

Б.А.Жетписбаев, А.Ш.Кыдырмолдина

Государственный медицинский университет г. Семей
(E-mail: gulmirago@mail.ru)

Состояние иммунологической реактивности облученных животных и их потомков 1-го поколения вследствие воздействия сублетального гамма-излучения

У облученных животных и их потомков 1-го поколения последствие сублетальной дозы гамма-излучения вызывает снижение количественных и повышение качественных показателей в клеточном звене иммунитета. Депрессия в гуморальном звене иммунитета в отдаленном периоде сменяется ее активацией у их потомков 1-го поколения. Высокая активность неспецифической фагоцитарной реактивности сохраняется и у потомков 1-го поколения, но в менее выраженной форме.

Ключевые слова: потомки 1-го поколения, сублетальная доза, клеточное звено иммунитета, неспецифическая реактивность организма.

Исход лучевых поражений, развитие ближайших и отдаленных последствий зависят от состояния и чувствительности иммунной системы к ионизирующему излучению. Имея высокую радиочувствительность, иммунная система длительное время сохраняет повреждения в отдельных звеньях системы иммунитета. Наиболее часто в этот период регистрируются нарушения Т-клеточного звена, особенно при действии сублетальной дозы гамма-излучения [1–3].

Появление нарушений и дисбаланса в гуморальном звене иммунитета и сопряженных с ним отдаленных последствий и осложнений проявляется ускорением процессов старения, быстрым прогрессированием хронических заболеваний внутренних органов, а также развитием злокачественных новообразований [4, 2].

В ближайшее время после сублетального облучения происходит супрессия во всех звеньях иммунитета, что является основой в формировании иммунологической недостаточности [2, 5, 6]. Поэтому использование иммунологических методов, комплексное изучение состояний клеточного, гуморального звеньев иммунитета, неспецифической фагоцитарной резистентности организма животных и человека необходимы в качестве чувствительных тестов для оценки эффективности последствие сублетальной дозы гамма-излучения отдаленных последствий и у потомков 1-го поколения.

С учетом изложенного выше цель нашего экспериментального исследования — изучение последствие сублетальной дозы гамма-излучения 6 Гр на иммунологическую реактивность организма у облученных животных и их потомков 1-го поколения.

Материалы и методы исследования

Выполнены 3 серии опытов на 55 белых беспородных половозрелых крысах. 1-я серия — интактные ($n=15$), 2-я — ($n=20$) облученные (3 месяца) животные, 3-я серия — облученные животные + потомки 1-го поколения, $n=20$). Облучение подопытных животных двух серий производилось на российском радиотерапевтическом устройстве «Агат-РМ», гамма-лучами ^{60}Co , доза облучения 6 Гр. 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 [7]. Определяли реакцию торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ на ФГА) [8].

Состояние гуморального иммунитета оценивалось по количеству В-лимфоцитов (CD19+) — исследовали с соответствующими моноклональными антителами методом проточной цитометрии концентрацию циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) [9, 10]. Для исследования антителообразующих клеток (АОК) использовали метод локального гемолиза [11]. Индекс супрессии определялся расчетным путем в процентах. Неспецифическое фагоцитарное звено иммунитета оценивалось по фагоактивности полинуклеаров. Изучали содержание фагоцитирующих полинуклеаров (нейтрофилов, псевдоэозинофилов) [12, 13]. В качестве фагоцитирующего материала использовали латекс. Фа-

гоцитарным показателем считали процент нейтрофилов, вступивших в фагоцитоз от общего количества нейтрофилов. Определяли показатели мононуклеарно-фагоцитарной системы (НСТ-тест) [14].

Полученные цифровые данные обрабатывались общепринятыми методами вариационной статистики [15].

Результаты и обсуждение

Нами были изучены основные показатели Т-клеточного, гуморального звеньев иммунитета и неспецифической фагоцитарной резистентности организма у облученных животных в отдаленном периоде и их потомков 1-го поколения после общего воздействия гамма-излучения в сублетальной дозе 6 Гр (см. табл.).

Т а б л и ц а
Влияние ионизирующего излучения в дозе 6 Гр
на иммунную систему организма у потомков 1-го поколения

Показатели	Исследуемые группы		
	Интактные (n=15)	Облученные + 90 дней (n=20)	1 потомки
Лейкоциты в 1 мкл	6520±150	6112±125	7100±112* ⁰
Лимфоциты в 1 мкл	1. 2800±113 2. 40±3,6	1. 3455±640 2. 56±2,0*	4111±99.8* 57±1.2*
СД3+	1. 1457±84 2. 32±2,2	1. 1060±310 2. 31±2,30	875±20.0* 22.0±0.75* ⁰
СД4+	1. 698±85,9 2. 21,2±1,9	1. 846±25,5 2. 24±1,50	415±17.4* ⁰ 9.3±0.57* ⁰
СД8+	1. 488±2,2 2. 10,8±0,6	1. 313±30,2* 2. 8,0±1,70	475±17.40 13.0±0.47* ⁰
ИРИ	1,96±0,16	2,7±0,15*	0,7±0,05* ⁰
РТМЛ	0,8±0,06	0,77±0,02	0,62±0,02*
СД19+ в 1 мкл	1. 318±16,5 2. 7,0±2,1	1. 619±16,3** 2. 15±1,7**	1. 792±26,3* ⁰ 2. 21,0±0,86*
АОК в %	52±4,9	40±2,3* ⁰	45±1,5
ИС (инд. супрессии в %)	—	23±1,40	13±2,2
ЦИК (г/л)	1,3±0,03	0,2±0,01** ⁰	0,011±0,001** ⁰⁰
Фагоцитоз %	36,0±2,4	53,6±1,6**	47±0,9* ⁰
Ф/Ч	1,6±0,23	2,6±0,2*	2,3±0,05*
НСТ-тест	4,7±1,6	11,3±0,8**	6,0±0,470

Примечание. 1 — абс. ч.; 2 — относительное в %; * — достоверность к контрольному ($P<0,05$); ** — достоверность ($P<0,001$); ⁰ — достоверно ко 2 группе ($P<0,05$).

Из таблицы видно, что при облучении гамма-лучами в дозе 6 Гр во второй группе количество лейкоцитов соответствует исходному значению. Повышается число лимфоцитов, но при этом не достигает статистической значимости. Отмечается повышение абсолютного и относительного показателей СД3+ и СД4+ лимфоцитов до уровня контрольных величин. Достоверно сниженными в этот период наблюдения остаются абсолютное и относительное числа СД8+ лимфоцитов на 36,6 и 29 % соответственно, что обуславливает повышение иммунорегуляторного индекса в 1,57 раза ($P<0,001$). Индекс миграции лейкоцитов в РТМЛ на ФГА соответствует контрольному показателю.

Резюмируя полученные результаты, можно заключить, что в отдаленном периоде после воздействия гамма-облучения в дозе 6 Гр отмечается нормализация числа лейкоцитов, СД3+ и СД4+ лимфоцитов, снижение уровня СД8+ лимфоцитов и нормализация лимфокинпродуцирующей способности лейкоцитов.

В третьей группе — потомков 1-го поколения в периферической крови отмечаются лейкоцитоз, лимфоцитоз, снижение количества абсолютного и относительного содержания СД3+ и СД4+ лимфоцитов и иммунорегуляторного индекса. Количество СД8+ соответствует данным контрольной группы. Повышается лимфокинпродуцирующая способность лейкоцитов.

Таким образом, у облученных животных и их потомков 1-го поколения на фоне лейколимфоцитоза отмечается снижение количества СДЗ+ и СД4+ лимфоцитов и повышение функциональной способности лейкоцитов.

Количество лимфоцитов в периферической крови повышается до контрольных уровней. Повышение числа АОК в селезенке до 40+2,3 % сопровождается снижением индекса супрессии в 1,6 раза и концентрации ЦИК в сыворотке крови в 6,5 раза. При этом надо отметить, что, несмотря на повышение антителообразования в селезенке, снижение индекса супрессии и концентрации ЦИК в сыворотке крови не достигают уровня контрольных величин и остаются достоверно низкими.

У потомков облученных животных 1-го поколения активность в гуморальном звене иммунитета проявляется в увеличении числа СД19+ лимфоцитов. Число последнего статистически увеличено в сравнении с контрольной группой в 1,5 раза. В сыворотке крови отмечается достоверное снижение циркулирующих иммунных комплексов. Антителопродуцирующая способность селезенки соответствует контрольной величине.

Резюмируя полученные данные, можно констатировать, что в отдаленном периоде у облученных животных отмечается депрессия, тогда как у потомков облученных животных 1-го поколения отмечается активация гуморального звена иммунитета.

Ранее приведенные нами исследования показывают, что в ближайшем периоде лучевого поражения в дозе 6 Гр происходит повышение функционально-метаболической активности нейтрофилов, что сопровождалось увеличением НСТ-теста на 61 %.

В отдаленном периоде — через 90 дней после сублетального гамма-облучения — достоверно повышается показатель фагоцитоза, фагоцитарное число и НСТ-тест — на 1,7, 1,5 и 1,5 раза соответственно, что свидетельствует о высокой функциональной способности неспецифического фагоцитарного звена иммунитета.

Приведенные результаты позволяют предположить, что высокая фагоцитарная способность нейтрофилов и макрофагов свидетельствует о включении адаптивных механизмов в отдаленном периоде облучения.

У потомков 1-го поколения облученных животных отмечается в сравнении со второй группой достоверное снижение фагоцитоза и НСТ-теста. Но в сравнении с показателями интактной группы фагоцитоз и фагоцитарное число достоверно выше в 1,3 и 1,4 раза соответственно. Функционально-метаболическая активность нейтрофилов на 22 % превышает данные интактного организма.

Таким образом, полученные данные позволяют сделать заключение, что в ближайшем периоде после сублетального облучения в дозе 6 Гр повышается функционально-метаболическая активность нейтрофилов, тогда как в отдаленном периоде после облучения происходит повышение не только функционально-метаболической активности нейтрофилов, но и повышение функциональной активности лейкоцитов. Высокая активность неспецифической фагоцитарной звена иммунитета сохраняется и у облученных потомков 1-го поколения, но в менее выраженной форме.

Вывод

У облученных животных и их потомков 1-го поколения на фоне лейколимфоцитоза отмечается снижение количества СДЗ+ и СД4+ лимфоцитов и повышение функциональной способности лейкоцитов. В отдаленном периоде у облученных животных в гуморальном звене иммунитета отмечается депрессия, тогда как у их потомков 1-го поколения отмечается активация гуморального звена иммунитета. Высокая активность неспецифической фагоцитарной резистентности организма сохраняется и у облученных потомков 1-го поколения, но в менее выраженной форме.

Список литературы

- 1 *Simon D., Bauer M.E., Jeckel C.M., Luz C.* The role of stress factors during aging of the immune system // *Ann. NY Acad. Sci.* — 2003. — Vol. 1153. — P. 139–152.
- 2 *Жетписбаев Б.А.* Иммунокоррекция нарушений адаптационных механизмов при стрессе на фоне лучевого поражения организма: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — Алматы, 1998. — 45 с.
- 3 *Жетписбаев Г.А., Жетписбаев Б.А., Кембаева Д.К., Узбекова С.Е.* Действие острого гамма-излучения и левзея на состояние центральных и периферических лимфоидных органов // *Экология, радиация, здоровье: Материалы III Междунар. конф.* — Семей, 2002. — С. 126.
- 4 *Жетписбаева Х.С., Ильдербаев О.З., Жетписбаев Б.А.* Стресс и иммунная система. — Алматы, 2009. — 235 с.

- 5 Жетписбаев Б.А., Мусайынова А.К., Шалгимбаева Г.С., Хисметова З.А. Отдаленные эффекты малой дозы радиации: иммунологический эффект // Наука и здравоохранение. — 2013. — № 5. — С. 30–31.
- 6 Аклеев А.В., Овчарова Е.А. Иммунный статус людей, подвергшихся хроническому радиационному воздействию в отдаленные сроки // Мед. радиол. и радиац. безопасность. — 2007. — № 3. — С. 5–9.
- 7 Гариб Ф.Ю., Гариб В.Ю., Ризопулу А.П. Способ определения субпопуляции лимфоцитов. 1111 № 2426 Руз // Расмий ахборотнома. — Ташкент, 1995. — № 1. — С. 90.
- 8 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.
- 9 Digeon M., Laver M. Detection of circulating immune complex in human sera by simplified assays with polyethylene glucose // J. Immunol. Methods. — 1977. — № 1. — P. 165–183.
- 10 Гринкевич Ю.Я., Алферов А.Н. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных // Лаб. дело. — 1981. — № 8. — С. 493–495.
- 11 Jerne N., Nordin A. Plaque formation in agar by single antibodyproducing cells // Science. — 1963. — № 140. — P. 336–406.
- 12 Бутаков А.А., Оганезов В.К., Пинегин и др. Спектрофотометрическое определение адгезивной способности полиморфноядерных лейкоцитов периферической крови // Иммунология. — 1991. — № 5. — С. 71–72.
- 13 Кост Е.А. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования. — М., 1975.
- 14 Нагоев Б.С., Шубич М.Г. Значение теста восстановления нитросинего тетразолия для изучения функциональной активности лейкоцитов // Лабораторное дело. — 1981. — № 4. — С. 195–198.
- 15 Монцевичюте-Эрингене Е.В. Упрощенные математико-статистические методы в медицинской исследовательской работе // Пат. физиол. и эксперим. терапия. — 1961. — № 1. — С. 71–76.

Б.А.Жетписбаев, А.Ш.Қыдырмолдина

Сублеталды гамма-сәулелену ықпалынан сәулеленуге ұшыраған жануарлар мен олардың 1 ұрпақтарының иммунологиялық реактивтілік күйі

Гамма-сәулеленудің сублеталды доза әсері сәулеленуге ұшыраған жануарлар мен олардың 1-ұрпақтары иммунитетінің жасушалық буын сандық көрсеткіштерінің төмендеуін және оның сапалық көрсеткіштерінің артуын тудырады. Ұзақ мерзімдік әсерден кейін иммунитеттің гуморалдық буынында орын алған депрессия жануарлардың 1-ұрпақтарында оның белсенуімен алмасады. Бейарнайы фагоцитоздық реактивтіліктің жоғары белсенділігі 1-ұрпақтарында да сақталады, алайда аса белсену тән болмайды.

B.A.Zhetpisbayev, A.Sh.Kydyrmoldina

Status immunological reactivity after exposure to sublethal gamma radiation irradiated animals and their descendants 1 generation

In the irradiated animals and their descendants 1 generation after exposure sublethal dose of gamma radiation causes a decreasing in quantitative and increasing qualitative indicators in cellular immunity. Depression in humoral immunity in the remote period is replaced by its activation in their descendants 1 generation. High activity of nonspecific phagocytic activity saved and in the descendants of 1 generation, but in a less expressed form.

References

- 1 Simon D., Bauer M.E., Jeckel C.M., Luz C. *Ann. NY Acad. Sci.*, 2003, 1153, p. 139–152.
- 2 Zhetpisbayev B.A. *Immune violations of adaptation mechanisms in stress on the background radiation damage the body*: Abstract of diss. d.m.n., Almaty, 1998, p. 45.
- 3 Zhetpisbayev G.A., Zhetpisbayev B.A., Kembayeva D.K., Uzbekova S.E. *Ecology, radiation, health*: Proc. of III Intern. Conf., Semey, 2002, p. 126.
- 4 Zhetpisbayeva H.S., Ilderbaev O.Z., Zhetpisbayev B.A. *Stress and the immune system*, Almaty, 2009, 235 p.
- 5 Zhetpisbayev B.A., Musayynova A.K., Shalgimbaeva G.S., Hismetova Z.A. *Science and healthcare*, 2013, 5, p. 30–31.
- 6 Akleev A.V., Ovtcharova E.A. *Med. radiol. and radiation safety*, 2007, 3, p. 5–9.
- 7 Gharib F.U., Gharib V.Yu., Rizopulu A.P. *Rasmiy Ahborotnoma*, Tashkent, 1995, 1, p. 90.
- 8 Artemova A.G. *Bull. of Experimental biol. and medicine*, 1973, 76, 10, p. 67–71.
- 9 Digeon M., Laver M. *J. Immunol. Methods*, 1977, 1, p. 165–183.

- 10 Grinkevich Yu.Ya., Alferov A.N. *Lab. business*, 1981, 8, p. 493–495.
- 11 Jerne N., Nordin A. *Science*, 1963, 140, p. 336–406.
- 12 Butakov A.A., Oganezov V.K., et al. *Immunology*, 1991, 5, p. 71–72.
- 13 Kost E.A. *Handbook on clinical laboratory tests*, Moscow, 1975.
- 14 Nagoev B.S., Shubich M.G. *Lab. business*, 1981, 4, p. 195–198.
- 15 Montsevichyute-Ohringene E.V. *Pat. physiol. and experimental therapy*, 1961, 1, p. 71–76.

Репозиторий Қарғу