

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В ОТДАЛЁННОМ ПЕРИОДЕ У ЛИЦ, ПОДВЕРГШИХСЯ ХРОНИЧЕСКОМУ ОБЛУЧЕНИЮ *IN UTERO*

Аклеев А. А.

ФГБУН «Уральский научно-практический центр радиационной медицины»
ФМБА России, ФГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия

Ткани эмбриона и плода обладают существенно большей радиочувствительностью, чем ткани взрослого организма. Поэтому внутриутробное облучение представляет собой большую опасность по сравнению с облучением в постнатальном периоде. Проведена комплексная оценка функционального состояния иммунной системы в период реализации отдалённых эффектов хронического облучения у лиц, облучённых *in utero* и в раннем детском возрасте. Показаны разнообразные нарушения со стороны иммунной системы у лиц, облучённых в антенатальном периоде развития, по сравнению с людьми, облучёнными в постнатальном периоде.

Ключевые слова: радиация, иммунитет, внутриутробное облучение

Как уже говорилось ранее, у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию на реке Теча в результате сбросов жидких радиоактивных отходов комбинатом «Маяк», в отдалённом периоде регистрируются разнообразные нарушения со стороны врождённого и адаптивного иммунитета. Считается, что радиационно-опосредованные иммунологические нарушения играют важную роль в формировании не только ранних и отдалённых последствий облучения, прежде всего таких как онкологические заболевания и болезни сердечно-сосудистой системы [1]. Важно отметить, что степень поражения иммунной системы и её способность выполнять свои функции после радиационного воздействия зависят не только от дозы, характера радиационного воздействия и облучённого объёма органов гемо- и иммунопоеза, но также и от возраста облучаемого организма. При этом радиочувствительность иммунокомпетентных клеток зависит от их типа, степени дифференцировки и стадии клеточного цикла [2]. В настоящее время практически неисследованными остаются радиационные эффекты

со стороны иммунной системы у людей, облучённых *in utero*. Известно, что ткани эмбриона и плода обладают существенно большей радиочувствительностью, чем ткани взрослого организма, что связано, в первую очередь, с более интенсивно протекающими в них пролиферативными процессами [3]. Именно поэтому внутриутробное облучение представляет собой большую опасность по сравнению с облучением в постнатальном периоде.

Исследования иммунного статуса у жителей прибрежных сёл реки Теча, антенатальный и ранний детский периоды развития которых пришлись на время максимальных радиоактивных сбросов, проводились в разные годы после начала облучения и позволили выявить многочисленные нарушения со стороны иммунной системы у этих лиц. В первые годы после облучения у них обнаруживались признаки угнетения факторов врождённого иммунитета (снижение фагоцитарной активности нейтрофилов крови и слюны, уменьшение количества НК-клеток в крови, снижение уровня лизоцима в сыворотке крови) [4]. Тогда же в этой группе людей по данным эпиде-

миологических исследований была отмечена повышенная смертность от инфекционных заболеваний. Спустя 15-18 лет, когда мощности доз внешнего и внутреннего облучения существенно снизились, отмечалась нормализация части показателей, характеризующих врождённое звено иммунитета, но одновременно с этим выявлялись нарушения со стороны клеточного звена адаптивного иммунитета: снижение абсолютного числа Т-лимфоцитов, многоцепочечных и активированных Т-лимфоцитов, показателей РБТЛ. Также регистрировались признаки аутосенсibilизации организма [5]. Спустя 30-35 лет после начала облучения вышеуказанные изменения со стороны иммунной системы у антенатально облучённых лиц сохранялись, а проведённый корреляционный анализ позволил обнаружить признаки дисбаланса иммунной системы у этой группы людей [3]. Важно отметить, что у лиц 1950-1954 гг. рождения, антенатальный период развития которых пришёлся на время максимального радиационного воздействия, средние значения показателей иммунитета соответствовали таковым у лиц более старших возрастных групп [6]. Эти данные свидетельствуют, во-первых, о большей радиочувствительности плода и детского организма, во-вторых, о возможности преждевременного старения иммунной системы, вызванного действием ионизирующей радиации [2]. Резюмируя вышеизложенное, необходимо отметить длительность сохранявшихся изменений иммунного статуса у лиц, облучённых *in utero*, а также большую глубину иммунологических нарушений по сравнению с лицами, облучёнными в постнатальном периоде.

Целью нашего исследования явилась комплексная оценка функционального состояния иммунной системы в период реализации отдалённых эффектов хронического облучения у лиц, облучённых *in utero* и в раннем детском возрасте.

Исследуемую группу составили 38 жителей прибрежных сёл реки Теча 1950-х-1960-х гг. рождения, период внутриутробного и раннего детского возраста которых пришёлся на время максимальных радиоактивных сбросов в реку Теча. В первую группу сравнения было включено 233 лица, родившихся до 1950 года, проживавших в тех же административных районах, что и лица исследуемой группы, и облучавшихся исключительно в постнатальном периоде.

Вторую группу сравнения составили 100 жителей тех же административных районов, что и облучённые, доза облучения которых не превышала допустимые пределы для населения России. Средний возраст пациентов исследуемой группы составил $62,47 \pm 0,52$ (56-67) лет, лиц первой группы сравнения – $69,33 \pm 0,38$ (58-88) лет, второй группы сравнения – $58,84 \pm 0,27$ (50-64) лет. Среднее значение дозы облучения ККМ для группы лиц, облучённых *in utero* и в раннем детском возрасте, составило $0,71 \pm 0,09$ (0,07-1,87) Гр, для людей, облучённых в постнатальном периоде – $1,16 \pm 0,05$ (0,08-4,46) Гр, для представителей второй группы сравнения – $0,02 \pm 0,002$ (0,00-0,06) Гр.

Комплексное исследование функционального состояния иммунной системы включало в себя количественный подсчёт содержания в крови иммунокомпетентных клеток с фенотипами: CD19⁺, CD3⁺, CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺, CD16⁺CD56⁺, CD3⁺CD16⁺CD56⁺, CD95⁺; определение функциональной активности нейтрофилов и моноцитов крови (фагоцитарная, лизосомальная активность, интенсивность внутриклеточного кислородзависимого метаболизма), а также уровней цитокинов (ИЛ-1 α , 1 β , 1RA, 2, 4, 6, 8, 10, 17, КСФ-ГМ, КСФ-Г, ФНО α , ИНФ α , ИНФ γ) и иммуноглобулинов классов А, М, G в сыворотке крови. Анализ субпопуляционного состава лимфоцитов проводился на проточном цитометре Navios (Beckman Coulter, USA). Определение функциональной активности нейтрофилов и моноцитов – с помощью микроскопа Axio Imager. A2 (Carl Zeiss, Germany) Определение уровней цитокинов и иммуноглобулинов в сыворотке крови – при помощи автоматического микропланшетного ИФА-анализатора «Lazurite» (DYNEX Technologies, USA).

Не было отмечено статистически значимых отличий в показателях Т-звена адаптивного иммунитета между лицами всех сравниваемых групп. У лиц, облучённых *in utero* и в раннем детском возрасте, регистрировались более высокие уровни сывороточных IgA и IgG относительно людей, подвергавшихся облучению только в постнатальном периоде онтогенеза. Со стороны врождённого звена иммунитета у антенатально облучённых людей были отмечены более высокие показатели числа моноцитов, Т-лимфоцитов с естественной киллерной активностью в крови, а также регистрировалось повышение лизосомальной активности моноцитов относительно группы облучённых

в постнатальном периоде. Вместе с тем, интенсивность внутриклеточного кислородзависимого метаболизма нейтрофилов и моноцитов у облучённых внутриутробно и в детском возрасте была статистически значимо ниже по сравнению с группой облучённых в постнатальном периоде. Не было отмечено статистически значимых отличий в показателях врождённого иммунитета между группой лиц, облучённых *in utero* и в раннем детском возрасте и группой лиц того же возраста, дозы облучения которых не превышали установленных норм для населения России (вторая группа сравнения). Со стороны цитокинового профиля у лиц, облучённых *in utero* и в детстве, регистрировались более высокие значения уровней ИЛ-1α, ИНФа и ИНФγ в сыворотке крови относительно представителей второй группы сравнения. У внутриутробно облучённых лиц также было отмечено статистически значимое повышение содержания КСФ-ГМ в сыворотке крови наряду с более низкими уровнями сывороточных ИЛ-1β и ИЛ-2 относительно облучавшихся только в постнатальном периоде.

Таким образом, иммунологические исследования, проведённые спустя 60-65 лет после начала радиационного воздействия, показали, что со стороны иммунной системы у людей, подвергшихся радиационному воздействию во внутриутробном периоде развития и раннем детском возрасте, регистрировались изменения, отсутствовавшие в группе лиц, облучённых только в постнатальном периоде. Это согласуется с концепцией большей радиочувствительности тканей плода и детского организма [3]. Следует особо подчеркнуть стойкость данных изменений, поскольку с момента начала радиационного воздействия прошёл большой временной промежуток. Стойкость иммунологических изменений у облучённых *in utero* людей может быть связана с повреждением пула стволовых кроветворных клеток и клеток-предшественников в красном костном мозге в период максимального радиационного воздействия. Данные изменения носили разнонаправленный характер, что могло быть связано с существенным влиянием факторов нерадиационной природы, таких как возраст, наличие хронических соматических заболеваний и т.д. в отдалённом периоде хронического радиационного воздействия. Также следует отметить, что выявленные нами изменения в системе иммунитета у людей, внутриутроб-

ное развитие которых пришлось на период максимальных радиоактивных сбросов, не были глубокими и не свидетельствовали о существенной иммуносупрессии. Минимальные отличия группы антенатально облучённых зарегистрированы относительно группы лиц, проживавших в сходных условиях, дозы облучения которых не превышали допустимых уровней для населения России.

Благодарности. Автор выражает глубокую благодарность старшему лаборанту лаборатории радиационной генетики ФГБУН «Уральский научно-практический центр радиационной медицины» ФМБА России Литвиненко Н. П. за большую помощь в проведении иммунологических методов исследования и ведении баз данных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pecaat M. J., Nelson G. A., Gridley D. S. Dose and dose rate effects of whole-body gamma irradiation. I. Lymphocytes and lymphoid organs. *In Vivo* 2001, 15, 195-208.
2. UNSCEAR 2006 Report – Effects of ionizing radiation, New York, United Nations 2009, 2, 334.
3. Аклеев А. В. Состояние иммунитета. В кн.: Медико-биологические и экологические последствия радиоактивного загрязнения реки Теча. Под ред. А. В. Аклеева, М. Ф. Киселева, Москва, Медбиоэкстрем 2001, 415-418. [Akleyev A. V. Immunity status. In: Medical-Biological and Ecological Impacts of Radioactive Contamination of the Techa River. Akleyev A. V., Kisselyov M. F., Moscow, Med-bioextreme 2001, 415-418].
4. Аклеев А. В., Косенко М. М. Обобщение результатов многолетнего изучения иммунитета у населения, подвергшегося облучению. *Иммунология* 1991, 6, 4-7. [Akleyev A. V., Kossenko M. M. Synthesis of the results of long-term study of immunity in populations exposed to irradiation. *Immunology* 1991, 6, 4-7].
5. Шубик М. В., Кирюшкин В. И., Косенко М. М. и др. Состояние иммунологической реактивности у подростков в отдалённый период после радиационного воздействия. *Бюллетень радиационной медицины* 1971, 2, 49-54. [Shubik M. V., Kiryushkin V. I., Kossenko M. M. The state of immunological reactivity in adolescents in the remote period after radiation exposure. *Bulletin of Radiation Medicine* 1971, 2, 49-54].
6. Шведов В. Л., Аклеев А. В. Состояние иммунитета при хроническом поступлении в организм ⁹⁰Sr. В кн.: Радиобиология стронция-90. Челябинск 2001, 106-130. [Shvedov V. L., Akleyev A. V. Immunity status under conditions of chronic ⁹⁰Sr. In: Radiobiology of Strontium-90. Chelyabinsk 2001, 106-130].

FEATURES OF THE FUNCTIONAL STATE OF THE IMMUNE SYSTEM IN PERSONS SUBJECTED TO CHRONIC RADIATION EXPOSURE IN UTERO IN THE REMOTE PERIOD

Akleyev A. A.

*Urals Research Center for Radiation Medicine of the FMBA of Russia, Southern-Urals
State Medical University of the RF Ministry of Public Health, Chelyabinsk, Russia*

The embryonic and fetal tissues are more radiosensitive than the tissues of an adult organism. Therefore, intrauterine irradiation is a greater danger compared to irradiation in the postnatal period. A complex assessment of the functional state of the immune system was carried out in the period of the long-term effects of chronic radiation exposure in persons irradiated *in utero* and in early childhood. Various violations of the immune system are shown in persons irradiated in the antenatal period of development, compared with people irradiated in the postnatal period.

Key words: radiation, immunity, intrauterine exposure

РОЛЬ АДЕНОЗИНТРИФОСФАТА В РЕГУЛЯЦИИ ПРОЦЕССОВ ДЕГРАНУЛЯЦИИ НЕЙТРОФИЛОВ И МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА *IN VITRO*

Асадуллина И. А.¹, Серебрякова М. К.¹, Кудрявцев И. В.^{1,2}

¹ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; ²ФГБУ «НИИ онкологии
им. Н. Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

В настоящее время метаболизм нуклеотидов вызывает большой интерес в контексте регуляции функций иммунокомпетентных клеток при воспалении. Именно аденозинтрифосфату приписываются множество эффектов, обуславливающих хемотаксис, активацию, дегрануляцию различных субпопуляций лейкоцитов. В данном исследовании было изучено влияние АТФ на дегрануляцию нейтрофилов, а также различных субпопуляций моноцитов периферической крови человека *in vitro* при помощи метода проточной цитометрии. Нами показано, что добавление АТФ в концентрациях 1 мМ и 0,1 мМ вызывало достоверное повышение уровня экспрессии маркера дегрануляции CD66b на нейтрофилах. Повышение уровня экспрессии маркера дегрануляции CD63 на субпопуляции «классических» моноцитов, экспрессирующих CD14, показано лишь на сроке 15 мин инкубации, тогда как субпопуляции «неклассических» моноцитов, экспрессирующих CD16, не ответили на внесение данного стимулятора.

Ключевые слова: аденозинтрифосфат, проточная цитометрия, дегрануляция, моноциты, нейтрофилы

Введение. Функции АТФ как внеклеточного посредника известны уже более 30 лет после работ Джеффри Бёрнстока, показавшего роль АТФ как передатчика сигнала по нервному волокну [3]. В нормальных условиях клетки млекопитающих содержат от 1 до 10 мМ АТФ в цитоплазме, однако при патологических состояниях, в процессе активации, дегрануляции или апоптоза АТФ высвобождается из клеток во внеклеточное пространство [13]. Эффекты АТФ проявляет посредством связывания с так называемыми P2-рецепторами,

подразделяющимися на подсемейства P2X и P2Y-рецепторов. Связывание с лигандом приводит к открытию ионного канала, сформированного субъединицами P2X-рецептора и проницаемого для ионов. Ток натрия и кальция внутрь клетки и выход калия из неё ведет к деполяризации мембраны и активации кальций-зависимых сигнальных путей, обуславливающих различные эффекты АТФ [11].

После достижения очагов воспаления, где концентрация АТФ самая высокая, создаются условия для проявления бактерицидной функ-