



объединенный  
институт  
ядерных  
исследований  
дубна

5166 / 2-81

19/x-81

18-81-510

М.В.Голованов, Н.А.Гундорин, С.Ф.Гундорина,  
Б.Отгоолой, М.В.Фронтасьева, В.П.Чинаева,  
А.С.Шиловцева

О ПРИРОДНОЙ ДИСПЕРСИИ  
СОДЕРЖАНИЯ ЭЛЕМЕНТОВ  
В ТКАНЯХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Направлено в журнал "Медицинская радиология"

1981

Методические возможности нейтронного активационного анализа позволяют с высокой чувствительностью и производительностью проводить многоэлементный анализ пораженных и непораженных тканей при развитии экспериментального опухолевого процесса.

Ранее нами сообщалось<sup>/1/</sup> об исследовании содержания ряда элементов (K, Na, Ca, Mg, P, Cl) в тканях и биологических жидкостях животных. Значительный разброс данных от животного к животному не позволил дать количественного описания изменений показателей водно-солевого обмена при опухолевом процессе. Этот разброс при идентичности таких факторов как возраст, пол, сезонность, рацион питания и содержания отражает индивидуальные особенности подопытных животных<sup>/2/</sup>.

В настоящей работе проводится анализ природной дисперсии /рассеяния значений/ элементного содержания в тканях лабораторных животных /крысы-самцы в возрасте 2 и 5 месяцев/.

#### МЕТОДИКА И АНАЛИЗ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ДАННЫХ

Исследовалась группа из 25 животных. Все они происходили от одних и тех же самок питомника ВОНЦ АН СССР, были отсажены от них в одно и то же время и находились в одинаковых условиях содержания и питания. Забор тканей проводился по единой методике. В лабораторных условиях ВОНЦ было приготовлено 250 проб /печень, сердце, легкие, почки, селезенка, семенники, головной мозг, костная и мышечная ткань/. Образцы весом 200 - 1500 мг упаковывались в полиэтиленовые капсулы, предварительно обработанные 1%-ным раствором азотной кислоты /химически чистой/ и промытые 8-10 раз деионизованной водой в боксах из органического стекла. Высушивание биологических материалов проводилось в сублимационной установке ТГ-5.

Определение абсолютного содержания исследуемых элементов K, Cl, Br, Na, Ca, Mg, P проводилось с использованием специально приготовленных эталонов. В состав эталона эти элементы вводились в виде следующих соединений: KCl, KBr, NaHCO<sub>3</sub>, CaO, MgO, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>. В качестве наполнителя в эталонах использовалась сахароза. Во избежание ошибок, связанных с неравномерностью плотности потока нейтронов по длине капсулы, геометрические параметры проб и эталонов были выдержаны одинаковыми.

Облучение образцов проводилось в канале пневмотранспорта реактора ИБР-30 ЛНФ ОЯИИ с плотностью нейтронного потока до

ОБЪЕДИНЕННАЯ КОЛЛЕКЦИЯ

УЧЕБНО-НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА

БИБЛИОТЕКА

$3 \cdot 10^{10}$  н/(см<sup>2</sup>с). Для измерения наведенной активности использовался гамма-спектрометр, выполненный на основе полупроводникового Ge-Li-детектора объемом 50 см<sup>3</sup> и разрешением 3 кэВ по линии 1333 кэВ <sup>60</sup>Co.

Описание методики измерений и обработки результатов приведено в работе<sup>1/</sup>.

Было проведено 1500 элементоопределений для семи элементов К, Na, Са, Mg, P, Cl и Br в девяти тканях. Для анализа экспериментальных данных использовались стандартные статистические параметры<sup>3/</sup>. Для группы из n животных определяется среднее арифметическое значение содержания элемента в мг/г по сырому весу:

$$\bar{x} = \left( \sum_{i=1}^n x_i \right) / n \pm \sqrt{\frac{s^2}{n}}$$

Здесь  $s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}$  - дисперсия /при n ≤ 30/, которая складывается из аналитической погрешности методики  $s_{ан}^2$  и иско-

мой природной дисперсии  $s_{пр}^2$ . таким образом, что  $s_{пр} = \sqrt{s^2 - s_{ан}^2}$  со средним квадратичным отклонением  $\bar{s}_{пр} = s_{пр} / \sqrt{2n}$ .

Относительная величина природной дисперсии представляется через коэффициент вариации  $s_{пр}^k = (s_{пр} / \bar{x}) \cdot 100\%$  с ошибкой

$$\bar{s}_{пр}^k = s_{пр}^k \cdot \sqrt{\frac{1}{2n} + \left(\frac{s}{\bar{x}}\right)^2 / n}$$

Показателем разброса данных служит также вариационный размах, т.е. разница между максимальными и минимальными значениями R = (x<sub>макс.</sub> - x<sub>мин.</sub>).

С помощью критерия Стьюдента определяются доверительные пределы для искомого среднего значения  $\mu = \bar{x} \pm \frac{t_p \cdot s}{\sqrt{n-1}}$ , где t<sub>p</sub> - табулированное значение величины t, для которого t ≥ t<sub>p</sub> с вероятностью p при числе степеней свободы n-1.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В табл. 1 приведены результаты статистического анализа полученных данных по костной ткани двух групп здоровых животных. Наблюдаемые различия в элементном содержании согласуются с известным фактом изменения возрастных показателей минерального состава костной ткани<sup>4/</sup>. В других тканях такого различия не обнаружено, поэтому для этих тканей данные по двум группам животных 2- и 5-месячного возраста объединены.

Из результатов анализа мышечной ткани /табл. 2/ следует, что коэффициент природной вариации меняется от /8+1%/ для натрия до /15+5%/ для кальция, в то время как для магния он составляет /28+5%/.

Таблица 1

Сравнение результатов статистического анализа данных по костной ткани двух возрастных групп здоровых животных

Элемент	n	S мг/г	R мг/г	S <sub>ан.</sub> мг/г	S <sub>пр.</sub> ± S <sub>пр.</sub> мг/г	S <sub>пр.</sub> ± S <sub>пр.</sub> %	$\bar{x} \pm \frac{s_{ан} \cdot s}{\sqrt{n-1}}$ мг/г
Br	II	1,0 · 10 <sup>-3</sup>	3,5 · 10 <sup>-3</sup>	0,6 · 10 <sup>-3</sup>	0,84 ± 0,18 · 10 <sup>-3</sup>	13 ± 3	(6,6 ± 0,7) · 10 <sup>-3</sup>
Mg	II	0,35	1,0	0,2	0,29 ± 0,06	10 ± 2	2,9 ± 0,3
K	IV	0,41	1,3	0,3	0,28 ± 0,05	16 ± 3	1,7 ± 0,2
P	IV	6,9	20,0	3,0	6,2 ± 1,1	12 ± 2	52 ± 4,0
Cl	IV	0,23	0,52	0,05	0,22 ± 0,04	22 ± 4	1,0 ± 0,1
Na	IV	0,22	0,70	0,10	0,20 ± 0,03	7 ± 1	2,7 ± 0,1
Ca	IV	17,0	65,0	10,0	14,0 ± 2,0	9 ± 2	144 ± 9
Br	9	1,8 · 10 <sup>-3</sup>	5,0 · 10 <sup>-3</sup>	0,6 · 10 <sup>-3</sup>	(1,7 ± 0,4) · 10 <sup>-3</sup>	18 ± 4	(9,6 ± 1,5) · 10 <sup>-3</sup>
Mg	9	0,73	1,8	0,2	0,70 ± 0,16	9 ± 44	4,3 ± 0,6
K	9	1,0	2,6	0,5	0,9 ± 0,2	38 ± 9	2,5 ± 0,9
P	9	5,1	15	4,0	3,1 ± 0,7	4 ± 1	79 ± 4
Cl	9	0,21	0,70	0,05	0,21 ± 0,05	19 ± 5	1,1 ± 0,2
Na	9	0,44	1,3	0,2	0,39 ± 0,09	9 ± 2	4,4 ± 0,4
Ca	9	19,0	50,0	10,0	16,0 ± 4,0	6 ± 1	255 ± 15

(2 мес.)  
Костная ткань

(5 мес.)  
Костная ткань

Таблица 2

Результаты статистического анализа данных по мышечной ткани

Элемент	n	S	R	S <sub>om</sub>	S <sub>pp</sub> ± S <sub>pp</sub>	S <sub>pp</sub> ± S <sub>pp</sub>	S <sub>pp</sub> ± S <sub>pp</sub>	$\bar{x} \pm \frac{t_{0,995} \cdot S}{\sqrt{n-1}}$
		мг/г	мг/г	мг/г	мг/г	мг/г	%	мг/г
Br	19	0,7 · 10 <sup>-3</sup>	2,9 · 10 <sup>-3</sup>	0,4 · 10 <sup>-3</sup>	(0,58 ± 0,09) · 10 <sup>-3</sup>	14 ± 2		(4,0 ± 0,4) · 10 <sup>-3</sup>
Mg	19	0,15	0,40	0,05	0,14 ± 0,02	28 ± 5		0,51 ± 0,07
K	24	0,87	3,3	0,70	0,52 ± 0,08	11 ± 2		4,9 ± 0,4
P	24	0,46	1,4	0,3	0,34 ± 0,05	9 ± 1		3,7 ± 0,2
Ca	24	0,06	0,2	0,03	0,05 ± 0,01	9 ± 1		0,49 ± 0,03
Na	24	0,05	0,14	0,03	0,03 ± 0,004	8 ± 1		0,44 ± 0,02
Ca	5	0,018	0,05	0,015	0,01 ± 0,003	15 ± 5		0,07 ± 0,03

Отметим, что при анализе все органы, кроме печени, исследовались целиком. Из-за большого размера печени для анализа бралась только ее часть. Известно<sup>2/</sup>, что для такого органа, как почки, обнаружено изменение содержания Na и Cl в 5 раз по мере продвижения вглубь органа. Это обстоятельство побудило нас провести анализ проб, взятых из разных участков печени одного и того же животного. В табл. 3 приведены данные по абсолютному содержанию элементов в пяти пробах печени. Для Br, P, Cl, Na не наблюдается существенного различия, коэффициент вариации для этих элементов не превышает 4%, в то время как для Mg и K величина коэффициента природной вариации составляет /26,4+9,0/% и /19,4+6,4/%, соответственно.

В сводной табл. 4 представлены значения коэффициентов вариации содержания элементов в исследуемых тканях. В последнем столбце приведены средние значения коэффициента вариации по элементам: наибольшими средними отличаются почка и селезенка, наименьшими - костная и мышечная ткань. Максимальное значение усредненного по тканям коэффициента вариации характерно для брома. Это связано с его принадлежностью к микроэлементам, для которых биологический разброс существенно больше<sup>5/</sup>, чем для макроэлементов.

Полученное нами обобщенное среднее значение коэффициента вариации составило /17+3/% и согласуется с данными работ<sup>6/</sup> - 20% и<sup>8/</sup> - /10-30/%, хотя в<sup>7/</sup> разброс результатов анализа связывается с методическими погрешностями и отождествляется с коэффициентом воспроизводимости. В используемой нами методике этот коэффициент не превышает величины аналитической погрешности.

Для группы из пяти животных при коэффициенте вариации 17% и аналитической погрешности методики 5% величина 95%-ного доверительного интервала составляет +0,25x. Этот результат требует критического отношения к оценке получаемых экспериментальных данных, если различие в содержании элементов не превышает 25%, поскольку такое различие может быть следствием индивидуального биологического разброса.

Приведенные ниже примеры позволяют оценить возможности исследования изменений в элементном содержании при опухолевых процессах.

Вследствие прививки экспериментальной опухоли /карциносаркома Уокера/ в мышечную ткань правой задней лапки животного наблюдается изменение содержания Ca, P, Na, Mg в костной ткани подопытных животных /табл. 5/, которое превышает величину природной дисперсии.

В табл. 6 представлены данные, демонстрирующие высокое содержание Na, Cl и Br в прилежащей к опухоли мышечной ткани и в самой опухоли по сравнению с мышечной тканью здоровых животных.

Таблица 3

Содержание элементов в разных пробах печени одного здорового животного  
( $\bar{x} \pm S/\sqrt{n}$ )

Вес образца г	Br мкг/г	Mg мг/г	K мг/г	P мг/г	Cl мг/г	Na мг/г
1,31	7,5 ± 0,3	0,42 ± 0,06	3,6 ± 0,5	3,9 ± 0,3	1,27 ± 0,03	0,81 ± 0,02
1,27	7,6 ± 0,3	0,39 ± 0,02	3,8 ± 0,5	4,7 ± 0,3	1,23 ± 0,05	0,74 ± 0,03
1,48	7,0 ± 0,3	0,27 ± 0,01	1,9 ± 0,3	4,1 ± 0,2	1,13 ± 0,05	0,71 ± 0,03
1,20	7,3 ± 0,3	0,22 ± 0,01	3,5 ± 0,5	4,3 ± 0,3	1,25 ± 0,06	0,79 ± 0,04
1,18	7,1 ± 0,3	0,27 ± 0,01	3,1 ± 0,4	4,1 ± 0,2	1,15 ± 0,05	0,73 ± 0,03
$\bar{x}$	7,3 ± 0,1	0,31 ± 0,04	3,2 ± 0,3	4,2 ± 0,1	1,2 ± 0,03	0,75 ± 0,02
$S_{пр}^k \pm \tilde{S}_{пр}^k$	2,2 ± 0,7	26 ± 9	19,4 ± 6,4	3,7 ± 1,2	3,3 ± 1,1	4,0 ± 1,3

Таблица 4

Коэффициент вариации содержания элементов в исследованных тканях здоровых животных ( $S_{пр}^k \pm \tilde{S}_{пр}^k$ ) %

Элемент Ткань	Br	Mg	K	P	Cl	Na	Ca	Среднее по элементам
Костная ткань (2 мес.)	13 ± 3	10 ± 2	16 ± 3	12 ± 2	22 ± 4	7 ± 1	9 ± 2	13 ± 2
Костная ткань (5 мес.)	18 ± 4	9 ± 2	38 ± 11	4 ± 1	19 ± 6	9 ± 2	6 ± 1	15 ± 4
Мышечная ткань	14 ± 2	28 ± 6	11 ± 2	9 ± 1	9 ± 1	8 ± 1	15 ± 2	13 ± 2
Головной мозг	24 ± 4	20 ± 3	10 ± 1	19 ± 3	13 ± 2	12 ± 2	-	16 ± 3
Сердце	34 ± 6	11 ± 2	17 ± 3	20 ± 3	17 ± 3	14 ± 2	-	19 ± 3
Легкие	22 ± 4	17 ± 3	13 ± 2	21 ± 3	14 ± 2	12 ± 2	-	17 ± 3
Почки	32 ± 6	38 ± 7	21 ± 3	16 ± 2	15 ± 2	17 ± 2	-	23 ± 4
Селезенка	30 ± 5	31 ± 5	28 ± 4	11 ± 2	17 ± 3	16 ± 2	-	22 ± 4
Семенники	25 ± 4	24 ± 4	15 ± 2	17 ± 2	17 ± 2	21 ± 3	-	20 ± 3
Печень	25 ± 4	9 ± 1	20 ± 3	10 ± 1	19 ± 3	14 ± 2	-	16 ± 2
Среднее по тканям	24 ± 4	20 ± 4	19 ± 3	14 ± 2	16 ± 3	13 ± 2	12 ± 2	17 ± 3

Таблица 5

Содержание Ca, P, Mg, Na в костной ткани здоровых животных и опухоленосителей на 7-й день после прививки карциносаркомы Уокера при размере опухоли 4,6-8,5% от веса животного ( $\bar{x} \pm s/\sqrt{n}$ )

Элемент	Ca мг/г	P мг/г	Mg мг/г	Na мг/г
Здоровые животные (2 мес.) $n = 17$	144 ± 4	52 ± 1,7	1,7 ± 0,1*	2,7 ± 0,05
Опухолено- сители (2 мес.) $n = 4$	83 ± 4	33,2 ± 3,2	1,37 ± 0,07	2,07 ± 0,09

\* В этом случае  $n=6$

Таблица 6

Сравнительное содержание элементов в мышечной ткани, в прилежащей к опухоли мышечной ткани и в самой опухолевой ткани животных на 5-й день после прививки карциносаркомы Уокера при размере опухоли 0,3-0,8% от веса животного

Элемент	Ca мг/г	Na мг/г	Br мкг/г
Здоровые животные 2-х и 5-й мес. $n = 24$	0,49 ± 0,01	0,44 ± 0,01	4,0 ± 0,2*
Левая бедренная мышца опухолено- сителей 5 мес. $n = 3$	0,48 ± 0,08	0,53 ± 0,15	5,0 ± 0,9
Правая бедренная мышца опухолено- сителей 5 мес. $n = 3$	0,63 ± 0,08	0,75 ± 0,12	5,9 ± 0,9
Прилежащая к опу- холи мышечная ткань $n = 3$	3,06 ± 0,7	3,05 ± 0,7	30 ± 7
Опухолевая ткань $n = 3$	2,0 ± 0,1	2,1 ± 0,1	20,7 ± 4,0

\* В этом случае  $n=19$ .

Приведенные результаты свидетельствуют о перераспределении этих элементов в организме животного при развитии опухолевого процесса и подтверждают возможность его изучения при наличии природной дисперсии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Определены характерные параметры природной дисперсии содержания элементов K, Na, Ca, Mg, P, Cl и Br в девяти тканях лабораторных животных - беспородных крыс-самцов. Обобщенное среднее значение коэффициента вариации составляет  $17 \pm 3\%$ .

2. Для получения результатов с доверительными пределами  $\pm 0,25 \bar{x}$  на уровне достоверности 95% достаточно пяти животных в каждой экспериментальной группе.

3. Величина природной дисперсии содержания определяемых в работе элементов позволяет изучать направленность изменений в пораженных и непораженных тканях опухоленосителей /карциносаркома Уокера/.

Авторы благодарны В.М.Назарову и профессору А.И.Рудерману за внимание к работе, И.В.Казачевскому за полезные обсуждения, а также Р.Бакаловой и Е.А.Щербаковой за помощь при обработке экспериментальных данных.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Голованов М.В. и др. ОИЯИ, 18-12262, Дубна, 1979.
2. Кист А.А. Биологическая роль химических элементов и периодический закон. "ФАН", Ташкент, 1973.
3. Худсон Д. Статистика для физиков. "Мир", М., 1970.
4. Neuman W.F., Neuman M.W. The Chemical Dynamics of Bone Mineral. Univ. of Chicago Press, 1958;  
Красавина Б.С., Торбенко В.П. Минеральные ресурсы организма. "Наука", М., 1975.
5. Верховская И.Н. Бром в животном организме и его действие. Изд-во АН СССР, М., 1962; T.Sato, Kato T. J. of Radioanalyt. Chemistry 1979, v. 53, N1-2, p. 181.
6. Bowen H.J.M. Atomic Energy Review, 1975, v.13, No.3, p.458.
7. Казачевский И.В. и др. В кн.: Труды III совещания по использованию новых ядерно-физических методов для решения научно-технических и народнохозяйственных задач. ОИЯИ, P18-12147, Дубна, 1979, с.247.

Рукопись поступила в издательский отдел  
5 августа 1981 года.