

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

им. М.В. ЛОМОНОСОВА

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

КУРЕНКОВ Дмитрий Валерьевич

**ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ И НЕКОТОРЫХ
ФАКТОРОВ СТРЕССА НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ СОРБЕНТОВ
ЦЕЗИЯ**

03.00.01. – Радиобиология

Автореферат

диссертации на соискание учёной степени

кандидата биологических наук

Москва

2006

Работа выполнена в ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной вирусологии и микробиологии Российской академии сельскохозяйственных наук и Московском государственном университете им. Ломоносова.

Научный руководитель: Заслуженный деятель науки РФ
доктор биологических наук, профессор
Виктор Алексеевич Бударков

Научный консультант Доктор биологических наук, профессор
Елена Николаевна Гончаренко

Официальные оппоненты: Доктор биологических наук
Любовь Львовна Захарова

Доктор биологических наук
Сергей Витальевич Мамихин

Ведущая организация: ФГОУ ВПО Московская Государственная Академия Ветеринарной Медицины и Биотехнологии им. К.И. Скрябина, г. Москва

Защита диссертации состоится «___»_____2006 г. в ___ часов.
на заседании Диссертационного совета _____ в Московском
государственном университете им. М.В. Ломоносова по адресу: 119899,
Москва, Воробьёвы горы, МГУ, Биологический факультет.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова.

Автореферат разослан «___»_____2006 г.

Учёный секретарь диссертационного совета
кандидат биологических наук

Т.В. Веселова

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы В процессе жизнедеятельности организмы могут подвергаться воздействию различных неблагоприятных факторов внешней среды, вызывающих стрессовые реакции организма. К таковым, в частности относятся механический стресс при транспортировке, физическая нагрузка, а также климатические стрессы, вызываемые воздействием на животных высоких и низких температур и ряд других факторов. Реакция организма на стресс проявляется в виде общего адаптационного синдрома, возникающего в результате нейрогуморальной активации коры надпочечников (Stratakis C.A. et al., 1995; Филаретов А.А., 1996; Velluci et al., 1997; Пшенникова М.Г., 2000) и усиленного выброса надпочечниками кортикостероидов и катехоламинов (Филаретов А.А., и др. 1993, Yehuda R., 1997, Haller J., 1998), что приводит к адаптивному изменению нормального функционирования пищеварительной, выделительной, сердечно-сосудистой и других систем организма животных и человека (Меерсон Ф.З. 1981, Кокс Т., 1981). При острых стрессовых состояниях возможно развитие в органах и тканях патологических процессов, вызывающих повреждения, нарушения метаболизма и стрессорные болезни, снижающие жизнеспособность и продуктивность организма (Коруков Г., 1985, Gebara O.C. et al., 1996, Krantz D.C. et al., 1996, Levenstain S. et al., 1996, Shibasaki T., 1998, Преображенский С.Н., 2001, Бузлама В.С. и др., 2002).

Особенностью животноводства в районах пострадавших от радиационных аварий является воздействие на животных ионизирующей радиации в различных дозах. Из литературных данных известно, что в этом случае также может существенно изменяться физиологическое состояние животных, интенсивность обмена веществ и продуктивность (Qastler H. 1956, Mohiuddin M. et al., 1978, Бударков В.А., Зенкин А.С., Киршин В.А., 1998) и данный вид воздействия также оценивается как стрессорное (Барабой В.А, 1993, Кудряшов Ю.Б., Гончаренко Е.Н., 1996).

В настоящее время наиболее опасным из радиоактивных загрязнителей окружающей среды является ^{137}Cs , характерными свойствами которого являются длительный период полураспада, высокая мобильность в цепи почва – растения – продукция животноводства – человек, выраженное токсическое действие на организм. (Алексахин Р.М., 1982,1993, Воробьев Г.Т. и др., 1993, Фесенко С.В. 1997, Санжарова Н.И.,

1997, Василенко И.Я., 1999, Ратников А.Н., 2002.). Ввиду этого, на пострадавших территориях остро встала задача получения нормативно чистой продукции животноводства.

Приоритетным направлением для решения этой задачи стал поиск эффективных сорбентов, связывающих радиоизотоп в желудочно-кишечном тракте животных. Исследованиями установлено, что наивысшую эффективность в качестве таких сорбентов проявляют препараты из группы ферроцианидов к которым относятся ферроцин, его ветеринарная форма - ферроцин-2, а также разработанный во ВНИИВВиМ ферроцианидно-бентонитовый сорбент ХЖ-90 (Борисов Б.П., Василенко И.Я. и др., 1989, Бударков В.А. и др., 1991, 1996, Маяков Е.А. и др., 1991, 2002, Васильев А.В. и др. 1992, Зарванская С.А. 2004).

Поскольку факторы стресса лучевой и нелучевой природы способны изменять физиологическое состояние и продуктивность животных, не исключено, что они могут оказывать воздействие на эффективность применения ферроцианидных сорбентов в пищеварительном тракте животных. Однако характер этого влияния в настоящее время изучен недостаточно

Цель работы: Целью настоящей работы является изучение влияния факторов радиационного, климатического, двигательного и механического стресса на эффективность применения ферроцианидных сорбентов.

В задачи исследования входило:

1. Изучить влияние острого и хронического облучения на эффективность применения ферроцина.
2. Изучить влияние механического стресса на эффективность применения ферроцина.
3. Изучить влияние двигательного стресса на эффективность применения ферроцина.
4. Изучить влияние высоко- и низкотемпературного стрессов на эффективность применения ферроцина.
5. Оценить сорбционную активность различных ферроцианидных сорбентов в зависимости от вида и сроков хранения сырья и готовых сорбентов.
6. Исследовать хроническую токсичность ферроцианидно-бентонитового сорбента ХЖ-90 с длительным сроком хранения.

Научная новизна работы

Установлены особенности изменения эффективности применения ферроцианидных сорбентов у разных видов лабораторных животных подвергнутых воздействию стрессовых факторов радиационной, климатической и механической природы.

Впервые изучено влияние сроков хранения и вида исходного сырья, а также сроков хранения готовой продукции на сорбционную активность сорбента ферроцианидных сорбентов. Определена хроническая токсичность ферроцианидно-бентонитового сорбента ХЖ-90 при длительном сроке хранения готовой продукции.

Практическая значимость

Результаты выполненных исследований обосновывают продление сроков хранения ферроцианидных сорбентов до 10 лет.

Получены сведения об отрицательном воздействии технологических стрессов на эффективность применения ферроцианидов. На основании этих данных может быть оптимизировано применение ферроцианидных сорбентов радиоцезия путём уменьшения стрессорных воздействий и модификации их последствий у животных.

Основные положения, выносимые на защиту:

- 1) Хроническое гамма-облучение в малых дозах не вызывает достоверного изменения эффективности применения ферроцина.
- 2) Острое сублетальное облучение ускоряет выведение ^{137}Cs из организма мышей.
- 3) Механический, двигательный, высоко- и низкотемпературный стрессы оказывают отрицательное воздействие на эффективность применения ферроцина.
- 4) На сорбционную активность ферроцианидных сорбентов не оказывают влияния вид исходного сырья и сроки хранения до 13 лет.
- 5) Сроки хранения ферроцианидно-бентонитового сорбента ХЖ-90 не влияют на его хроническую токсичность.

Апробация. Основные положения диссертации доложены и одобрены на: Международной научно-практической конференции молодых учёных (Щёлково, 2004), Всероссийской научно-практической конференции, посвящённой 45-летию ФГНУ ВНИВИ (Казань, 2005), 1-й научно-практической конференции «Современная ветеринарная защита

коров высокопродуктивных пород» (Воронеж, 2005), международном симпозиуме «Научные основы обеспечения защиты животных от экотоксикантов, радионуклидов и возбудителей опасных инфекционных заболеваний» (Казань, 2005) на заседании секции радиобиологии Отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии (Москва, МГАВМиБ им. Скрябина, 2005.), на заседаниях учёного совета ВНИИВВиМ (2003, 2004.)

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 6 печатных работ.

Объём и структура диссертации. Диссертация изложена на 106 страницах машинописного текста и включает введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, собственные исследования, обсуждение результатов, выводы и список литературы.

2. Материалы и методы исследований

Работа «Влияние ионизирующего излучения и некоторых факторов стресса на эффективность применения сорбентов цезия» выполнена в 2002 – 2005 гг. в лаборатории «Изотопные методы исследования» ВНИИВВиМ и в лаборатории радиобиологии кафедры биофизики Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова в соответствии с планами научно-исследовательских работ ВНИИВВиМ по теме:

- 01.03.04. «Изыскание новых неорганических сорбентов цезия и стронция, перспективных для применения в ветеринарии» программы фундаментальных и приоритетных прикладных исследований по научному обоснованию развития АПК Россельхозакадемии.

В опытах использованы 132 белых беспородные мыши массой 30 – 35 г., 90 белых крыс линии Вистар массой 170 – 350 г., 24 морские свинки, массой 350 – 370 г.

В экспериментах использованы водный раствор азотнокислого ^{137}Cs , ферроцианидные сорбенты радиоцезия: ферроцин, ферроцин-2, ферроцианидно-бентонитовый сорбент ХЖ-90.

Раствор $^{137}\text{CsNO}_3$ – удельная активность 1,2 МБк/мл.

Ферроцин – калий–железо (III) гексацианоферрат (II), выпущенный в 1983 г, хранился в течение 21 года.

Ферроцин-2 - ветеринарная форма ферроцина, выпущен в 1990 г., хранился в течение 14 лет.

Ферроцианидно-бентонитовый сорбент радиоизотопов цезия ХЖ-90 смесь калий-железо (III) гексацианоферрата (II) и бентонитовой глины. В экспериментах использовали четыре образца сорбента, производства ВНИИВВиМ, различных по срокам и условиям хранения сырья и готового продукта, а также по типу виноматериалов, используемых в качестве сырья:

1) Ферроцианидно-бентонитовый сорбент ХЖ-90, серо-синего цвета. Изготовлен во ВНИИВВиМ в 1991 г. из высушенных на открытом воздухе отходов виноделия, хранившихся в не отапливаемом помещении.

2) Ферроцианидно-бентонитовый сорбент ХЖ-90, светло-серый порошок. Получен в 2004 году во ВНИИВВиМ из светлых виноматериалов типа саперави.

3) Ферроцианидно-бентонитовый сорбент ХЖ-90, серо-синий порошок. Получен в 2004 г. во ВНИИВВиМ из темных виноматериалов типа каберне.

4) Ферроцианидно-бентонитовый сорбент ХЖ-90, серо-синий порошок производства ВНИИВВиМ 2001 г., хранился в бумажных пакетах при комнатной температуре.

Изучение влияния острого сублетального и хронического облучения в малых дозах проводили на 80 белых беспородных мышах. Мышей 1-й и 2-й групп подвергали хроническому γ -облучению на установке ГУС-4000, заряженной ^{137}Cs , в дозе 1,4 Гр при мощности дозы 1,5 мГр/сут. Мышей 3-й, 4-й, 5-й, 6-й, 7-й и 8-й группы подвергали однократному сублетальному γ -облучению в дозе 7 Гр при мощности дозы 3 Гр/ч. Мыши 9-й и 10-й групп были интактным контролем и облучению не подвергались.

Через 80 дней после начала хронического облучения (1-я и 2-я группы), в латентный период (3-я и 4-я), период разгара (5-я и 6-я) и восстановления (7-я и 8-я группы) острой лучевой болезни, соответственно на 3, 10 и 24 сутки от начала облучения мышам 1-й, 3-й, 5-й и 7-й групп внутрижелудочно металлическим зондом вводили ^{137}Cs в количестве 20,7 кБк и ферроцин в количестве 10 мг на животное. Мыши 2-й, 4-й, 6-й и 8-й групп являлись контрольными и получали только изотоп. Динамику радиоактивности изучали путем прижизненной радиометрии мышей в

течение 3 суток. Радиометрию проводили через 40 минут, на первые, вторые и третьи сутки после затравки. На третьи сутки после введения производили убой животных эфиром, отбор, взвешивание и радиометрию органов и тканей (мышечная ткань бедра, печень).

При исследовании зависимости сорбции ^{137}Cs от нерадиационного стрессового воздействия на животных было проведено 6 серий опытов.

В первой серии опытов использовали 24 морские свинки массой 350-370 г. разделённых на 4 группы, по 6 животных в каждой. В качестве модели транспортного стресса использовалось качание свинок из 1-й и 2-й групп в течение 4-часов на шуттель-аппарате, имитирующее транспортировку. У животных изучали общее клиническое состояние и лейкоцитарную формулу периферической крови. Первое взятие крови проводилось за сутки до стрессирования, второе - через 30 минут после воздействия. Животных из 3-й и 4-й групп стрессорному воздействию не подвергали.

Опыты 2-й, 3-й и 4-й и 5-й серии проведены на 48 белых крысах породы Вистар массой - 150-170 граммов. В каждой серии опытов использовали две группы по 6 крыс в каждой. Исследование крови проводилось 4 раза: перед воздействием, через 30 минут, на первые и третьи сутки после него.

Во 2-й серии в качестве модели механического стресса применяли качание крыс на шуттель-аппарате в течение 8 часов.

В 3-й серии стрессирующим агентом было плавание крыс в течение 3 часов при $25-27^{\circ}\text{C}$ по методике описанной в работе П.Д. Горизонтова и др. (1983).

В 4-й серии в качестве модели холодового стресса использовалось плавание крыс в течение 5 минут при 4°C по методике Е.Н. Гончаренко (2004). В качестве наглядного примера острого стресса, состояние животных в 4 серии дополнительно оценивали по содержанию в надпочечниках кортикостероидов методом Ю.А. Панкова и И.Я. Усватовой (1965) и катехоламинов – адреналина и норадреналина методом Ж.А. Меткольфа (Metcolf J.A., 1974). В группу вошли 30 белых крыс Вистар, одинаковых с крысами 4-й серии по массе и двигательной активности, и подвергнутых одинаковому с ними воздействию. Декапитацию крыс и отбор проб в предварительном опыте проводили перед началом стрессового воздействия (контроль-10 крыс), через 40

минут (10 крыс) и через 1 сутки (10 крыс) после окончания воздействия. Кортикостероиды и катехоламины определяли флуориметрически с помощью спектрофлуориметра Hitachi 850.

Крыс 5-й серии стрессу не подвергали, они были интактным контролем к 2-й, 3-й, и 4-й серии опытов.

По окончании стрессирования животным из всех групп через металлический зонд шприцем вводили по 1 мл раствор ^{137}Cs с удельной активностью 207,5 Бк/мл. Затем свинкам и крысам из подопытных групп всех серий тем же способом был введён 1 мл взвеси ферроцина в крахмальном геле с концентрацией 100 мг/мл. Животным из контрольных групп вводили только раствор ^{137}Cs .

В 6-й серии опытов проводились дополнительные исследования влияния острого холодового стресса на эффективность применения ферроцина в зависимости от упитанности животных. Опыты проведены на 24 белых крысах Вистар, массой 250-300 г.

Изучение воздействия теплового стресса на эффективность ферроцианидов проводили на 32 белых беспородных мышах (7-я серия опытов). Животных 1-й и 2-й групп помещали в проветриваемый термостат, где они находились в течение 30 минут при температуре 40°C . Животных 3-й и 4-й групп воздействию не подвергали. Исследования эффективности применения ферроцина проводили аналогично опытам с острым и хроническим облучением мышей.

Исследования хронической токсичности сорбента ХЖ-90 проводили на 70 белых мышах, разделённых на 3 группы, включавшие в себя 7 подгрупп по 10 мышей в каждой. В течение 2 месяцев, ежедневно животным вводили по 0,3 мл взвеси сорбента в 2,5 % крахмальном геле. Мышам 1-й группы вводили сорбент ХЖ-90 со сроком хранения 3 года, мышам 2-й группы вводили сорбент, хранившийся 13 лет, 3-я группа была контрольной, мышам вводили чистый крахмальный гель. Подгруппам 1.1 и 2.1 давали препарат в концентрации 100 мг/мл, подгруппам 1.2 и 2.2 – в концентрации 200 мг/мл, подгруппам 1.3 и 2.3 – 400 мг/мл. Токсичность препарата оценивали по выживаемости мышей на протяжении эксперимента.

В экспериментах *in vitro* по изучению зависимости сорбционной активности сорбентов радиоцезия от сроков и условий хранения использованы ферроцин, ферроцин-2, и четыре образца ХЖ-90. Работу

проводили в двух повторностях по методике описанной в работе Giese W. (1988).

Статистическую обработку цифровых данных экспериментов проводили общепринятыми методами вариационной статистики с помощью критерия Стьюдента и непараметрического критерия Розенбаума с применением пакета прикладных программ Microsoft Excel 2000.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Влияние хронического облучения в малых дозах на эффективность применения ферроцина

Данные о динамике концентрации ^{137}Cs в организме мышей после хронического облучения приведены в табл. 1.

Таблица 1.

Влияние ферроцина на концентрацию ^{137}Cs в организме облученных мышей

Вид воздействия		Группа	Условия опыта	Концентрация ^{137}Cs в организме мышей (% от первоначального уровня)			
				Время после введения			
			30 минут	1 сутки	2 сутки	3 сутки	
Хроническое облучение		1	^{137}Cs +ферроцин	100±41,9	13,5±9,0	5,7±2,7	3,6±1,8
		2	^{137}Cs	100±32,0	51,1±17,3	38,7±12	29,8±11,2
Острое облучение	Латентная стадия ОЛБ	3	^{137}Cs +ферроцин	100±8,2	11,2±6,7	4,0±1,6	2,1±0,6
		4	^{137}Cs	100±7,4	74,0±6,5	57,2±7,2	48,0±6,3
	Стадия разгара ОЛБ	5	^{137}Cs +ферроцин	100±3,8	13,3±7,3	3,2±0,8	2,7±0,6
		6	^{137}Cs	100±5,5	80,1±3,1	61,7±4,7	60,0±6,1
	Стадия выздоровления ОЛБ	7	^{137}Cs +ферроцин	100±12,3	5,4±1,5	2,8±0,1	2,5±0,2
		8	^{137}Cs	100±5,4	63,1±9,3	54,5±6,0	46,8±4,3
Интактные		9	^{137}Cs +ферроцин	100±11,9	9,8±2,8	7,6±2,4	7,0±2,1
		10	^{137}Cs	100±8,8	51,3±8,4	46,4±7,2	40,2±7,0

По данным прижизненной радиометрии мышей в контрольных группах, где животные не получали ферроцин, выведение изотопа у облученных мышей (2-я группа) на первые сутки практически не отличалось от такового у интактных (10-я группа). На вторые и третьи сутки в контроле отмечали тенденцию к снижению концентрации изотопа в организме облученных мышей по сравнению с интактными. К

окончанию наблюдений среднее значение прижизненной радиоактивности облучённых животных было на 10,4 % ниже, чем у необлучённых.

В группах мышей, получавших ферроцин концентрация изотопа в теле облучённых мышей после хронического облучения (1-я группа) на первые сутки снижалась меньше, чем у интактных (9-я группа). Но в последующие сутки отмечена тенденция к ускорению выведения изотопа ($P > 0,05$). Данные радиометрии органов также не показали изменений снижения концентрации изотопа относительно контроля у облучённых мышей по сравнению с интактными.

Следовательно, хроническое облучение в малых дозах не оказывает отрицательного влияния на эффективность применения ферроцина.

3.2 Влияние острой лучевой болезни на эффективность применения ферроцина

По данным литературы на латентной стадии и стадии разгара болезни отмечаются признаки, позволяющие судить об этих стадиях, как о растянутой во времени стадии первичной мобилизации адаптационного синдрома. В частности наблюдается выраженная лейкопения и лимфопения (Козинец Г.И., 1974, Wald N., 1974, Киршин В.А., Белов А.Д., Бударков В.А., 1986, Зенкин С.А., 2001), характерные для стадии первичной мобилизации.

Используя методику прижизненной радиометрии мышей мы наблюдали, что как у облучённых, так и у необлучённых животных под влиянием ферроцина происходило достоверное снижение радиоактивности ($P < 0,05$) (табл. 1).

В контроле у облучённых мышей (4-я, 6-я и 8-я группы) проявлялась тенденция к торможению выведения изотопа по сравнению с необлучёнными (10-я группа) на 1-е, 2-е и 3-и сутки после введения. В большей степени этот процесс был выражен в период разгара болезни, и в меньшей степени - в латентном периоде и периоде выздоровления.

У облучённых животных, получавших одновременно с ^{137}Cs ферроцин, наблюдали динамику снижения радиоактивности организма, отличную от динамики в контрольных группах. В подопытных группах имелась тенденция к повышению накопления ^{137}Cs и, соответственно к снижению эффективности ферроцина, относительно интактных мышей на 1-е сутки в 3-й группе (латентный период), в 5-й группе (период разгара). На 2-е и 3-и сутки наблюдали незначительное нарастание выведения

изотопа во всех периодах болезни относительно интактных животных. На третьи сутки радиоактивность мышей из подопытных групп на всех стадиях лучевой болезни была практически одинаковой, составляя около 2,5% от исходной, в то время как радиоактивность интактных мышей (9-я группа) составляла 7% от исходной. Таким образом на всех стадиях острой лучевой болезни у животных имелось снижение радиоактивности.

У необлученных мышей удельная активность мышц и печени в подопытной группе животных, получавших ферроцин, превышала таковую в контроле в 20,3 и 15,4 раза соответственно.

В латентный период острой лучевой болезни удельная активность мышц животных 3-й подопытной группы ниже удельной активности мышц в 4-й контрольной группе в 45 раз. Активность печени в подопытной группе была ниже активности мышц контроля в 19 раз. Ферроцин в данном опыте создавал барьер для перехода ^{137}Cs в мышцы и печень, причем более эффективным он являлся по отношению к мышцам.

В период разгара болезни удельная активность мышц в 5-й подопытной группе была ниже активности 6-й контрольной группы в 23 раза, печени – в 14,2 раза, то есть разница в показателях опыт-контроль значительно уступала разнице между 1-й и 2-й группами.

Результаты радиометрии органов в группах 7 и 8 (период выздоровления) показывали, что в мышцах активность подопытной группы 5 ниже активности контрольной группы 6 в 20,8 раз, в печени - в 23,4 раза. Выведение радионуклида из печени снижено, относительно латентного периода и разгара болезни.

Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что ферроцин максимально препятствует переходу изотопа из желудочно-кишечного тракта в мышцы в латентном периоде, а в печень – в периоде разгара и выздоровления. В целом данные радиометрии органов согласуются с данными прижизненной радиометрии и свидетельствуют, что при остром γ -облучении происходит ускорение выведения ^{137}Cs из организма.

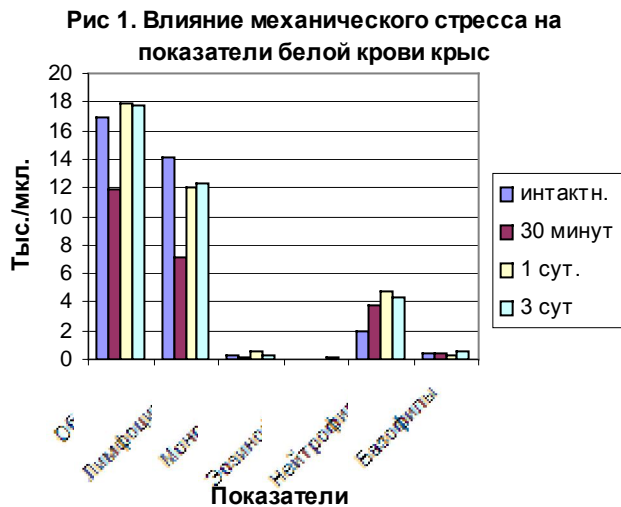
Литературные материалы свидетельствуют, что лучевое поражение кишечника снижает всасывание (Шатерников В.А., 1958, Dalla Palma L., 1968, Corring T. et al., 1975) и вызывает диарею (Гозенбук В.Л., Кеирим-Маркус И.Б. 1988, Киршин В.А., 2002). Это должно ускорять выведение не связанного сорбентом ^{137}Cs из кишечника, снижать его всасывание и,

соответственно повышать эффективность применения сорбента. Однако не исключена вероятность попадания цезия из кишечника непосредственно в кровь, т.к. при острой лучевой болезни имеет место возникновение язв и повреждение кровеносных сосудов ЖКТ (Кронкайт Е.П., Хали Т.Дж., 1974, Киршин В.А., Бударков В.А., 1990). Можно предположить, что отклонения в общей картине повышения эффективности применения ферроцианидов наблюдаемые при радиометрии органов является результатом этих двух противоположно действующих процессов.

3.3 Влияние механического стресса на эффективность применения ферроцина

Опыты по изучению воздействия механического стресса проведены на белых крысах и морских свинках.

У морских свинок и крыс, перенёсших механический стресс (2-я серия) наблюдали лейкопению и лимфопению, характерные для стадии мобилизации адаптационного синдрома (рис. 1).



Морские свинки в 1-й серии (качание 4 ч.) и крысы во 2-й (качание 8 ч.) имели как сходные показатели белой крови, так и одинаковые поведенческие реакции (дезориентация, общая вялость, ослабление рефлексов). Это позволяет предполагать сходную фазу стресс-реакции (первичная мобилизация) и степень ее выраженности.

Концентрация ^{137}Cs в различных органах у свинок, перенёсших стресс, отличалась от соответствующих показателей интактных животных (табл. 2).

Таблица 2.

Влияние механического стресса на эффективность применения ферроцина у морских свинок

№ группы	Условия опыта	Удельная активность органов (Бк/г)		
		Мышцы	Печень	Селезёнка
1	^{137}Cs + ферроцин+ качание 4 ч	46±5,1	39±7,1	183±28,4
2	^{137}Cs + качание 4 ч	423±89,8	286,4±63,6	392,4±71,4
3	^{137}Cs + ферроцин	30,7±4,4	21,4±0,6	177,3±69,9
4	^{137}Cs	212,2±42,8	232,2±34,8	357±42,9

Накопление изотопа в мышцах стрессированных свинок (1-я группа) при введении ферроцина снижалось относительно контроля в 6,9 раз против 9,1 раза у интактных (3-я группа). Накопление изотопа в печени свинок, перенёсших стресс, снижалось в 10,8 раз против 7,3 раз у интактных. Снижение концентрации изотопа в селезёнке в подопытных группах было практически одинаковым – в 2 раза. Из приведённых данных следует, что механический стресс не оказывает достоверных изменений сорбционной эффективности ферроцина у морских свинок.

Таблица 3

Влияние механического стресса на эффективность применения ферроцина у крыс

№ группы	Условия опыта	Удельная активность органов (Бк/г)		
		Мышцы	Печень	Селезёнка
1	^{137}Cs + ферроцин+ качание 8 ч	54,4±3,7	42,2±2,9	62,2±7,9
2	^{137}Cs . + качание 8 ч	1538,4±35,7	740,8±36,0	1010,9±18,8
3	^{137}Cs + ферроцин	123,8±26,5	83,1±9,8	255,3±7,1
4	^{137}Cs	1249,8±33,8	894,4±74,5	1083,5±39,5

Во 2-й серии опытов при воздействии механического стресса на крыс отмечено значительное снижение сорбционной эффективности ферроцина относительно интактных животных не подвергавшихся стрессовому воздействию ($P < 0,05$). Удельная активность мышц стрессированных крыс (5-я группа) снижалась относительно контроля в 10 раз, печени – в 10,7 раз, селезёнки – в 4,2 раза, тогда как активность мышц,

печени и селезёнки у интактных крыс (7-я группа) уменьшалась в 28,3; 17,5 и 16,2 раза соответственно ($P < 0,05$) (табл 3).

Следовательно механический стресс ведёт к достоверному снижению эффективности применения ферроцина у крыс и существенно не изменяет её у морских свинок.

3.4 Влияние двигательного стресса на эффективность применения ферроцина

Опыты по изучению влияния двигательного стресса на сорбционную эффективность ферроцина проведены на белых крысах линии Вистар.

У крыс, подвергнутых действию двигательного стресса, наблюдали лейкопению и лимфопению, также имелся нейтрофильный лейкоцитоз, что аналогично картине белой крови при механическом стрессе и характерно для стадии первичной мобилизации адаптационного синдрома (Плященко С.И., Сидоров В.Т., 1987, Горизонтов П. Д. и др., 1983).

Концентрация ^{137}Cs в печени крыс из интактных и подопытных групп снижалась относительно контроля одинаково – в 17,5 раз. У крыс, подвергнутых двигательному стрессу (1-я группа) удельная активность мышц достоверно снижалась в 24,8 раз, а селезёнки – в 10,1 раз, тогда как у интактных крыс (3-я группа) – в 28,3 и 16,2 раза соответственно (табл. 4).

Таблица 4.

Влияние двигательного стресса на сорбционную эффективность ферроцина у крыс

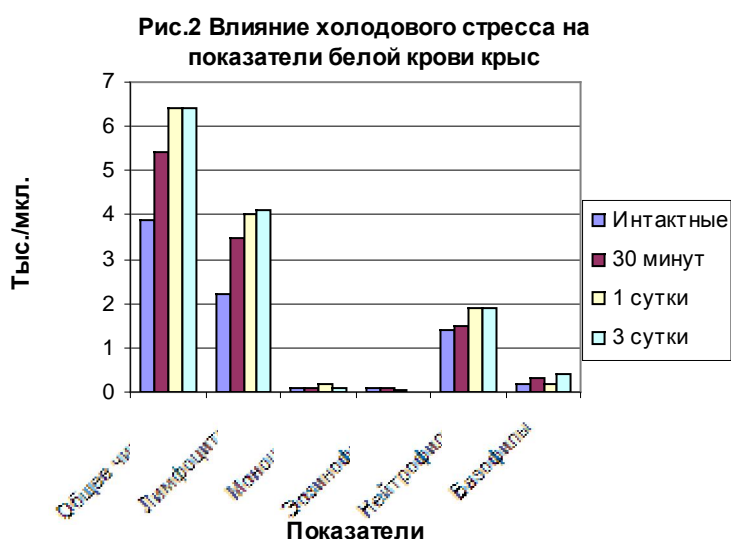
№ группы	Условия опыта	Удельная активность органов, Бк/г		
		Мышцы	Печень	Селезёнка
1	^{137}Cs + ферроцин+ плавание 3 ч при 25°C	53,6±3,1	33,6±2,6	77,7±1,3
2	^{137}Cs + плавание 3 ч при 25°C	1331,8±118	585,3±32,5	785,7±129,9
3	^{137}Cs + ферроцин	54,4±3,7	42,2±2,9	62,2±7,9
4	^{137}Cs .	1538,4±35,7	740,8±36,0	1010,9±18,8

Обобщая полученные данные можно заключить, что двигательный стресс, также как и механический снижает эффективность применения ферроцина, хотя при двигательном стрессе этот процесс выражен в меньшей степени, чем при механическом.

3.4 Влияние острого холодового стресса на эффективность применения ферроцина

Опыты проведёны на 4-х группах белых крыс Вистар, по 6 крыс в каждой группе.

У крыс, подвергнутых острому холодовому стрессу (4-я серия) отмечали резкое снижение двигательной активности, угнетение рефлексов, нарушение координации движений, цианоз кожных покровов, судорожное сведение мышц. В дальнейшем состояние животных постепенно нормализовалось, хотя снижение двигательной активности наблюдали ещё в течение суток. В крови наблюдали умеренный лейкоцитоз и повышение уровня лимфоцитов с достоверным различием ($P < 0,05$) по сравнению с контролем через 40 минут, 1 сутки и 3 суток (рис. 2).



На протяжении 3-х суток отмечена тенденция к нейтрофильному лейкоцитозу, характерная для первичной мобилизации.

Данные о содержании в надпочечниках кортикостероидов и катехоламинов – адреналина и норадреналина приведены в табл. 5.

Таблица 5.

Содержание биогенных аминов и кортикостероидов в тканях у крыс после переохлаждения, в % от контроля

Гормон	Контроль	40 минут	24 часа
Адреналин	100 ± 4	107 ± 15	62 ± 14*
Норадреналин	100 ± 14	126 ± 5	63 ± 9*
Кортикостероиды	100 ± 16	137 ± 24	91 ± 14

* - достоверно по сравнению с контролем, $P < 0,05$

Из материалов табл. 4 видно, что через 40 минут после стрессирования уровень исследованных гормонов значительно возрастал. Из всех исследованных гормонов максимально возрастал по отношению к контролю (на 37%) уровень кортикостероидов на 37%. Несколько меньшим было увеличение содержания норадреналина – на 26%. Уровень адреналина вырос относительно контроля незначительно – на 7%. Через сутки уровень гормонов, напротив, достоверно снижался относительно интактного контроля. Наиболее резкое падение зафиксировано для адреналина и норадреналина, уровень которых достоверно снизился на 38 и 37% соответственно. Эти данные согласуются с результатами С.А. Ерёминой (1967) в работе которой отмечено повышение уровня адреналина и кортикостероидов при погружении животных в ледяную ванну.

Это соответствует реакции выброса гормонов и последующего опустошения надпочечников, характерные для стадии первичной мобилизации (Селье Г., 1972.).

Данные радиометрии органов животных приведены в табл. 6.

По данным радиометрии органов крыс, перенёсших стресс (2-я группа), наблюдали резкое снижение удельной активности всех органов животных, по отношению к интактным (4-я группа). Однако в группе, получавшей ферроцин, снижение радиоактивности тканей у крыс, подвергнутых холодовому воздействию (1-я группа), было выражено слабее, чем у интактных. В 3-й группе удельная активность мышц по отношению к 4-й группе снижалась в 28,3 раза, печени – в 17,5 раз, селезёнки – в 16,7 раз, в то время как у крыс, подвергнутых стрессу (1-я группа) активность мышц и печени снижалась в 4,1 раза, а селезёнки – в 1,5 раза относительно 2-й группы.

Влияние двигательного стресса в условиях переохлаждения на
эффективность применения ферроцина у крыс

Характеристика крыс	№	Условия опыта	Удельная активность органов, Бк/г		
			Мышцы	Печень	Селезёнка
Масса 150 – 180 г	1	¹³⁷ Cs + ферроцин Плавание 5 мин. при 4 ⁰ C	30,0±2,2*	17,0±2,1*	93,3±5,2
	2	¹³⁷ Cs Плавание 5 мин. при 4 ⁰ C	123,9±5,4*	69±1,3*	147,9±2,1*
	3	¹³⁷ Cs + ферроцин Интактные	54,4±3,7	42,2±2,9	62,2±7,9
	4	¹³⁷ Cs Контроль. Интактные	1538,4±35,7	740,8±36,0	1010,9±18,8
Масса 250-300 г Подкожный жир	1	¹³⁷ Cs + ферроцин Плавание 5 мин. при 4 ⁰ C	52,3±11,5	29,4±2,6	145,5±36,2
	2	¹³⁷ Cs Плавание 5 мин. при 4 ⁰ C	596,6±77,1*	286,3±103,0	212,1±38,3
	3	¹³⁷ Cs + ферроцин	48,9±5,8	45,2±12,1	93,2±3,8
	4	¹³⁷ Cs Контроль.	835,9±69,1	464,9±68,0	353,2±26,1

Можно предположить, что причиной резкого снижения удельной активности органов контрольных крыс 2-й группы по отношению к 4-й группе является резкое изменение обмена веществ и усиление моторики желудочно-кишечного тракта, под влиянием пониженной температуры, что ускоряет выведение изотопа из организма (Сааков Б.А., 1973, Шахов А.Г. 2001 и др.). Таким образом острое переохлаждение снижает эффективность применения ферроцина.

Аналогичный опыт был проведён на крысах с повышенным весом и содержанием жировой ткани (6-я серия, табл. 6). В подопытной группе активность мышц ниже чем у контроля в 11,4 раза, печени – в 9,7 раз, селезёнки – в 1,5 раза, тогда как у интактных животных активность мышц в опыте снижена относительно контроля в 17,1 раз, печени – в 10,3 раза, селезёнки – в 3,8 раз.

Таким образом установлено, что повышение упитанности животных снижает негативное влияние холодого стресса на эффективность применения ферроцина.

3.6 Влияние острого теплового стресса на эффективность применения ферроцина

Опыт проведён на 32 белых беспородных мышах, разделённых по принципу аналогов на 4 группы, по 8 животных в каждой.

После теплового воздействия у мышей наблюдали повышенную двигательную активность, в конце воздействия, напротив происходило общее угнетение активности, ослабление рефлексов, нарушение координации движений, обильное потоотделение.

Данные о прижизненной радиометрии подопытных и контрольных мышей приведены в табл.7.

Таблица 7

Влияние ферроцина на накопление ^{137}Cs в организме мышей при тепловом стрессе

Группа	Условия опыта	Концентрация ^{137}Cs в теле мышей (% от первоначального уровня)			
		40 минут	1 сутки	2 сутки	3 сутки
1	^{137}Cs +ферроцин+ тепловой стресс	100±24	18,56±10,7	19,36±14,4	6,88±1,6
2	^{137}Cs +тепловой стресс	100±26,3	57,3±35,0	31,9±14,0	29,8±12,3
3	^{137}Cs +Ферроцин	100±7,18	13,4±2,5	5,6±0,4	4,8±0,1
4	^{137}Cs	100±5,4	70,0±2,4	57,4±1,9	57,3±2,1

У контрольных животных тепловой стресс приводил к некоторому ускорению выведения изотопа из тела мышей. Об этом свидетельствуют более низкие показатели концентрации ^{137}Cs в теле животных 2-й группы по сравнению с 4-й группой.

В подопытных группах имелась тенденция к уменьшению эффективности ферроцина у стрессированных животных относительно интактных. Особенно ярко эта тенденция проявлялась на вторые сутки после стрессового воздействия, когда концентрация ^{137}Cs в теле интактных мышей падала, в то время как у стрессированных оставалась практически неизменной.

Достоверных различий в сорбционной эффективности ферроцина между животными, подвергнутыми стрессу и интактными не выявлено.

Из данных радиометрии органов следует, что удельная активность мышц и печени относительно контроля у мышей, подвергнутых стрессу достоверно снижалась в 4,1 и 3,4 раза соответственно, а у интактных – в 5,3 и 4,3 раза соответственно (табл. 8)

Таблица 8

Влияние ферроцина на содержание ^{137}Cs в органах и тканях мышей в условиях острого теплового стресса, Бк/г.

№ группы	Условия опыта	Удельная активность	
		Мышцы	Печень
1	^{137}Cs +Ферроцин+ тепловой стресс	199,45±19,88	115,5±9,7
2	^{137}Cs + тепловой стресс	835,2±61,26	393,45±27,87
3	^{137}Cs +Ферроцин	177,97±20,66	108,43±8,67
4	^{137}Cs	955,05±45,76	463,37±14,03

Таким образом, при тепловом стрессе происходило снижение эффективности применения ферроцина. Предпосылками к такому снижению могут являться адаптационные реакции системы пищеварения, к гипертермии, в частности усиление процесса реабсорбции в почках и снижение испарения воды лёгкими (Голиков А.Н., 1985).

3.8 Хроническая токсичность сорбента ХЖ-90

Эксперименты по изучению токсичности ХЖ-90 проведённые Л.А. Волосевич (1998) показали, что ферроцианидно-бентонитовый сорбент ХЖ-90 малотоксичен при остром и хроническом введении его крысам и относится к 4-му классу опасности по ГОСТ 12.1007-76. Результаты наших опытов это подтвердили. После введения ХЖ-90 мышам в суточной дозе 300, 600 и 1200 мг/мышь на протяжении 60 суток, выживаемость животных не превышала таковую у контрольных мышей, получавших чистый крахмальный гель (табл.9).

Токсичность ХЖ-90 при хроническом введении мышам

Срок хранения	Группа	Количество препарата		Количество мышей	
		Концентрация суспензии, мг/мл.	Общее количество, мг.	Всего	Погибло
3 года	1.1	100	21600	10	2
	1.2	200	43200	10	2
	1.3	400	86400	10	4
13 лет	2.1	100	21600	10	2
	2.2	200	43200	10	2
	2.3	400	86400	10	4
Контроль	3	Крахмальный гель	0	10	4

Результаты опыта свидетельствуют, что изменение срока хранения препарата не приводит к возрастанию его токсичности. Полученные данные дополняют результаты проведённых ранее исследований ещё и в том отношении, что сорбент ХЖ-90 является одинаково малотоксичным для различных видов млекопитающих.

3.9 Сорбционная активность сорбентов в экспериментах *in vitro*

В эксперименте *in vitro* была исследована сорбционная активность ферроцина, ферроцина-2 и четырёх образцов ферроцианидно-бентонитового сорбента ХЖ-90.

Установлено, что ферроцин и ферроцин-2 имели одинаковую сорбционную активность (табл. 9). Следовательно, медицинская и ветеринарная формы сорбента обладают одинаковыми барьерными свойствами, и их активность не зависит от срока хранения готовой продукции (срок наблюдения – 21 год для ферроцина, и 14 лет для ферроцина-2).

Сорбционная активность сорбента ХЖ-90, сырьё для которого хранилось в течение 12 лет в виде пасты, была ниже активности ферроцина и ферроцина-2 в среднем на 7 %. При этом образец сорбента, №4 изготовленный из светлых виноматериалов типа саперави по сорбционной активности не отличался от образца №5, изготовленного из тёмных виноматериалов типа каберне.

Сорбционная активность ферроцианидных сорбентов *in vitro*

Образцы сорбентов		Срок хранения сырья, лет	Срок хранения готовой продукции, лет	Сорбционная активность, %
№	Наименование			
1	Ферроцин	-	21	85,5 ± 1,31
2	Ферроцин-2	-	14	86,4 ± 0,86
3	ХЖ-90	1	13	67,0 ± 5,44
4	ХЖ-90	12	-	79,2 ± 0,63
5	ХЖ-90	12	-	79,8 ± 0,37
6	ХЖ-90	2	3	68,0 ± 4,01

Более низкие показатели сорбционной активности имели образцы сорбента ХЖ-90, хранившиеся в готовом виде, в течение 3-х (№6) и 13-и лет (№3). Сорбционная активность обоих образцов была в среднем на 11,5 % ниже чем активность образцов ХЖ-90 производства 2004 года (№4 и №5), хранившихся в виде сырья на протяжении 12 лет. При этом сорбенты разных сроков хранения (3 и 13 лет) имели одинаковую сорбцию изотопа.

Из полученных данных можно заключить, что сроки хранения готового сорбента ХЖ-90 до 13 лет и вид виноматериалов, служащий сырьём для его производства на сорбционную активность ХЖ-90 не влияют.

Выводы

1. Хроническое облучение мышей в суммарной дозе 1,4 Гр не вызывает существенных отклонений в эффективности применения ферроцина.
2. Острая лучевая болезнь тяжёлой степени вызывает выраженную тенденцию к ускорению выведения ^{137}Cs из организма облучённых мышей.
3. Механический стресс не влияет на эффективность применения ферроцина у морских свинок. У крыс сорбционная эффективность ферроцина снижается.
4. Острый холодовой, тепловой и двигательный стресс вызывают снижение эффективности применения ферроцина.
5. Увеличение общей упитанности крыс и количества подкожной жировой клетчатки ведёт к уменьшению отрицательного воздействия острого холодового стресса на эффективность применения ферроцина.
6. Ферроцианидно-бентонитовый сорбент ХЖ-90 малотоксичен. Повышение рабочей концентрации и хранение готового сорбента в течение 13 лет не ведёт к возрастанию его хронической токсичности.
7. Сорбционная активность однотипных ферроцианидных сорбентов цезия практически не различается между собой, и на нее не влияют вид исходного сырья и сроки хранения готового сорбента от 3-х до 13 лет.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Куренков Д.В. Влияние острой лучевой болезни на эффективность сорбции ^{137}Cs ферроцином. / Сборник докладов научной конференции «Проблемы экотоксикологического, радиационного и эпизоотологического мониторинга» г. Щёлково, 2004 г.
2. Куренков Д.В. Изучение эффективности ферроцианидных сорбентов радиоцезия в экспериментах *in vitro*. / Сборник докладов научной конференции «Проблемы экотоксикологического, радиационного и эпизоотологического мониторинга» г. Щёлково, 2004 г.
3. Куренков Д.В. Влияние стресса на сорбционную активность ферроциана у крыс и морских свинок. / «Проблемы экотоксикологического, радиационного и эпизоотологического мониторинга.» Материалы Всероссийской научно-практической конференции, посвящённой 45-летию ФГНУ ВНИВИ. г. Казань 2005 г., с. 198-202.
4. Бударков В.А., Куренков Д.В., Зарванская С.А., Лаптев Д.К. Эффективность применения ферроцианидных сорбентов при хроническом и остром облучении животных. / «Современная ветеринарная защита коров высокопродуктивных пород», 23-24 июня 2005 года. Материалы 1-й научно-практической конференции. г. Воронеж 2005 г. с. 10-11.
5. Д.В. Куренков, Ю. Б. Кудряшов, В.А. Бударков Сорбционная эффективность ферроциана при остром холодном стрессе у крыс. // Материалы Международного симпозиума «Научные основы обеспечения защиты животных от экотоксикантов, радионуклидов и возбудителей опасных инфекционных заболеваний», 28 – 30 ноября 2005 года., посвящённого 45-летию образования ФГУ ВНИВИ. г. Казань, 2005.
6. Бударков В.А., Куренков Д.В., Зарванская С.А. Применение ферроцианидных сорбентов в условиях острого и хронического облучения животных // Материалы Международного симпозиума «Научные основы обеспечения защиты животных от экотоксикантов, радионуклидов и возбудителей опасных инфекционных заболеваний», 28 – 30 ноября 2005 года., посвящённого 45-летию образования ФГУ ВНИВИ. г. Казань, 2005.