

Експериментальні дослідження

УДК 616-006-089:615.273.53

С.С.Кіреєва, М.В.Сидоренко

ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ЗМІНИ В КЛІТИНАХ КІСТКОВОГО МОЗКУ МИШЕЙ З РІЗНИМ ГЕНОТИПОМ ЗА ДІЇ ТЕРАПЕВТИЧНИХ ДОЗ ЦИКЛОФОСФАНУ ТА ЦИСПЛАТИНИ

Відділення біотехнічних проблем діагностики (зав. - к.м.н. М.В.Сидоренко)
Інституту проблем кріобіології та кріомедицини НАНУ, м. Київ

Резюме. Виявлена суттєва генотоксична дія хіміопрепарату цисплатини (ЦП, "Ebewe" Австрія; одноразові терапевтичні дози: 1,5, 3 мг/кг маси тіла; курсова терапевтична схема: доза 3 мг/кг маси тіла, 6 ін'єкцій, інтраперитонеально, по одній щоденно, з 4-ї доби перещеПЛення) на клітини кісткового мозку інтактних мишей лінії C57BL/6, а також із карциномою LLC. За дії цисплатини за терапевтичною схемою в клітинах кісткового мозку мишей лінії C57BL/6 з карциномою LLC відмічена індукція апоптозу та суттєве зростання рівня аберантних клітин. При введенні препарату кількість аберантних клітин зростала і перевищувала спонтанний рівень у 5,7 раза. Хроматидні розриви - переважний тип

хромосомних аберацій у клітинах кісткового мозку. Після введення препарату рівень аберантних клітин був високим і перевищував спонтанний у 2,6 раза та було зафіксовано клітини зі стійкими хромосомними аберациями (кінцеві делеції, ізохроматидна делеція). У цей термін у периферичній крові виявлено незрілі нейтрофільні гранулоцити. Отримані дані свідчать про наявність у кістковому мозку клітин із нестабільним геномом та можливість генетичних наслідків – поява аномального клону клітин.

Ключові слова: циклофосфан, цисплатина, генотип, апоптоз, аберантні клітини, хроматидні розриви, нестабільність геному.

Вступ. Застосування в клінічній онкології хіміопрепаратів, які пошкоджують ДНК, створюють умови тривалого контакту організму онкологічного хворого з генотоксичними чинниками та ризик виникнення вторинних пухлин, які розглядають як серйозний побічний ефект сучасної протипухлинної терапії [4,5,6]. Високий мутагенний та канцерогенний потенціал сучасних хіміопрепаратів та наявність генетичного поліморфізму в чутливості організму до генотоксичних чинників вимагають експериментальних досліджень рівня індукованих генетичних пошкоджень у соматичних клітинах організму з різним генотипом для оцінки генетичного ризику канцерогенезу [1,4,7].

Мета дослідження. Дослідити цитогенетичні зміни в клітинах кісткового мозку, межі їх відновлення та збереження в мишей із різним генотипом за дії терапевтичних доз хіміопрепаратів циклофосфану та цисплатини, які використовуються в комплексній терапії злоякісних пухлин.

Матеріал і методи. Експерименти проведені на нелінійних мишах та мишах лінії C57BL/6, самках віком 2,5-3 місяці, масою 20-25г. Всього в експериментах використано: нелінійні миші – 30, миші лінії C57BL/6 – 30, та миші лінії C57BL/6 з перещеПЛеною легеневою карциномою Льюїс (LLC) – 118. Карцинома LLC перещеПлювалася внутрішньом'язово ($2,5 - 3,0 \times 10^5$ клітин) в 0,2 мл суспензії на середовищі 199. Об'єкт дослідження: кістковий мозок та периферична кров. Для дослідження використовували хіміопрепарати: циклофосфан (ЦФ, Росія) в одноразових дозах: 10, 25 та 40 мг/кг маси тіла тварини, інтраперитонеально (і.п.), та цисплатину (ЦП, "Ebewe" Австрія) в одноразових дозах: 1,5 та 3,0 мг /кг м.т., і.п. та за терапевтичною схемою: ЦП, доза 3 мг/кг м.т., 6

ін'єкцій, і.п., по одній щоденно, починаючи з 4-ї доби перещеПЛення карциномою LLC. Циклофосфан розчиняли у фізіологічному розчині, цисплатину - у воді для ін'єкцій. Препарати вводили по 0,2 мл і.п. Дослідження дії препаратів в одноразових дозах проводили на другу добу (через 48 год) після введення препаратів. Дослідження дії цисплатини на кістковий мозок та периферичну кров при введенні за терапевтичною схемою мишам C57BL/6 з карциномою LLC проводилося через 24 год після кожної ін'єкції препарату в таких термінах обстеження: при введенні препарату на 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9; на 18-22-гу і на 24-ту доби після введення препарату; по 12 тварин на кожний термін (6 тварин для цитогенетичного дослідження, 6 тварин для дослідження кісткового мозку та периферичної крові). Дослідження включало: оцінку в кістковому мозку рівня аберантних клітин (АК%) та хромосомних аберацій (ХА) у них після дії одноразових доз циклофосфану та цисплатини в нелінійних мишей і в мишей лінії C57BL/6. За дії цисплатини при введенні препарату, за терапевтичною схемою, мишам лінії C57BL/6 з карциномою LLC проводили оцінку в кістковому мозку рівня аберантних клітин (АК%) та хромосомних аберацій (ХА) у них, рівень клітин в апоптозі (апоптичний індекс, АІ%), оцінку цитотоксичності (цитотоксичний індекс, ЦІ%), рівень клітин в апоптозі (АІ%) у лімфоцитах та цитологічний аналіз мазків периферичної крові.

Для цитогенетичного дослідження препарати клітин кісткового мозку готували загальноприйнятим методом одержання метафаз із клітин кісткового мозку [2]. Для накопичення метафаз тваринам за 1,5 год. до взяття клітин кісткового

мозку вводили колхіцин ("Fluka", Швейцарія) у дозі 4 мг/кг м.т. Тварин забивали під ефірним наркозом. Клітини кісткового мозку з кістки стегна вимивали гіпотонічним розчином KCl (0,54%), готували суспензію клітин та інкубували в цьому ж розчині в термостаті при 37°C, 20 хв. Фіксацію клітин проводили в суміші метилового спирту з оцтовою кислотою (3:1) і готували сухоповітряні препарати. Препарати фарбували 2% фарбою – Гімза ("Merk", Німеччина) на фосфатно-сольовому буфері (ФСБ, pH=6,8). Аналізували по 50-100 метафазних платівок на кожне спостереження. Досліджували по 6 тварин на кожну дозу препарату. Хромосомні аберації визначали згідно з принципом, розробленим ВООЗ для оцінки та виявлення мутагенних та канцерогенних хімічних речовин [3]. При цитогенетичному аналізі (15x100, мікроскоп "ZEISS", Німеччина) враховували метафазні пластинки з ахроматичними пробілами у хромосомах, поодинокими та парними фрагментами, з хромосомними обмінами, хроматидними та хромосомними розривами і клітини з множинними пошкодженнями хромосом (5 і більше пошкоджень у клітині). Рівень аберантних клітин обчислювали у відсотках. Апоптичні клітини виявляли за допомогою флуоресцентного барвника Хьост 33342 (Hoechst 33342, Sigma) [7]. Клітини кісткового мозку із кісточки стегна вимивали ФСБ (pH 7,4), а лімфоцити периферичної крові промивали у ФСБ (pH 7,4) та центригували проби 10 хв (900g), потім проби забарвлювали протягом 30 хв. Розчин готувався безпосередньо перед забарвленням із маточного розчину (10 мг Hoechst 33342 в 1 мл деіонізованої води) спочатку в такому співвідношенні: 1 мкл маточного розчину на 1 мл ФСБ (pH 7,4) з бичачим - сироватковим альбуміном (БСА), а потім з цього розчину брали 10 мкл на 1 мл ФСБ (pH=7,4) з БСА. Після процедури забарвлення проби центрифугували (900g), зливали супернатант, осад промива-

ли двічі в розчині ФСБ (pH 7,4) з БСА. Фіксацію клітин проводили в суміші гліцерин-параформальдегід (1:4). Після фіксації суміш клітин наносили на предметне скло, краї предметного скельця заливали гарячим парафіном і аналізували під люмінесцентним мікроскопом (режим люмінесценції 350-365nm) у поєднанні з фазовоконтрастною мікроскопією. Апоптичні клітини виявляли за специфічним інтенсивно-смагдовим світінням ядер. Кількість клітин в апоптозі підраховували в 300-500 клітинах і апоптичний індекс (AI) - у відсотках. Оцінку цитотоксичності цисплатини проводили загальноприйнятим тестом з трипановим синім: клітини кісткового мозку вимивали 1 мл ФСБ (pH=7,4) і підраховували в камері Горяєва протягом 3хв і цитотоксичний індекс (ЦІ, загиблі клітини) у відсотках.

Аналіз цитологічних змін у клітинах кісткового мозку та периферичної крові мишей проводили на цитологічних препаратах (мазки), пофарбованих за Папенгеймом (Май-Грюнвальд-Гімза). Основні кількісні результати наведені у відсотках та оброблені методом варіаційної статистики за t-критерієм Стюдента.

Результати дослідження та їх обговорення. Як показали дослідження, в інтактних нелінійних мишей та мишей лінії C57BL/6 кількість аберантних клітин у кістковому мозку не виходила за межі показників спонтанного мутаційного процесу [3]. Ці показники використані нами як спонтанний рівень аберантних клітин при порівнянні отриманих результатів у проведених експериментах (табл.1). При навантаженні організму мишей циклофосфаном та цисплатиною в одноразових низьких дозах і в дозах, що не виходять за межі терапевтичних, виявлена кластогенна дія цих препаратів на клітини кісткового мозку нелінійних мишей та мишей лінії C57BL/6. Кластогенний ефект препаратів за рівнем аберантних клі-

Таблиця 1

Рівень аберантних клітин у кістковому мозку мишей при дії одноразових терапевтичних доз циклофосфану та цисплатини на організм нелінійних мишей та мишей лінії C57BL/6

Досліджені групи тварин	Кількість обстежених метафаз на тварину	Доза препарату (мг/кг м.т.)	Рівень аберантних клітин (%)
Нелінійні миші (н/л)			
Контроль			Спонтанний
н/л (n=5)	100	-	1,2 ± 0,4
Дослідні групи			Індукований
н/л + ЦФ (n=5)	100	10	1,5 ± 0,3
н/л + ЦФ (n=5)	100	25	6,0 ± 0,9
н/л + ЦФ (n=5)	50	40	15,6 ± 1,8
н/л + ЦП (n=5)	100	1,5	1,8 ± 0,6
н/л + ЦП (n=5)	100	3,0	7,8 ± 1,2
Миші лінії C57BL/6			
Контроль			Спонтанний
C57BL/6 (n=5)	100	-	1,9 ± 0,5
Дослідні групи			Індукований
C57BL/6 + ЦФ (n=5)	100	10	2,8 ± 0,5
C57BL/6 + ЦФ (n=5)	100	25	8,5 ± 0,9
C57BL/6 + ЦФ (n=5)	100	40	22 ± 1,4
C57BL/6 + ЦП (n=5)	100	1,5	2,2 ± 0,8
C57BL/6 + ЦП (n=5)	100	3,0	10 ± 1,4

тин і структурою хромосомних аберацій в абера-
нтних клітинах суттєво перевищував спонтанний
рівень і залежав від генотипу мишей, механізму
пошкоджувальної дії препарату на ДНК та дози
препарату. За генотипом найбільш чутливі кліти-
ни кісткового мозку мишей лінії C57BL/6.

Виявлені генотипові відмінності в рівні абе-
рантних клітин внаслідок дії циклофосфану на
мишей із різним генотипом можна пояснити особ-
ливостями метаболізму цього кластогена. Цикло-
фосфан належить до промутагенів, а їх метаболізм
може залежати від індивідуальних генетичних
відмінностей, які зумовлені поліморфізмом генів
[1,8]. За дії цисплатини виявлено розширення спе-
ктра хромосомних аберацій: ацентричні кільця,
збільшення парних та ацентричних фрагментів,
поява хроматидних розривів у хромосомах. Препар-
ати цисплатини належать до неklasичних алкілю-
ючих сполук. Внутрішньоклітинною мішенню
цисплатини є ДНК. Вона спричиняє розриви в
ДНК, що призводить до появи аберагантних клітин
із хроматидними розривами у хромосомах [9,10].
Генотоксична дія досліджених препаратів в одно-
разових терапевтичних дозах (ЦФ 25 і 40; ЦП 1,5 і
3 мг/кг м.т., і.п.) призводить до підвищення рівня
аберагантних клітин, що свідчить про неможливість
системи репарації ДНК відновити весь об'єм по-
шкоджень у ДНК клітин кісткового мозку за тера-
певтичних доз цих хіміопрепаратів (рис. 1,2). Ви-
явлені генетичні зміни, індуковані циклофосфа-
ном та цисплатиною, є суттєвими генетичними
пошкодженнями і створюють передумови появи
клітин з нестабільним геномом.

Дослідження динаміки змін у клітинах кіст-
кового мозку та в периферичній крові мишей
лінії C57BL/6 з карциномою LLC при терапії за
дії цисплатини за курсовою терапевтичною схе-
мою (ЦП, 3, 6 ін., і.п. по одній щоденно) та наслі-
дкі її дії після терапії показало, що молекуляр-
но-генетичні зміни передують цитоморфологіч-
ним змінам у популяціях клітин кісткового мозку

і проявляються вже на 2 - 3-тю доби після уве-
дження препарату (табл. 2). Клітини в апоптозі
серед клітин кісткового мозку виявлялися вже на
2-гу добу обстеження, після 1-ї ін'єкції препарату
(доза ЦП - 0,06 - 0,075 мг на м.т.) і максимальний
рівень апоптичного індексу припадав на другу та
третю доби обстеження. Апоптичний індекс у
лімфоцитах периферичної крові в контрольних
спостереженнях становив $10 \pm 0,80\%$, а в дослідній
групі максимальний рівень його припадав на 4-ту
добу обстеження і становив $25 \pm 0,40\%$. Апоптич-
ний індекс різко знижувався, починаючи з 4-ї
доби обстеження, а цитотоксичний індекс пара-
льно в цих же спостереженнях зростав. Так, на
2-3-тю доби обстеження цитотоксичний індекс у
середньому становив $48,7 \pm 0,79\%$ та $23,6 \pm 0,33\%$
відповідно, і в цих же спостереженнях середнє
значення апоптичного індексу знаходилося в од-
накових межах із цитотоксичним - $40,2 \pm 0,88\%$ та
 $26,3 \pm 0,40\%$ відповідно. Це свідчить про те, що
трипановий синій у цей термін виявляв у загаль-
ній масі клітин кісткового мозку загиблі клітини,
які майже всі були в апоптозі. При подальшому
уведенні препарату, починаючи з 4-ї доби обсте-
ження, відмічається різке падіння апоптичного
індексу, що свідчить про незначний внесок загиб-
лих клітин шляхом апоптозу в цитотоксичний
індекс. Отримані результати можна пояснити
тим, що за дії цисплатини на кістковий мозок
спрацьовують два механізми загибелі клітин: на
початку терапії при малих дозах (0,06-0,75 мг на
м.т.) клітини гинуть шляхом апоптозу - включа-
ється молекулярно-генетична програма на гено-
токсичне пошкодження, індуковане цисплати-
ною, спрямована звести ризик мутацій до мініму-
му. При збільшенні сумарно уведеної дози препа-
рату загибель клітин викликана вже цитотоксич-
ною дією хіміопрепарату. Цисплатина в малих
дозах є класичним індуктором апоптозу [9, 10],
про що свідчать і отримані результати, але це не
виключає наявності життєздатних клітин кістко-

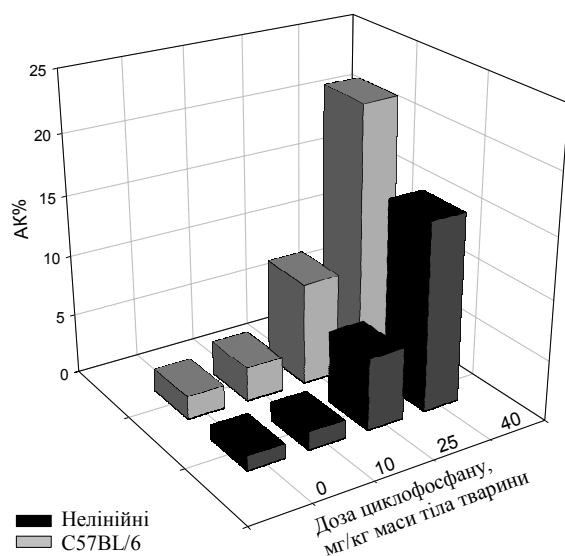


Рис. 1. Рівень аберагантних клітин залежно від генотипу
мишей та дози циклофосфану
AK% – рівень аберагантних клітин, %

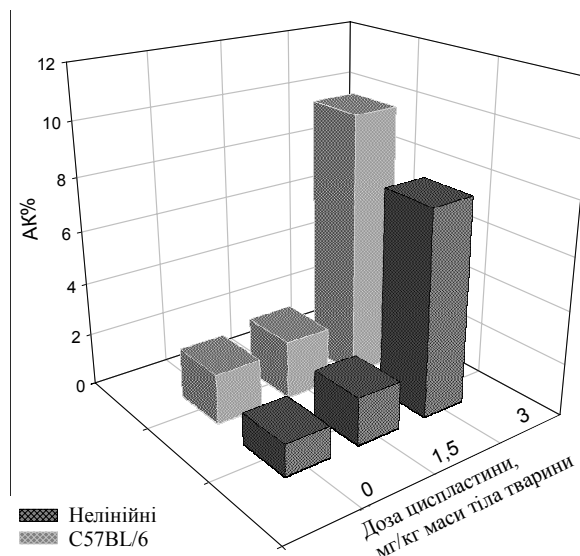


Рис. 2. Рівень аберагантних клітин залежно від генотипу
мишей та дози цисплатини
AK% – рівень аберагантних клітин, %

Таблиця 2

Узагальнені дані генотоксичної дії цисплатини на клітини кісткового мозку мишей лінії C57BL/6 з перешепленою карциномою Льюїс (LLC) за уведення препарату за курсовою терапевтичною схемою

Групи тварин	Термін обстеження (доба після уведення препарату)	Граничні сумарні дози цисплатини в мг/кг маси тіла (20-25 г)	Цитотоксичний індекс, % (M±m)	Апоптичний індекс, % (M±m)	Рівень аберантних клітин, % (M±m)	Кількість хроматидних розривів у хромосомах	Відсоток клітин з розривами більше 5
Контроль, інтактні миші C57BL/6 (n=10)	-	-	-	-	1,9±0,5	-	-
Миші C57BL/6 + LLC +1ін. (n=12)	2	0,06-0,075	48,7±0,79*	40,2±0,88*	6,2±0,60	28,0	36,6
Миші C57BL/6 + LLC +2ін. (n=12)	3	0,12-0,15	23,6±0,33*	26,3±0,40*	7,0±1,0	31,0	28,6
Миші C57BL/6 + LLC +3ін. (n=12)	4	0,18-0,23	36,0±0,30*	7,0±0,0	7,8±1,2	32,0	25,6
Миші C57BL/6 + LLC +4ін. (n=12)	5	0,24-0,30	35,0±0,88*	6,3±0,9	8,7±0,90	36,0	34,4
Миші C57BL/6 + LLC +5ін. (n=12)	6	0,30-0,38	61,6±0,34*	4,6±0,33	10,0±1,4	45,0	30,0
Миші C57BL/6 + LLC +6ін. (n=12)	7	0,36-0,45	68,6±0,33*	4,0±0,4	11,0±0,6	53,0	36,0
Миші C57BL/6 + LLC після уведення (n=12)	8	-	16,0±0,0*	2,6±0,33*	12,5±1,3	51,0	40,0
Миші C57BL/6 + LLC після уведення (n=6)	9	-	13,3±2,88*	0,5±0,22*	-	-	-
Миші C57BL/6 + LLC після уведення (n=6)	18-22, 24	-	-	-	5,0±0,9	13,0	40,0

Примітка. * - Відмінності статистично значимі; ін. - ін'єкції

вого мозку з пошкодженнями в геномі, що підтверджується цитогенетичним дослідженням (табл. 2, рис.3). Високий рівень аберантних клітин з хроматидними розривами відмічався вже на початку уведення препарату (2-га доба обстеження), був суттєвим і перевищував спонтанний рівень у 3,2 раза. Слід зазначити, що цитоморфологічних змін у кістковому мозку та в периферичній крові в цей

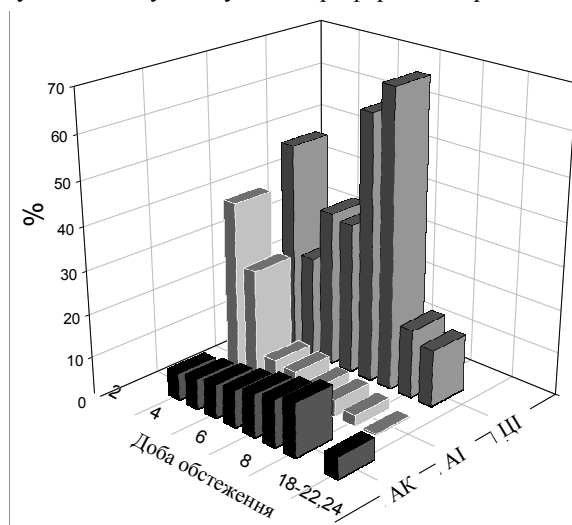


Рис. 3. Динаміка змін апоптичного індексу (AI), цитотоксичного індексу (CI) та рівня аберантних клітин (AK) у кістковому мозку мишей C57BL/6 з карциномою LLC за курсового уведення цисплатини та після уведення

термін не відмічалось. Після останньої ін'єкції препарату (7-ма доба обстеження) рівень аберантних клітин перевищував спонтанний рівень у 5,7 раза. Аналіз структури хромосомних аберацій показав, що хроматидні розриви були переважним типом аберацій, індукованих цисплатиною. Уведення препарату за терапевтичною схемою призводить до накопичення одно- та двониткових розривів у ДНК, про що свідчить підвищення рівня клітин із множинними хроматидними та хромосомними абераціями, що несумісні з подальшим життям цих клітин [3], але апоптоз не нівелює повністю клітини з генетичними пошкодженнями. Після уведення препарату в межах 18-24 діб обстеження виявлено також підвищений рівень аберантних клітин, який перевищував спонтанний у 2,6 раза, що вважається суттєвим рівнем пошкоджень у популяції клітин [3]. При аналізі структурних перебудов хромосом у каріотипі, які переважно були хроматидними розривами, зафіксовано клітини зі стійкими хромосомними абераціями (кінцеві делеції та ізохроматидна делеція). Життєздатні клітини з невідрепарованими або частково відрепарованими генетичними пошкодженнями є джерелом клітин із нестабільним геном, що, у свою чергу, призводить до появи клітин із трансформованим генотипом [6,11,12]. Про це свідчать і отримані дані. У тій частині клітин, де утворюються стійкі хромосомні абера-

ції і зберігається їх життєздатність, створюється нестабільність геному, що за певних умов, особливо при повторних курсах терапії, може призвести до появи аномального клону клітин. Зареєстроване збільшення рівня аберантних клітин у кістковому мозку за дії цисплатини в порівнянні із спонтанним рівнем у 3,2-5,7 раза після її дії у 2,6 раза, та поява клітин зі стабільними хромосомними абераціями, є суттєвим сигналом про можливість генетичних наслідків для популяції клітин кісткового мозку [10,11,12]. Аналіз цитограм кісткового мозку показав пригнічення проліферації та диференціації всіх гілок гемопоєзу, починаючи з 4-ї доби введення препарату, та поступове відновлення гемопоєзу після введення, починаючи з 9-ї доби обстеження. При аналізі мазків периферичної крові, починаючи з 9-ї доби обстеження після введення препарату, у периферичній крові виявлено незрілі нейтрофільні гранулоцити. Поява незрілих клітин гранулоцитарного ряду в периферичній крові характерна для мієлодиспластичного синдрому, при якому відбувається порушення дозрівання клітин кісткового мозку і виникають ознаки неефективного гемопоєзу, які можуть зумовити розвиток лейкозу. Відмічені зміни безумовно є результатом генетичних пошкоджень у клітинах кісткового мозку, індукованих цисплатиною.

Висновки

1. За генотипом найбільш чутливими до генотоксичної дії хіміопрепаратів циклофосфану та цисплатини були клітини кісткового мозку мишей лінії C57BL/6.

2. Зареєстрована нестабільність геному та поява клітин зі стійкими хромосомними абераціями в клітинах кісткового мозку мишей лінії C57BL/6 з карциномою LLC після терапії цисплатиною за курсовою схемою є суттєвим сигналом про можливість генетичних наслідків – появи аномального клону клітин.

3. Рівень клітин в апоптозі та рівень аберантних клітин з оцінкою хроматидних розривів у них є об'єктивними індикаторами генотоксичності і можуть бути використані для оцінки рівня генотоксичності хіміопрепаратів. Крім того, рівень клітин в апоптозі та рівень аберантних клітин можуть стати основою для розробки методу діагностики індивідуальної чутливості хворих до хіміопрепаратів, що пошкоджують ДНК, для скринінгу хворих із гіперчутливим генотипом з метою визначення ризику вторинного канцерогенезу.

Перспективи подальших досліджень. Передбачається розробка превентивних засобів захисту клітин кісткового мозку від гемотоксичної дії препаратів циклофосфату та цисплатини, які широко використовуються в клінічній онкології.

Література

1. Глазко Т.Т., Сафонова Н.А., Столина М.Р. и др. Цитогенетическая изменчивость у мышей линии C57BL/6, BALB/c и CC57W/Mv в 30-км зоне Чернобыльской АЭС // Доповіді НАНУ.- 1996. - №7. - С. 137-143.
2. Методы работы с хромосомами животных / Макгрегор Г., Варли Дж.- М.: Мир, 1986.- 286с.
3. Руководство по краткосрочным тестам для выявления мутагенных и канцерогенных химических веществ. Подготовлено Международной комиссией по защите от мутагенов и канцерогенов окружающей среды.-Женева: ВОЗ, 1989.-212 с.
4. Busch D. Genetic susceptibility to radiation and chemotherapy injury: diagnosis and management // Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.- 1994. - Vol. 30, №4. - P. 997-1002.
5. Macolm A.S., McCaffrey R.R., Karp J.E. Secondary leukemias: Challenges and research directions // J. of Nat. Cancer Institute-1996. - Vol. 88, №7.-P. 407-418.
6. Karp J.E., Malcolm A.S. Secondary leukemias: Is drug modifying risks of scheduling important? // J. of Nat. Cancer Institute - 1996. - Vol. 88, №24. - P. 1787-1789.
7. Swiateska J., Dzieciol J., Anchim T. et al. Influence of estrogen, antiestrogen and UV-light on the balance between proliferation and apoptosis in MCF-7 breast adenocarcinoma cells. // Neoplasma.- 2000. - Vol. 47, №1. - P. 15-24.
8. Morad M., Zawahri M. EI. Non-random distribution of cyclophosphamide-induced chromosome breaks // Mutation Research. -1977.- Vol. 42 - P.125-130.
9. Yarema K.J., Wilson J.M., Lippard S.S., Essigmann J.M. Effects of DNA adduct structure and distribution on the mutagenicity and genotoxicity of two platinum anticancer drugs // J. Mol. Biol. - 1994. - Vol. 236. - P. 1034-1048.
10. Koratkar R., Vasudha A., Ramesh G., Padma M., Das U.N. Effect of melatonin on cis-platinum induced genetic damage to the bone marrow cells of mice // Med. Sci. Res.- 1992. - Vol. 20-P. 179-180.
11. Dijt F.J., Fichtinger-Schepman A M.J., Berends F., Reedijk J. Formation and repair of cisplatin – induced adducts in DNA in cultured normal and repair – deficient human fibroblasts // Cancer Res.- 1988. - Vol. 48, №21.- P. 6058-6062.
12. Jasin M. Chromosome breaks and genomic instability // Cancer Invest.-2000.- Vol. 18, №1.- P.78-86.
13. Knudson A.G. Two genetic hits (more or less) to cancer // Nature Rev. Cancer. - 2001.- Vol. 1.- P.157-162.

CYTOGENETIC ALTERATIONS IN BONE MARROW CELLS OF MICE WITH A DIFFERENT GENOTYPE UNDER THE INFLUENCE OF THERAPEUTIC DOSES OF CYCLOPHOSPHAMIDE AND CIS-PLATINUM

S.S.Kirieleva, M.V.Sydorenko

Abstract. The authors have revealed a considerable genotoxic effect of the cis-platinum chemopreparation (cis-platinum, „Ebewe”, Austria; single therapeutic doses: 1.5, 3mg/kg of the body weight; the course drug dosage regimen: in a dose of 3mg/kg of the body weight, 6 injections, one every day, beginning with the fourth 24 hour period of reinnoculation on the bone marrow cells of intact mice of the C57BL/6 line intraperitoneally, as well as with carcinoma LLC). The induction of apoptosis and a considerable increase of the level of aberrant cells were noticed under the action of cis-platinum according to the therapeutic drug regimen in the cells of the bone marrow of mice of the C57BL/6 line with LLC carcinoma. Upon the introduction of the drug the number of the aberrant cells increased and exceeded the spontaneous level 5,7 times. Chromatide breaks were a predominant type of chromosomal aberrations in the bone marrow cells. Upon the administration of the drug the level of aberrant cells was high and exceeded the spontaneous level 2.6 times. Besides, cells with stable chromosomal aberrations were fixed (end deletions, isochromatide deletion). During this period immature neutrophilic granulocytes were detected in the peripheral blood. The obtained findings are indicative of the availability in the bone marrow of cells with an unstable genome and a possibility of genetic consequences – the appearance of an abnormal clone of cells.

Key words: cyclophosphan, cis-platinum, genotype, apoptosis, aberrant cells, chromatide breaks, instability of genome.

Institute of Cryobiological and Cryomedical Problems of the National Academy of Sciences of Ukraine (Kyiv)

Buk. Med. Herald. – 2006. – Vol.10, №3.- P.105-110

Надійшла до редакції 16.05.2006 року

УДК 611.711.013

В.В.Кривецький

КРОВОПОСТАЧАННЯ ГРУДНОГО ВІДДІЛУ ХРЕБТНОГО СТОВПА У ПЛОДІВ ТА НОВОНАРОДЖЕНИХ ЛЮДИНИ

Кафедра анатомії людини (зав. – проф. Б.Г.Макар)

Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці

Резюме. Комплексом морфологічних методів дослідження вивчено особливості кровопостачання грудного відділу хребтного стовпа 45 плодів, 30 новонароджених. Досліджено розвиток і становлення кровоносних судин грудного відділу хребта, індивідуальну мін-

ливість у різних вікових періодах, а також міжсудинні анастомози.

Ключові слова: хребтний стовп, кровопостачання, онтогенез, людина.

Вступ. Нормальний розвиток кісткового органа знаходиться в повній відповідності з кровопостачанням і навантаженням. Відхилення в кровопостачанні, зміна навантаження неминуче позначаються на структурі і формі органа [2-3]. Залежність структури і форми кісткового органа від адекватного кровопостачання і навантаження уможливила змінювати форму органа.

Як відомо, розвиток скелета тісно пов'язаний з кровоносною системою. Кістка – не тільки тверда речовина, це комбінація спеціальних клітинних елементів із кровотворною і кровопровідною системами. Актуальність поставленої задачі визначається необхідністю пошуку рішень складної проблеми ортопедії – безкровного лікування хворих із викривленням хребта [2-5].

Зміни форми хребта можуть відбуватися з різних причин, але, безсумнівно, фактором є неадекватність між кровопостачанням і навантаженням. Вона і веде до зміни форми хребта, наслідком якого є сколіоз [6–10].

Кровоносні судини хребта досліджувалися багатьма авторами (К.А. Юдін, 1950; Г.А. Ілізаров, 1981; Панунцев Г.К., 2000 та ін.), однак у прената-

льному онтогенезі і новонароджених ці дослідження не проведені повною мірою [1].

Мета дослідження. Вивчити розвиток і становлення та індивідуальну мінливість будови кровоносних судин хребта в ранньому періоді онтогенезу людини.

Матеріал і методи. Дослідження проведено на 45 плодах і 30 новонароджених і складалося з декількох етапів:

1. Дослідження екстраорганичних артерій методами ін'єкції, препарування і рентгенографії.

2. Вивчення інтраорганичних артерій методом рентгенографії у фронтальній, сагітальній і горизонтальній площинах.

3. Визначення просторового розподілу артерій у хребцях методом просвітлення.

Як контрастну масу застосовували водяну суспензію свинцевого сурику.

Результати дослідження та їх обговорення. Проведене дослідження дозволяє вважати джерелами кровопостачання грудних хребців такі судини: реберно-шийний стовбур, підключичну, найвищу міжреберну і міжреберні артерії. Основними джерелами кровопостачання грудних хребців