

УДК:612.017.1-613.648.2

Г.С. Шалгимбаева, С.С. Ибраев, З.А. Хисметова, Б.А. Жетписбаев

Государственный медицинский университет города Семей

ОТДАЛЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ МАЛОЙ ДОЗЫ ГАММА-ИЗЛУЧЕНИЯ. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ АСПЕКТ

Аннотация

В отдаленном периоде после действия малой дозы гамма-излучения на фоне лимфоцитоза регистрируется снижение количества субпопуляции Т-лимфоцитов с хелперной и увеличение Т-лимфоцитов с супрессорной активностью, повышается функция неспецифического фагоцитарного звена иммунитета. Недостаточность функции гуморального звена иммунитета проявляется в повышении количества В-лимфоцитов, антителообразующей способности селезенки и низкой концентрации ЦИК в сыворотке крови.

Ключевые слова: отдаленный период, малая доза, лимфоцитоз, субпопуляции Т-лимфоцитов, фагоцитарное звено, гуморальное звено, В-лимфоциты, селезенка, концентрация ЦИК в сыворотке крови.

Актуальность

Ионизирующее воздействие в зависимости от тяжести и длительности воздействия вызывает иммунодефицитное состояние, в котором задействованы все звенья иммунной системы [1,2,3]. В настоящее время наименее изученными являются исходы лучевого воздействия на иммунную систему, получившую малую дозу ионизирующей радиации. Поэтому оценка эффектов малых доз ионизирующего излучения на состояние здоровья населения является одной из актуальных проблем современной радиобиологии, [4,5]. Предполагается, что малые дозы ионизирующей радиации вызывают нарушение иммунологических процессов и снижают резистентность организма [6,7]. В связи с высокой чувствительностью к ионизирующему воздействию, изучение состояния неспецифической фагоцитарной резистентности, клеточного и гуморального звеньев иммунной системы после ионизирующего воздействия, в малых дозах, актуально и требует более детального исследования, особенно, в отдаленных периодах, после лучевого воздействия.

Целью данной работы явилось изучение отдаленных эффектов малой дозы гамма-излучения на иммунную систему организма.

Материалы и методы исследования

Выполнены 3 серии опытов на 55 белых беспородных половозрелых крысах. 1 - серия интактные (n=15), 2-я – (n=20) облученные (1 месяц), 3-я серия – облученные (3 месяца, n=20). Облучение животных 2 и 3 серий производилось на российском радиотерапевтическом устройстве «Агат-РМ» гамма-лучами ^{60}Co , доза облучения 0,15 Гр. В периферической крови определяли общее количество лейкоцитов и лимфоцитов. Состояние клеточного звена иммунитета оценивали по абсолютному и относительному количеству СД3+, СД4+, СД8+ и СД19+- клеток с соответствующими моноклональными антителами, расчетным путем подсчитывали иммунорегуляторный индекс [8]. Определяли реакцию торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ на ФГА) [9]. Состояние гуморального иммунитета оценивалось по количеству В-лимфоцитов (СД19+) - определяли с соответствующими моноклональными антителами, методом проточной цитометрии, концентрацию циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) - по методу [10,11]. Для исследования антителообразующих клеток (АОК) использовали метод локального гемолиза [12]. Индекс супрессии определялся расчетным путем в процентах. Неспецифическое фагоцитарное звено иммунитета определялось по фагоактивности полинуклеаров. Содержание фагоцитирующих полинуклеаров (нейтрофилов, псев-

дозоинофилов) исследовали по методике [13,14]. В качестве фагоцитирующего материала использовали латекс. Фагоцитарным показателям считали процент нейтрофилов, вступивших в фагоцитоз от общего количества нейтрофилов. Определяли показатели мононуклеарно-фагоцитарной системы (НСТ-тест) [15]. У подопытных животных до и после ионизирующего облучения в костном мозге изучали количество лимфоидных клеток, в тимусе определяли массу, лимфоидный индекс и количество лимфоидных клеток. Клеточные суспензии готовили из костного мозга и тимуса подопытных животных. Осуществляли подсчет кариоцитов и определяли их жизнеспособность. Количество тимоцитов, лимфоидных клеток в костном мозге определяли по методике О.И. Белоусовой и М.И. Федотовой (1983) [16]. Содержание клеток костного мозга исследовали в замкнутом пространстве по методике П.Д. Горизонтова с соавт. (1983) [17]. Определение лимфоидного индекса тимуса выполнялась по методике Е.Д. Гольдберга и соавт. (1972) [18], а в лимфатических узлах тонкого кишечника - по методу Б.А. Жетписбаева (1995)[19].

Полученные цифровые данные обрабатывались общепринятыми методами вариационной статистики [20].

Результаты собственных исследований и об- суждение

Анализ экспериментального материала показал, что через 30 дней после гамма-облучения в дозе 0,15 Гр, количество лейкоцитов в периферической крови соответствовало контрольному уровню (таблица 1). В крови отмечалось повышение на 60% абсолютного и в 37% относительного числа лимфоцитов у облученных животных, по сравнению с контрольными.

В Т-системе иммунитета под воздействием малой радиации снижалось абсолютное и относительное количество СД3+ лимфоцитов на 47% и 44% соответственно ($P<0.05$). У всех подопытных животных отмечалось достоверное снижение количества Т-лимфоцитов с хелперной и супрессорной активностью (СД4+и СД8+лимфоцитов); абсолютное и относительное в процентах число снижалось соответственно на 47% и 53% ($p<0,001$). Повышался иммунорегуляторный индекс (ИРИ) в 2,29 раза ($p<0,05$) и лимфокинпродуцирующая способность лейкоцитов, которая определялась в РТМЛ на ФГА. Так, под действием малых доз радиации, индекс миграции снизился с $0,82\pm0,5$ до $0,2\pm0,02$ ($p<0,001$).

В гуморальном звене иммунной системы у подопытных животных отмечается повышение абсолютного и процентного числа В-лимфоцитов на 54% и 68%

($p < 0,001$), в сравнении с контрольной группой животных. При этом уменьшение числа АОК в селезенке в 1,3 раза ($p < 0,05$), сопровождалось повышением индекса супрессии на 20%. Также отмечалось достоверное снижение концентрации ЦИК в сыворотке крови на 56% ($p < 0,001$), в сравнении с контрольными данными. Полученные данные отражают дисфункцию в гуморальном звене иммунитета.

В этот период отмечалась тенденция к увеличению фагоцитоза (7%) и фагоцитарного числа на 31% ($P < 0,05$). Кроме достоверного повышения фагоцитарного числа в этот период повысилось значение НСТ-теста на 183% ($p < 0,001$) в сравнении с контрольными данными.

Через 90 дней после действия малой дозы гамма-излучения отмечается нормализация общего количества лейкоцитов и достоверное повышение числа лим-

фоцитов. Статистически сниженными по отношению к контрольной группе остаются количество как относительного, так и абсолютного количества СД3+лимфоцитов.

При этом разнонаправлено ведут себя субпопуляции Т-лимфоцитов; абсолютное количество Т-лимфоцитов с хелперной активностью снижается на 32%, а абсолютное количество Т-лимфоцитов с супрессорной активностью, напротив, повышается на 19% ($P < 0,05$). Данное изменение вызывает снижение ИРИ до контрольного уровня. Лимфокинпродуцирующая способность лейкоцитов возрастает до контрольного уровня. Через 90 дней (поздний период) после радиационного воздействия у подопытных животных продолжает нарастать количество В-лимфоцитов, значения которого превышает на 252% абсолютного и на 118% ($P < 0,001$) относительного числа контрольных данных.

Таблица 1.

Т-система иммунитета в ближайшем и отдаленном периодах после действия малой дозы гамма-облучения.

Показатели	Время после облучения (месяцы)		
	Исх. (n=15)	1м. (n=20)	3м. (n=20)
Лейкоциты	6520±150	6300±174,2	6055±122
Лимфоциты	1.2800±113 2. 40±3,6	4596±63,7** 55,3±1,1**	3792±115* 57±2,2*
СД3+	1. 1457±84 2. 32±2,2	772,2±20* 18±0,7**	875±40,9* 22±1,7*
СД4+	1. 698±45,9 2. 21,2±1,9	347,5±12,1** 10±0,8**	477±25,9* 18±1,2
СД8+	1. 488±22 2. 10,8±0,6	74±7,6** 2,2±0,4**	593±19,9* 11±2,9
ИРИ	1,96±0,16	4,5±0,34**	1,6±0,24
РТМЛ (индекс)	0,8±0,06	0,2±0,02**	0,72±1,3
В-лимфоциты	1. 322±16,5 2. 7,0±1,2	499,2±47,5** 12,3±0,8*	1136±73,5** 16±1,7**
АОК в %	52±4,9	40±2,6*	44±1,7
ИС	-	20,2±2,2	15±1,7
ЦИК (г/л)	1,25±0,022	0,55±0,003**	0,80±0,05*
Фагоцитоз (%)	36,0±2,4	38,6±1,3	49,6±2,7*
Ф/Ч	1,6±0,23	2,1±0,12*	1,8±0,06
НСТ-тест	4,7±1,6	13,3±0,3**	5,3±0,9

Примечание: 1 – абсолютное число лимфоцитов, 2 – относительное число лимфоцитов в %,

* - достоверность к контрольному ($p < 0,05$),

** - достоверность ($p < 0,01$), м – месяц

К данному периоду времени снижается антителообразующая способность селезенки с 52±4,9% до 44±2,6% ($P > 0,05$). Индекс супрессии повысился на 15±1,7%, но концентрация ЦИК в сыворотке крови, несмотря на ее повышение, остается на 36% ($P < 0,05$) ниже сравнимой величины.

Из представленного видно, что в позднем периоде под воздействием малой дозы гамма-излучения отмечено повышение количества В-лимфоцитов, антителообразующей способности селезенки и низкая концентрация ЦИК в сыворотке крови, что отражает недостаточность функции гуморального звена иммунитета.

В позднем периоде после облучения фагоцитоз остается на высоком уровне (49,6±2,7%), что на 46% больше контрольного показателя, регистрируется снижение фагоцитарного числа и НСТ-теста до уровня контрольных данных.

Следовательно, приведенный нами цифровой материал показывает, что при действии малой дозы гамма-излучения повышается функция неспецифического фагоцитарного звена иммунитета облученного организма, как в раннем, так и в отдаленном периодах наблюдения.

Таким образом, представленный анализ показывает, что под воздействием малой дозы гамма-излучения в раннем периоде в периферической крови облученных животных на фоне лимфоцитоза регистрируется снижение количества субпопуляции Т-лимфоцитов, повышение иммунорегуляторного индекса и лимфокинпродуцирующей способности лейкоцитов по сравнению с интактными крысами.

В отдаленном периоде после действия гамма-излучения в дозе 0,15 Гр в крови отмечается нормализация количества лейкоцитов, лимфоцитоз, снижение количества СД3+ и СД4+ и повышение СД8+лимфоцитов. Функциональная активность Т-лимфоцитов в этот период соответствует контрольным значениям.

Вывод. В отдаленном периоде после действия гамма-излучения в дозе 0,15 Гр на фоне лимфоцитоза регистрируется снижение количества субпопуляции Т-лимфоцитов с хелперной активностью и увеличение Т-лимфоцитов с супрессорной активностью, повышается функция неспецифического фагоцитарного звена иммунитета. Недостаточность функции гуморального звена иммунитета проявляется в повышении количества В-

лимфоцитов, антителообразующей способности селезенки и низкой концентрации ЦИК в сыворотке крови.

Литература:

1. Жетписбаева Х.С., Ильдербаев О.З., Жетписбаев Б.А. Стресс и иммунная система. Алматы, 2009. – 235 с.
2. Жетписбаева Х.С. Иммунологические и биохимические механизмы адаптации, прогнозирование и коррекция постстрессорных нарушений. Автореф. дисс. д.м.н., Семей, 2009. – 34 с.
3. Узбекова С.Е. Особенности функционального состояния иммунной системы в отдаленном периоде после различных дозовых нагрузок гамма-облучения. // Автореф. дисс. к.м.н., Семей, 2008. – С.113.
4. Жетписбаев Г.А. Изменение функционального состояния иммунной системы при действии ионизирующего излучения на организм и способы ее коррекции. // Автореф. дисс. д.м.н., Алматы, 2006. – 36 с.
5. Ярмоненко С.П. Низкие уровни излучения и здоровье: Радиобиологические аспекты // Мед. радиология и радиационная безопасность. – 2000. №13. – С. 5-32.
6. Шарбаков А.Ж. Оценка медико-демографических показателей здоровья населения сельских районов Западно-Казахстанской области, прилегающих к ракетно-ядерному полигону // Наука и здравоохранение. – 2004. №3. – С. 124-126.
7. Шарбаков А.Ж. О влиянии неблагоприятных факторов окружающей среды на иммунный статус населения регионов населения Восточно-Казахстанской области // Гигиена труда и мед. экология. – 2004. №2 (3). – С. 66-75.
8. Гариб Ф.Ю., Гариб В.Ю., Ризопулу А.П. Способ определения субпопуляции лимфоцитов. 1111 №2426 Руз // Расмий ахборотнома. – Ташкент, 1995. – 1:90/
9. Артемова А.Г. Феномен торможения миграции лейкоцитов крови у морских свинок с гиперчувствительностью замедленного типа к чужеродному тканевому агенту. // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1973, Т.76. – №10. – С. 67-71.

10. Digeon M., Laver M. Detection of circulating immune complex in human sera by simplified assays with polyethylene glucos. – J. Immunol. Methods. –1977. -№1. –P.165-183.

11. Гринкевич Ю.Я., Алферов А.Н. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных. // Лаб. дело. – 1981., №8. –С.493-495.

12. Jerne N., Nordin A. Plaque formation in agar by single fntibodyproducing cells. // Science. – 1963. - 140. – P. 336-406.

13. Бутаков А.А., Оганезов В.К., Пинегин и др. Спектрофотометрическое определение адгезивной способности полиморфноядерных лейкоцитов периферической крови // Иммунология. –1991.- №5. –С.71-72.

14. Кост Е.А. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования, Москва. – 1975.

15. Нагоев Б.С., Шубич М.Г. Значение теста восстановления нитросинего тетразолия для изучения функциональной активности лейкоцитов // Лабораторное дело. – 1981. -№4. – С.195-198.

16. Белоусова О.И., Федотова М.И. Сравнительные данные об изменении количества лимфоцитов селезенки, зобной железы и костного мозга в ранние сроки после облучения в широком диапазоне доз // Радиобиология – радиотерапия. –1968., Т.9., №3. – С.309-313.

17. Горизонтов П.Д., Белоусова О.М., Федотова М.И. Стресс и система крови, М.: Медицина, 1983, 240 с.

18. Гольдберг Е.Д., Штенберг И.Б., Михайлова Т.Н., Шубина Т.С. Состояние лимфоидной ткани при введении животным рубомицина. // Пат. физиол. – 1972. – №6. – С. 67-68.

19. Жетписбаев Б.А. Способ определения лимфоидного индекса в лимфоузлах при стрессе // Информ. лист Семипалатинского ЦНТИ, №68, 95.11.-1995.

20. Монцевичюте-Эрингене Е.В. Упрощенные математико-статистические методы в медицинской исследовательской работе // Пат. физиол. и эксперим. терапия, 1961 – №1, – С.71-76.

Тұжырым

ГАММА - СӘУЛЕНІҢ ШАҒЫН ДОЗАСЫНЫҢ АЛШАҚ ӘСЕРЛЕРІ. ИММУНОЛОГИЯЛЫҚ АСПЕКТ

Г.С. Шалгимбаева, С.С. Ибраев, З.А. Хисметова, Б.А. Жетписбаев
Семей қаласының Мемлекеттік медицина университеті

Гамма – сәуленің шағын дозасының әсерінен алшақ кезеңде хелперлі Т – лимфоциттердің субпопуляция санының төмендеуі және супрессорлық белсенділікпен Т-лимфоциттердің жоғарлауы лимфоцитоздың фонында иммундық жүйенің арнайы емес фагоцитарлы тізбегінің қызметі артады. Иммунитеттің гуморалды тізбегі қызметінің жетіспеушілігі В-лимфоциттер санының, көкбауырдың антидене түзуші қабілеттілігі және қан сарысуындағы АИК төмен мөлшерінің жоғарылауы айқындалды.

Негізгі сөздер: алшақ кезең, шағын доза, лимфоцитоз, Т-лимфоциттердің субпопуляциясы, фагоцитарлы тізбек, гуморалды тізбек, В-лимфоциттер, көк бауыр, қан сарысуындағы АИК мөлшері.

Summary

LATE EFFECT OF SMALL DOSE OF GAMMA-IRRADIATION. IMMUNOLOGICAL ASPECT

G.S. Shalgimbaeva, S.S. Ibraev, S.A. Khismetova, B.A. Zhetpisbaev
Semey State Medical University

In late period after influence of small dose of gamma-irradiation on the background of lymphocytosis the number of subpopulations of T-lymphocytes with helper activity is decreased and the number of T-lymphocytes with suppressor activity is increased; the function of unspecific phagocytic link of immunity is increased. Insufficiency of functions of humoral link of immunity appears in increase of the number of B-lymphocytes, antigen-forming capacity of spleen and low concentration of circulating immune complexes (CIC) in blood serum.

Key words: Late period, small dose, lymphocytosis, subpopulation of T-lymphocytes, phagocytic link, humoral link, B-lymphocytes, spleen, concentration of CIC in blood serum.