УДК 612.017-613.648.2

А.М. Утегенова, А.К. Мусайнова, С.С. Ибраев, Б.А. Жетписбаев

Государственный медицинский университет города Семей

ОТДАЛЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ ФРАКЦИОНИРОВАННОГО ГАММА-ИЗЛУЧЕНИЯ НА ИММУННУЮ СИСТЕМУ ОРГАНИЗМА

Аннотация

В отдаленном периоде после фракционированного гамма-облучения повышена активность неспецифической фагоцитарной резистентности организма, отмечается дисфункция в гуморальном звене иммунитета, на фоне увеличения общего количества лимфоцитов отмечается повышение пула CD3+, CD4+лимфоцитов, иммунорегуляторного индекса, нормализация лимфокинпродуцирующей способности лимфоцитов и снижение пула CD8+ лимфоцитов.

Ключевые слова: фракционированное гамма-облучение, отдаленный период, фагоцитарная резистентность организма, гуморальное звено иммунитета, лимфоциты, иммунорегуляторный индекс, лимфокинпродуцирующая способность.

Одной из актуальных задач современной медицины и биологии является изучение действия хронического или фракционированного ионизирующего воздействия на иммунную систему организма как в раннем, так и в поздних периодах облучения [1,2,3]. В малых дозах ионизирующее облучение вызывает нарушение метаболических процессов и этим создает условия для нарушения иммунной системы и формирования иммунодефицитного состояния [4,5]. И это обуславливает особый интерес научных исследований в области радиационно-биологических эффектов при различных дозовых воздействиях излучения.

Мало изучена роль иммунной системы в развитии отдаленной лучевой патологии, особенно при фракционированном облучении. В экспериментальных исследованиях явно недостаточное было уделено внимания гуморальному иммунитету при воздействии облучения на организм несколькими отдельными фракциями через различные промежутки времени.

При фракционированном облучении наблюдается меньший биологический эффект по сравнению с однократным облучением в сопоставимых дозах. Это явление объясняется развитием восстановительных процессов, происходящих в организме, которые наиболее интенсивно развиваются во время перерывов между облучениями [6]. В то же время отдаленные эффекты действия ионизирующего излучения на клетки крови в диапазоне доз при фракционированном излучении остаются малоизученными [7,8]. В литературе имеется ограниченное число данных по исследованию лимфоидных органов при фракционированном облучении гамма-лучами, особенно в позднем периоде [9].

Исходя из этого, вытекает необходимость изучения отдаленных эффектов фракционированного воздействия гамма-излучения на функциональное состояние центральных и периферических лимфоидных органов иммунной системы.

В то же время по данным литературы, недостаточно изученным остается влияние фракционированного гамма-излучения на иммунологическую реактивность организма в отдаленном периоде [1-5].

Поэтому целью исследования явилось изучение отдаленных эффектов фракционированного гамма-излучения на иммунную систему организма.

Материалы и методы исследования

Для решения поставленной цели нами выполнены 4 серии опытов на 55 белых беспородных половозрелых крысах преимущественно самцах. 1- серия интактные (n=15), 2-я – (n=20) ближайший период (через 1 месяц),

3-я серия – отдаленный период (через 3 месяца, n=20), У всех подопытных животных изучали характеризующие количественные и качественные показатели Т-клеточного звена иммунитета. Облучение животных 2, 3 и 4 серий производилось на российском радиотерапевтическом устройстве «Агат-РМ» гамма-лучами ^{60}Co с топометрическо-дозиметрической подготовкой экспериментальных животных, который способствует к проведению животным запланированной дозы по 2 Гр трехкратно в течение 3 недель.

В периферической крови определяли общее количество лейкоцитов и лимфоцитов. Состояние клеточного звена иммунитета оценивали по абсолютному и относительному количеству CD3+, CD4+, CD8+ и CD19+- клеток с соответствующими моноклональными антителами, расчетным путем подсчитывали иммунорегуляторный индекс [10]. Определяли реакцию торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ на ФГА) [11]. Состояние гуморального иммунитета оценивалось по количеству В-лимфоцитов (CD19+) - определяли с соответствующими моноклональными антителами, методом проточной цитометрии, концентрацию циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) - по методу [12,13]. Для исследования антителообразующих клеток (АОК) использовали метод локального гемолиза по [14]. Индекс супрессии определялся расчетным путем в процентах. Неспецифическое фагоцитарное звено иммунитета определялось по фагоактивности полинуклеаров. Содержание фагоцитирующих полинуклеаров (нейтрофилов, псевдоэозинофилов) исследовали по методике [15,16]. В качестве фагоцитирующего материала использовали латекс. Фагоцитарным показателям считали процент нейтрофилов, вступивших в фагоцитоз от общего количества нейтрофилов. Определяли показатели мононуклеарнофагоцитарной системы (НСТ-тест [17]. 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) [18]. Содержание клеток костного мозга исследовали в замкнутом пространстве по методике П.Д. Горизонтова с соавт. (1983)[19]. Определение лимфоидного индекса тимуса выполнялась по методике Е.Д. Гольдберга и соавт.

(1972) [20], а в лимфатических узлах тонкого кишечника - по методу Б.А. Жетписбаева [21].

Полученные цифровые данные обрабатывались общепринятыми методами вариационной статистики [22].

Результаты исследования и обсуждение

Через 1 месяц после воздействия фракционированного гамма-излучения общее количество лейкоцитов в периферической крови имело тенденцию к снижению (таблица 1). Отмечено повышение абсолютного числа лимфоцитов в крови с 2800 ± 113 до 3125 ± 105 в 1 мкл ($P < 0,05$) и относительного числа - с $40 \pm 3,6\%$ до $53,5 \pm 1,4\%$ ($P < 0,001$). У облученных крыс при абсолютном увеличении СД3+ лимфоцитов, относительное его содержание соответствовало контрольному значению. При лучевой болезни из субпопуляции Т-лимфоцитов СД4+ лимфоциты существенно изменялись, тогда как абсолютное число СД8+ снижалось в 5,1 раза ($P < 0,001$), относительное - 2,5 раза ($P < 0,001$). При этом соответственно повысился иммунорегуляторный индекс в 3 раза ($P < 0,001$) за счет снижения числа лимфоцитов с супрессорной активностью. В этот период происходит достоверное снижение индекса миграции лейкоцитов в реакции РТМЛ на ФГА с $0,8 \pm 0,06$ до $0,62 \pm 0,06$ ($P < 0,001$), что свидетельствует о повышении функциональной активности Т-системы иммунитета.

Из представленного цифрового материала видно, что состояние гуморального иммунитета через месяц после фракционированного облучения представляло следующую картину: относительное число СД20+ лимфоцитов увеличилось в 2 раза при сниженном во столько же раз абсолютном его показателе. В этот период

концентрация ЦИК в сыворотке крови снизилась с $1,3 \pm 0,03$ г/л до $0,7 \pm 0,01$ г/л ($P < 0,001$), количество АОК в селезенке уменьшилось в 2,3 раза по сравнению с контрольными показателями. Индекс супрессии повысился до $57,6 \pm 1,2\%$.

Также из таблицы 1 видно, что в ближайшем периоде (1месяц) в неспецифическом фагоцитарном звене иммунитета при фракционированном гамма-облучении происходили следующие изменения: фиксировалось нарастание процесса фагоцитоза с $36,0 \pm 2,4\%$ до $70 \pm 2,6\%$ ($P < 0,001$), фагоцитарного числа с $1,6 \pm 0,23$ до $3,3 \pm 0,05$ ($P < 0,001$) и показателя НСТ-теста с $4,7 \pm 0,5$ до $12,0 \pm 0,72$ ($P < 0,001$).

Из приведенного материала вытекает, что в раннем периоде после воздействия фракционированного гамма-излучения происходит увеличение общего количества лимфоцитов, где немалую роль в этом играет увеличение количества СД3+лимфоцитов и стабильное число СД4+лимфоцитов, что также отражается на высоких показателях ИРИ, так как в этом периоде параллельно со снижением количества СД8+лимфоцитов, повышается функциональная способность Т-лимфоцитов.

В отдаленном периоде после воздействия фракционированного гамма-излучения в клеточном звене иммунитета наблюдается незначительное повышение количества лейкоцитов до $6690 \pm 145 \times 10^9$, сопровождающееся лимфоцитозом - $4116 \pm 50,8 \times 10^6$ (таблица 1). Отмечалось достоверное снижение относительного и абсолютного числа СД3+лимфоцитов достоверно по отношению и к ближайшему периоду и к показателям интактных животных.

Таблица 1.

Влияние фракционированного гамма-излучения на иммунную систему ближайшем и отдаленном периодах

Показатели	Исследуемые группы		
	I – интактные (n=15)	II - облученные + 1 месяц (n=20)	III -облученные + 3 месяца (n=20)
Лейкоциты В 1 мкл	6520 ± 150	$6200 \pm 290,4$	6690 ± 145
Лимфоциты В 1 мкл	1. 2800 ± 113 2. $40 \pm 3,6$	1. $3125 \pm 105^*$ 2. $53,5 \pm 1,4^{**}$	1. $4116 \pm 50,8^{*0}$ 2. $32,3 \pm 4,4^0$
СД3+ (Т-общие)	1. 1457 ± 84 2. $32 \pm 2,2$	1. $3426 \pm 27,2^{**}$ 2. $30,0 \pm 1,0$	1. $1376 \pm 36,7^0$ 2. $12,3 \pm 0,7^{*0}$
СД4+	1. $698 \pm 85,9$ 2. $21,2 \pm 1,9$	1. $584 \pm 45,3$ 2. $22,2 \pm 0,9$	1. $1066 \pm 31,9^{*0}$ 2. $25 \pm 4,1$
СД8+	1. $488 \pm 20,2$ 2. $10,8 \pm 0,6$	1. $96,6 \pm 11,4^{**}$ 2. $4,3 \pm 0,5^{**}$	1. $308 \pm 20,3^{*00}$ 2. $7,3 \pm 1,4^{*0}$
ИРИ	$1,96 \pm 0,16$	$6,0 \pm 0,39^{**}$	$3,4 \pm 0,41^{*0}$
РТМЛ (индекс)	$0,8 \pm 0,06$	$0,62 \pm 0,06^{**}$	$0,81 \pm 0,04^0$
СД20+ В 1 мкл	1. $318 \pm 16,5$ 2. $7,0 \pm 2,1$	1. $145,0 \pm 9,9^{**}$ 2. $14,2 \pm 1,0^{**}$	1. $514 \pm 42^{*00}$ 2. $12,3 \pm 0,7^*$
АОК в %	$52 \pm 4,9$	$22 \pm 1,3^{**}$	$45 \pm 2,6^0$
ИС (%)	-	$57,6 \pm 1,2^*$	$13 \pm 0,38^{00}$
ЦИК (г/л)	$1,3 \pm 0,03$	$0,7 \pm 0,01^{**}$	$0,05 \pm 0,001^{*00}$
Фагоцитоз, %	$36,0 \pm 2,4$	$70 \pm 2,6^{**}$	$52 \pm 0,8^{*0}$
Ф/Ч	$1,6 \pm 0,23$	$3,3 \pm 0,05^{**}$	$2,3 \pm 0,1^{*00}$
НСТ-тест, %	$4,7 \pm 1,6$	$12,0 \pm 0,72^{**}$	$11,6 \pm 3,9^*$

Примечание: 1 – абс. ч., 2 – относительное в %, * - достоверность к интактному ($P < 0,05$), ** - достоверность ($P < 0,001$), ⁰ - достоверно ко 2 серии ($P < 0,05$), ⁰⁰ - достоверность ($P < 0,001$);

Достоверно возрастало абсолютное число субпопуляций СД4+лимфоцитов по отношению к исходному и контрольному группам. Несмотря на трехкратное увеличение абсолютного количества и в 1,7 раза относитель-

ного количества СД8+лимфоцитов их уровни не достигали соответствующих интактных показателей. При этом и абсолютное и относительное числа СД8+ - лимфоцитов было достоверно ниже интактного уровня, что

в конечном итоге обуславливало достоверное увеличение иммунорегуляторного индекса. В этот период происходила нормализация индекса миграции РТМЛ на ФГА до уровня контрольных величин ($0,81 \pm 0,04$).

В отдаленном периоде после фракционированного облучения абсолютное количество СД20+ увеличилось в 3,5 раза, что достоверно превышало показатели как контрольных, так и интактных животных. Процентное количество данного пула клеток превышало данные интактных в 1,7 раза. В исследуемом отрезке времени повышалась антителопродуцирующая способность в селезенке с $22 \pm 1,3$ до $45 \pm 2,6$, не достигнув, однако, уровня интактных животных. При этом происходило достоверное снижение индекса супрессии в 4,4 раза ($P < 0,001$) и концентрации ЦИК в 14 раз ($P < 0,001$) в сыворотке крови.

Нарушения гуморального иммунитета происходят за счет повреждения различных популяций лимфоцитов, участвующих в формировании иммунного ответа.

Из множества факторов, негативно влияющих на здоровье человека, ионизирующая радиация занимает особое место, так как даже однократное ее воздействие может вызвать необратимые изменения в организме.

Анализ приведенного материала показывает, что в отдаленном периоде после фракционированного гамма-облучения в Т-системе иммунитета происходят следующие изменения: на фоне увеличения общего количества лимфоцитов отмечается повышение пула СД3+, СД4+лимфоцитов, иммунорегуляторного индекса, нормализация лимфокинпродуцирующей способности лимфоцитов и снижение пула СД8+ лимфоцитов.

Изменения В-системы иммунитета, по-видимому, обусловлены также наличием внутреннего дефекта клеток за счет нарушения субпопуляционного состава В-лимфоцитов, вследствие поражения стволовых клеточных ветворных клеток и рассогласованности межсистемных взаимодействий.

Через 3 месяца (отдаленный период) после воздействия ионизирующего излучения фагоцитоз, фагоцитарное число достоверно снижались по отношению к опытной группе, но при этом оставались достоверно высокими по отношению к интактным показателям. Показатель НСТ-теста снижался достоверно по отношению к контрольной группе, но при этом в 2,5 раза превышал показатель интактных животных.

При изучении отдаленных последствий воздействия ионизирующего излучения доказано, что неблагоприятные изменения могут проявиться спустя несколько десятков лет после чрезвычайных острых или в результате хронического действия факторов, что связано со снижением компенсаторных резервов организма [3,4].

Таким образом, при фракционированном гамма-облучении происходят существенные изменения в неспецифическом фагоцитарном звене иммунитета у облученных животных как в отдаленном, так и в позднем периодах наблюдения.

Следовательно, полученные экспериментальные данные указывают на то, что через месяц после фракционированного гамма-облучения повышаются функции неспецифического фагоцитарного звена.

При фракционированном облучении с постоянной и переменной мощностью дозы радиационный эффект возрастает с укорочением процесса облучения и увеличением суммарной дозы облучения. Биологический

эффект уменьшается при фракционированном облучении.

Вывод.

1. В ближайшем и отдаленном периодах после фракционированного гамма-облучения показатели неспецифического фагоцитарного фактора отражают высокую функциональную активность нейтрофилов и других клеток белой крови.

2. Как в раннем, так и в позднем периодах, после фракционированного гамма-излучения, отмечается депрессия в гуморальном звене иммунитета.

3. В отдаленном периоде после фракционированного гамма-облучения на фоне увеличения общего количества лимфоцитов отмечается повышение пула СД3+, СД4+лимфоцитов, иммунорегуляторного индекса, нормализация лимфокинпродуцирующей способности лимфоцитов и снижение пула СД8+ лимфоцитов.

Литература:

1. Жетписбаев Б.А., Утегенова А.М., Мадиева М.Р. Адаптация Т-системы иммунитета при действии фракционированной дозы гамма-излучения и эмоционального стресса в отдаленном периоде. // Наука и здравоохранение. 2013. - №5. - С.34-35.

2. Жетписбаев Б.А., Оразбаева А.К., Жетписбаева Х.С., Самарова У.С. Поздние изменения клеточного звена иммунитета у облученных животных и их потомков 1 поколения после действия фракционированной дозы гамма-излучения. // Мат. VIII Международной научно-практической конференции «Экология. Радиация. Здоровье» имени Б. Атачбарова. 28-29 августа 2012. Семей. - 2012. С.231.

3. Жетписбаев Б.А., Хисметова З.А., Самарова У.С. Неспецифическая резистентность организма и активность аденозиндезаминазы в отдаленном периоде после действия фракционированного гамма-облучения. // Мат. VII Международной научно-практической конференции «Экология. Радиация. Здоровье». 27 августа 2011. Семей. - 2011. С.83-83.

4. Жетписбаев Б.А., Мусайнова А.К., Жетписбаева Х.С. Адаптация клеточного звена иммунитета и энергетического обмена в отдаленном периоде после воздействия фракционированной дозы гамма-излучения. // Мат. VII Международной научно-практической конференции «Экология. Радиация. Здоровье». 27 августа 2011. Семей. - 2011. - С. 82-83.

5. Жетписбаев Б.А., Шалгимбаева Г.С., Хисметова З.А. Состояние В-системы иммунитета в отдаленном периоде при действии малой дозы гамма-излучения и эмоционального стресса. // Наука и здравоохранение. - 2013. - №5. - С. 32-33.

6. Ярмоненко С.П., Вайнсон А.А. «Радиобиология человека и животных»: учебное пособие – М.: Высшая школа, 2004. –С.368-492.

7. Жетписбаев Б.А., Мусайнова А.К., Ван О.Т., Самарова У.С. Поздние постлучевые состояния неспецифической фагоцитарной резистентности облученного организма и их потомков первого поколения после фракционированного гамма-излучения. // Мат. VII Международной научно-практической конференции «Экология. Радиация. Здоровье». 27 августа 2011. - Семей. - 2011. - С. 233-234

8. Жетписбаев Б.А., Хисметова З.А., Самарова У.С. Неспецифическая резистентность организма и активность аденозиндезаминазы в отдаленном периоде после действия фракционированного гамма-облучения. // Мат. VII Международной научно-практической конфе-

ренции «Экология, Радиация. Здоровье». 27 августа 2011. - Семей. - 2011. - С. 83-83.

9. Жетписбаев Б.А., Утегенова А.М., Мадиева М.Р. Адаптация Т-системы иммунитета при действии фракционированной дозы гамма-излучения и эмоционального стресса в отдаленном периоде. // Наука и здравоохранение. 2013. - №5. - С.34-35.

10. Гариб Ф.Ю., Гариб В.Ю., Ризопулу А.П. Способ определения субпопуляции лимфоцитов. 1111 №2426 Руз // Расмий ахборотнома. – Ташкент, 1995. – 1:90

11. 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.

12. 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.

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

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

15. Бутаков А.А., Оганезов В.К., Пинегин и др. Спектрофотометрическое определение адгезивной способ-

ности полиморфноядерных лейкоцитов периферической крови // Иммунология. - 1991.- №5. - С. 71-72.

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

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

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

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

20. 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.

21. Жетписбаев Б.А. Способ определения лимфоидного индекса в лимфоузлах при стрессе // Информ. лист Семипалатинского ЦНТИ, №68, - 1995. – С. 11.

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

Тұжырым

ОРГАНИЗМНИҢ ИММУНДЫҚ ЖҮЙЕСІНЕ ФРАКЦИОНЕРЛЕНГЕН ГАММА-СӘУЛЕНІҢ АЛШАҚ ӨСЕРЛЕРІ

А.М. Утегенова, А.К. Мусайнова, С.С. Ибраев, Б.А. Жетписбаев

Семей қаласының Мемлекеттік медицина университеті

Фракционерленген гамма – сәуленің алшақ кезеңде организмнің арнайы емес фагоцитарлы төзімділіктің белсенділігі жоғарылаған, иммунитеттің гуморалды тізбегінде дисфункция айқындалады, лимфоциттердің жалпы санының жоғарылауы фонында СД3+, СД4+лимфоциттердің артуы, иммундықреттеуші индексінің, лимфоциттердің лимфокинтүзуші қабылетінің қалыптасуы және СД8+ лимфоциттер төмендеуі белгілі болды.

Негізгі сөздер: фракционирленген гамма – сәуле, алшақ кезең, организмнің фагоцитарлы төзімділігі, иммундық жүйенің гуморалды тізбегі, лимфоциттер, иммундықреттеуші индекс, лимфокинтүзуші қабылеті.

Summary

LATE EFFECTS OF FRACTIONAL GAMMA-IRRADIATION FOR IMMUNE SYSTEM OF ORGANISM

A.M. Utegenova, A.K. Musainova, S.S. Ibraev, B.A. Zhetpisbaev

Semey State Medical University

In late period after fractional gamma-irradiation the activity of unspecific phagocytic resistance of organism is increased, disfunction of humoral link of immunity occurs, on the background of increase of general number of lymphocytes the number of SD3+, SD4+ lymphocytes and immune-regulating index are also increased; lymphokin-producing capacity of lymphocytes is normalized and number of SD8+lymphocytes is decreased.

Key words: fractional gamma-irradiation, late period, phagocytic resistance of organism, humoral link of immunity, lymphocytes, immune-regulating index, lymphokin-producing capacity.