the whole period of studies in rats was noted an increase in the percentage of atypical lymphocytes (Table 2), especially cells with karyorrhexis, which is the morphological manifestation of apoptosis and binuclear cells arising in the case of violations of mitotic cell division process [2, 3, 6]. Moreover, in rats of this group more frequently than in the group of animals receiving NSE prior to only irradiation, young nuclear erythroid cells were found, virtually all animals had aniso-poikilocytosis and polychromatophilia of erythrocytes. This suggests that despite the previous use of NSE stress and exposure lead to greater stimulation of hematopoiesis with corresponding activation of compensatory processes.

Thus, it was found that NSE administration at a dose of 10.0 mg / kg before and after the combined influence of ionizing radiation in a dose of 6,0 Гр and emotionally-algesic stress induced

підсумку до збільшення ознак ураження кровотворної системи у порівнянні з комбінованою дією тільки NSE та іонізуючого випромінювання. Ймовірно, за умов даного співвідношення величин факторів впливу (комбінований вплив опромінення у великій дозі – 6,0 Гр та емоційно-больового стресу і введення NSE в незначній дозі – 10,0 мг/кг маси тіла) захисні властивості препарату не проявляються його недостатньо для компенсації порушень у системі крові внаслідок комбінованої дії чинників радіаційної та нерадіаційної природи за умов даного експерименту.

ВИСНОВОК

Введення шурам NSE (10,0 мг/кг) в умовах комбінованого впливу іонізуючого випромінювання (6,0 Гр) і емоційно-больового стресу сповільнює перебіг відновних процесів і прискорює процеси виснаження у кровотворній системі, що свідчить про радіосенсибілізуючу дію препарату.

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 antimitotic 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. N-стеароїлетаноламін інгібує проліферацію трансформованих клітин та модулює активність мітохондріальних ензимів у нормальних і трансформованих клітинах / Т. О. Хмель, Н. М. Гула, В. С. Асмолкова, Г. Й. Лавренчук // Укр. біохім. журн. – 2009. – Т. 81, № 3. – С. 108–116.
4. 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.
5. Комбінований вплив N-стеароїлетаноламіну та іонізуючого випромінювання на гематологічні показники периферичної крові щурів / Н. К. Родіонова, Н. П. Атаманиук, Л. П. Дерев'янку [та ін.] // *Проблеми радіаційної медицини та радіобіології.* – 2013. – Вип. 18. – С. 356–385.
6. Foot-shock stress-induced regional iron accumulation and altered iron homeostatic mechanisms in rat brain / L. Ma [et. al.] // *Biol. Trace Elem. Res.* – 2008. – Vol. 126, No 1-3. – P. 204–213.
7. Anandamide induces apoptosis in human cells via vanilloid receptors. Evidence for a protective role of cannabinoid receptors / Maccarrone M. [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2000 – Vol. 275. – P. 31938–31945.

more exacerbated disorders of the hematopoietic system comparing to the combined action of NSE in rats exposed to ionizing radiation only. Probably the protective properties of NSE 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 effects is not enough to compensate the disorders of blood system under the combined impact of stress factors of radiation and nonradiation nature in this conditions.

CONCLUSION

Oral NSE administration (10,0 mg / kg) to rats under the combined influence of ionizing radiation (6 Gy) and emotionally-algesic stress delays the flow of regenerative processes and accelerates the depletion of the hematopoietic system, proving for the radiosensitizing effects of the drug.

REFERENCES

1. Zhukov OD, Artamonov MV, Klimashevs'kyii 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 antimitotic agents on apoptotic DNA fragmentation in conventionally normal and tumor tissue of human adrenals. *Exp Oncol.* 2005;27(3):215-9. Ukrainian.
3. Khmel' TO, Hula NM, Asmolkova 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.
4. Goridko TM, Gudz EA, Chumak AA, Khmel TO, Berdyshev AG, Tal'ko W, Shelkovskii MV, Gula NM. [N-stearoylethanolamine effects in the antioxidant protection of irradiated rats]. *Probl Radiac Med Radiobiol.* 2011;(16):284-91. Ukrainian.
5. Rodionova NK, Atamaniuk NP, Derevyanko LP, Tal'ko W, Yanina A M, Shelkovskiy MV, Kosyakova GV, Mehed' OPh, Gula NM, Chumak AA. [Combined effects of N-stearoylethanolamine and ionizing radiation on hematological indices of peripheral blood in rats]. *Probl Radiac Med Radiobiol.* 2013;18:356-65. Ukrainian.
6. Ma L, Wang W, Zhao M, Li M. Foot-shock stress-induced regional iron accumulation and altered iron homeostatic mechanisms in rat brain. *Biol Trace Elem Res.* 2008;126 (1-3):204-13.
7. 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.