

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
им. М.В. ЛОМОНОСОВА

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

Овчарова Екатерина Александровна

**ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ХРОНИЧЕСКОГО
РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ПОКАЗАТЕЛИ
ИММУНИТЕТА ЖИТЕЛЕЙ ПРИБРЕЖНЫХ СЕЛ РЕКИ ТЕЧА В
ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ**

03.00.01 – радиобиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва-2006

Работа выполнена на базе Федерального государственного учреждения науки «Уральский научно-практический центр радиационной медицины» (ФГУН «УНПЦ РМ», г. Челябинск)

Научный руководитель:

доктор медицинских наук,
профессор

Аклеев Александр Васильевич

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук,
профессор

Орадовская Ида Васильевна

доктор биологических наук,
профессор

Мазурик Виктор Константинович

Ведущая организация:

Медицинский радиологический научный Центр Российской Академии медицинских наук, г. Обнинск

Защита диссертации состоится «__» _____ 2006 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета Д501.001.65 при Московском государственном университете им. М.В. Ломоносова по адресу: 119899, Москва, Ленинские горы, МГУ, Биологический факультет, ауд. 557

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова

Автореферат разослан «__» _____ 2006 года

Ученый секретарь диссертационного совета

кандидат биологических наук

Веселова Татьяна Владимировна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

В процессе освоения атомной энергии, создания и разработки атомного оружия, при контакте с радиоактивными веществами в производственных условиях имело место облучение больших по численности групп людей. Одним из возможных последствий радиационных аварий является длительное (многолетнее) воздействие малых доз ионизирующего излучения. В этих условиях наиболее значимой становится проблема развития отдаленных последствий облучения (в первую очередь канцерогенных эффектов). Высокая радиочувствительность иммунной системы (Галактионов, 2000, Хаитов и др., 1995, Ярилин, 1998) и длительно сохраняющиеся радиационно-индуцированные изменения в иммунокомпетентных клетках (Ohtaki, 1982), возможно, являются одной из причин нарушения функции иммунного надзора и развития онкопатологии.

Особый интерес может представлять изучение иммунного статуса у жителей прибрежных сел реки Теча, подвергшихся хроническому облучению в результате сброса радиоактивных отходов ПО "Маяк" через 53-56 лет после начала радиационного воздействия. В сложившейся ситуации многолетнему облучению за счет инкорпорированного костной тканью ^{90}Sr подвергается красный костный мозг – главный орган гемо- и иммунопоэза, где находятся стволовые кроветворные клетки, предшественники иммунокомпетентных клеток и происходит их созревание (Аклеев, Киселев, 2001). Изменения иммунитета в группе облученных лиц на ранних этапах характеризовались выраженной иммуносупрессией и зависели от дозы и мощности дозы (Алексеева и др., 1962, 1963). Позже на фоне восстановления основных параметров иммунитета наблюдались признаки аутоаллергизации (Кирюшкин и др., 1970) и снижение резервных возможностей иммунокомпетентных клеток (Зеленина и др., 1977), которые не зависели от дозы облучения. Последние исследования свидетельствовали о практически полном восстановлении иммунной системы у хронически облучавшихся людей (Аклеев., 1986-1990, Силкина, 1999). По данным эпидемиологических наблюдений у лиц, подвергшихся облучению, отмечен повышенный риск развития соматических эффектов стохастической природы (рак, лейкоз) (Косенко, 1998, Krestinina et al., 2005).

За время, прошедшее с начала сбросов радиоактивных отходов в реку Теча, жители прибрежных сел подвергались воздействию комплекса неблагоприятных факторов радиационной и нерадиационной природы. Исследование позволит с одной стороны оценить состояние иммунитета в условиях, когда у людей на фоне

длительного радиационного воздействия возможен срыв адаптации в ответ на дополнительную нагрузку. Это важно, поскольку, большая часть облученных людей достигла возраста, в котором закономерно повышается спонтанный уровень целого ряда заболеваний (злокачественные опухоли, лейкозы, сердечно-сосудистые заболевания и др.), а патологические процессы характеризуются более тяжелым течением. С другой стороны данная работа позволяет изучить динамику и качество восстановления иммунной системы в условиях хронического неравномерного радиационного воздействия.

Цель исследования

Установить радиобиологические закономерности зависимости показателей системного иммунитета от дозы и мощности дозы облучения красного костного мозга, тимуса, селезенки и лимфоузлов у жителей прибрежных сел реки Теча через 53-56 лет после начала хронического облучения.

Задачи исследования

1. Оценить состояние основных звеньев иммунитета (клеточный, гуморальный иммунитет, факторы естественной резистентности и цитокиновый спектр) у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию (индивидуальные значения доз облучения красного костного мозга составили от 0,01 до 1,39 Зв), в отдаленные сроки после начала облучения.
2. Изучить зависимость выявленных изменений в системе иммунитета от дозы и мощности дозы облучения красного костного мозга, тимуса, селезенки и лимфоузлов в период максимального радиационного воздействия (1950 год).
3. Оценить влияние факторов радиационной (доза внутреннего и внешнего облучения красного костного мозга) и нерадиационной природы (пол, национальность, вредные привычки, возраст на момент обследования и начало облучения) на основные параметры иммунитета.
4. Изучить сбалансированность и взаимосвязь различных компонентов иммунной системы у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию в отдаленные сроки после начала облучения.

Положения, выносимые на защиту

1. У людей, подвергшихся хроническому радиационному воздействию в диапазоне доз облучения красного костного мозга от 0,01 до 1,39 Зв, тимуса, селезенки и лимфоузлов – от 0,0004 до 0,45 Зв, через 53-56 лет после начала облучения сохраняются доклинические изменения иммунитета, которые выражаются в снижении содержания лимфоцитов и повышении количества моноцитов в периферической крови, снижении активности клеточного иммунитета (снижение абсолютного количества CD3⁺-лимфоцитов, иммуно-регуляторного индекса

(CD4+/CD8+), абсолютного количества CD11b+-лимфоцитов и повышение относительного количества CD25+-клеток) и естественной цитотоксичности (снижение абсолютного количества CD16+-лимфоцитов и концентрации интерферона-гамма в сыворотке крови), некоторой активации В-звена иммунитета (повышение концентрации Ig A в сыворотке крови) и наличии отдельных признаков иммунологического дисбаланса.

2. Выявленные в отдаленные сроки после начала хронического радиационного воздействия изменения иммунитета жителей прибрежных сел реки Теча не имеют четкой зависимости от дозы и мощности дозы облучения в период наиболее интенсивного радиационного воздействия (максимальные значения мощности дозы облучения красного костного мозга в 1950 году составили 0,3 Зв/год, тимуса, селезенки и лимфоузлов – 0,195 Зв/год) и обусловлены влиянием комплекса факторов как радиационной, так и нерадиационной природы (пол, этнические особенности, употребление алкоголя, курение)

Научная новизна исследования

В настоящей работе впервые проведена комплексная оценка состояния иммунной системы лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, через 53-56 лет после начала облучения, включающая состояние основных иммунологических параметров и взаимосвязей между ними. Установлено снижение активности клеточного иммунитета и естественной цитотоксичности, некоторая активация В-звена иммунитета, снижение содержания лимфоцитов и повышение количества моноцитов в периферической крови при дозах облучения красного костного мозга от 0,01 до 1,39 Зв.

Впервые проведен сравнительный анализ влияния разных условий облучения (преимущественно внешнее и преимущественно внутреннее радиационное воздействие) на состояние системы иммунитета в отдаленные сроки (более 50 лет) после начала облучения, а также изучены зависимости изменений отдельных показателей иммунитета от мощностей доз (на 1950 год) облучения красного костного мозга, тимуса, селезенки и лимфоузлов. Показано, что изменения в системе иммунитета, регистрируемые спустя 53-56 лет после начала облучения, не зависят или очень слабо зависят от дозовых характеристик радиационного воздействия, но преимущественно обусловлены влиянием комплекса факторов как радиационной, так и нерадиационной природы.

Впервые изучена зависимость выраженности некоторых признаков иммунологического дисбаланса через 53-56 лет после начала хронического радиационного воздействия от дозы облучения красного костного мозга. Установлено, что отдельные проявления дисбаланса в системе иммунитета

наиболее выражены у людей, подвергшихся хроническому радиационному воздействию при дозах облучения красного костного мозга более 1,0 Зв.

Теоретическая и практическая значимость

Результаты исследования дополняют имеющиеся данные о процессах, происходящих в иммунной системе жителей прибрежных сел реки Теча, подвергшихся хроническому неравномерному радиационному воздействию в диапазоне доз облучения красного костного мозга от 0,01 до 1,39 Зв, что позволяет проследить динамику иммунологических изменений и степень восстановления системы иммунитета.

Выявленные иммунологические изменения у людей, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, служат обоснованием для динамического наблюдения за этой категорией лиц с целью профилактики и ранней диагностики иммунодефицитных состояний (в том числе онкологических и лимфопролиферативных заболеваний). Полученные данные необходимо учитывать при оценке индивидуальной чувствительности людей к хроническому радиационному воздействию с учетом их пола, возраста, этнической принадлежности.

Апробация работы

Материалы диссертационной работы были доложены и обсуждены на конференции студентов и аспирантов Челябинского государственного университета (Россия, г. Челябинск, 2005), III Международной научно-практической конференции «Медицинские и экологические эффекты ионизирующего излучения» (Россия, г. Северск-Томск, 2005), Российской научно-практической конференции «Современные технологии в иммунологии: иммунодиагностика и иммунотерапия» (Россия, Курск, 2006), Конференции с международным участием «Здоровье детей и радиация: 20 лет аварии на Чернобыльской АЭС» (Россия, Москва, 2006), Всероссийской научной конференции «Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды» (Россия, Челябинск, 2006), 5 конференции иммунологов (Россия, Оренбург, 2006).

Публикации результатов исследования

По материалам диссертации опубликовано 9 печатных работ.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 164 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы исследования», четырех глав собственных исследований, главы «Обсуждение полученных результатов»,

выводов и списка литературы, включающего 172 отечественный и 71 иностранный источник. Работа иллюстрирована 17 таблицами и 22 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Иммунный статус оценивали у жителей прибрежных сел реки Теча, пострадавших в результате сброса $7,6 \cdot 10^7$ м³ отходов радиохимического производства ПО «Маяк» в речную систему Теча-Исеть-Тобол (Akleyev, Kisselyov, 2001). Доза на мягкие ткани была обусловлена воздействием внешнего гамма-излучения и ¹³⁷Cs. Доза внешнего облучения сформировалась в первые десять лет от начала сбросов. Накопление дозы внутреннего облучения наиболее интенсивно происходило в первые шесть - восемь лет с начала радиационного воздействия, главным образом, за счет остеотропного ⁹⁰Sr (период полураспада равен 29 годам) (Аклеев и др., 1991). При этом критическим органом является красный костный мозг – центральный орган гемо- и иммунопоэза. Со временем мощность дозы облучения снижалась (Аклеев, Киселев, 2001).

Группа обследованных лиц была сформирована по принципу случайной выборки. Основную группу составили 127 человек, проживающих в прибрежных селах реки Теча и подвергшихся хроническому радиационному воздействию. В группу сравнения вошли 55 человек проживающих в сходных социально-экономических условиях. Средний возраст в группе облученных составил $66,1 \pm 0,47$ лет (55-79 лет), в группе сравнения $67 \pm 0,92$ лет (56-80 лет). В обеих группах преобладали лица тюркской этнической группы (66,1% - в основной группе, 52,7% - в группе сравнения), большую часть обследованных в каждой из обследованных групп составили женщины (62,2% - в группе хронически облученных людей, 78,2% - в контроле).

Средняя доза облучения красного костного мозга (ККМ) в группе обследованных лиц составила $0,69 \pm 0,03$ Зв (0,003-1,39), средняя доза облучения тимуса, селезенки и лимфоузлов - $0,07 \pm 0,01$ Зв (0,0004-0,45), средняя мощность дозы облучения ККМ (1950 год) - $0,097 \pm 0,01$ Зв/год (0,01-0,3), средняя мощность дозы облучения тимуса, селезенки и лимфоузлов (1950 год) - $0,02 \pm 0,004$ Зв/год (0,0001-0,195).

В исследование включались люди, в ходе клинического обследования признанные практически здоровыми, не имеющие аутоиммунных, эндокринных, острых инфекционных заболеваний и злокачественных новообразований.

Обследованные группы не различались по частоте встречаемости основных общесоматических заболеваний.

Для оценки иммунологических показателей определяли общее количество лейкоцитов в периферической крови, относительное и абсолютное содержание ПМЯЛ и моноцитов. Содержание различных субпопуляций лимфоцитов оценивали методом иммунофенотипирования (Сибиряк и др., 1997) с использованием моноклональных антител серии ЛТ: анти-CD3, анти-CD4, анти-CD8, анти-CD11b, анти-CD16, анти-CD20, анти-CD25, анти-CD34, анти-CD95 («Сорбент», Россия).

Поглотительную способность ПМЯЛ и моноцитов оценивали в тесте с микросферами полистирольного латекса (Фрейдлин, 1976).

Ферментативную активность нейтрофилов и моноцитов определяли по методу И.С. Фрейдлин (1976) в модификации Л.Я. Эберта (1983).

Кислородзависимый метаболизм нейтрофилов и моноцитов периферической крови оценивали при помощи НСТ-теста в спонтанном (Виксман, Маянский, 1979) и индуцированном (стимуляция микросферами полистирольного латекса) (Segal, 1985) его вариантах.

Концентрации сывороточных иммуноглобулинов классов А, G, М и цитокинов (ФНО- α , ИФН- γ и ИЛ-8) определяли методом иммуно-ферментного анализа («Вектор-Бест», Россия).

Для обработки полученных результатов использовались общепринятые методы вариационной статистики с вычислением средней арифметической величины и ее стандартной ошибки ($M \pm m$). Дисперсия индивидуальных значений оценивалась по максимальному и минимальному значению переменной в вариационном ряду и величине среднего квадратичного отклонения (σ) (Гланц, 1999). Достоверность различий средне групповых величин оценивали по критерию Стьюдента или при помощи U-теста Манна и Уитни. Сравнение выборок по качественным признакам проводили методом χ -квадрата или по критерию Фишера (одностороннему) Различия считали достоверными при $p < 0,05$ (Гланц, 1999). Взаимосвязи между отдельными показателями иммунитета и дозовыми характеристиками исследовали методом регрессионного анализа для линейной модели (Урбах, 1963). Значимость и силу влияния факторов радиационной и нерадиационной природы на отдельные показатели оценивали при помощи многофакторного дисперсионного анализа (Гланц, 1999). Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи пакетов прикладных программ Microsoft Excel, SPSS 11.0, STATISTICA 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Состояние иммунной системы лиц, подвергшихся
хроническому радиационному воздействию в отдаленные сроки**

У жителей прибрежных сел реки Теча в отдаленные сроки после начала хронического неравномерного облучения отмечено снижение относительного (29,9% - основной группе, 37,2% - в группе сравнения, $p=0,001$) и абсолютного количества лимфоцитов ($1,78 \cdot 10^9/\text{л}$, при $2,19 \cdot 10^9/\text{л}$ – в контроле, $p=0,01$), что согласуется с результатами ранее проведенного на данной когорте исследования (Варфоломеева, 2006). Регистрируются изменения в системе клеточного иммунитета (рис. 1), которые выражаются в снижении абсолютного количества Т-лимфоцитов ($0,56 \cdot 10^9/\text{л}$ – в группе облученных лиц, $0,72 \cdot 10^9/\text{л}$ – в контроле, $p=0,001$), CD4+-клеток ($0,48 \cdot 10^9/\text{л}$ при $0,61 \cdot 10^9/\text{л}$ – в контроле, $p=0,03$), иммунорегуляторного индекса (CD4+/CD8+) (1,47 – основной группе, 1,71 – в группе сравнения, $p=0,001$) и абсолютного количества CD11b+-лимфоцитов ($0,27 \cdot 10^9/\text{л}$ – у облученных людей, при $0,4 \cdot 10^9/\text{л}$ – в контроле, $p=0,001$).

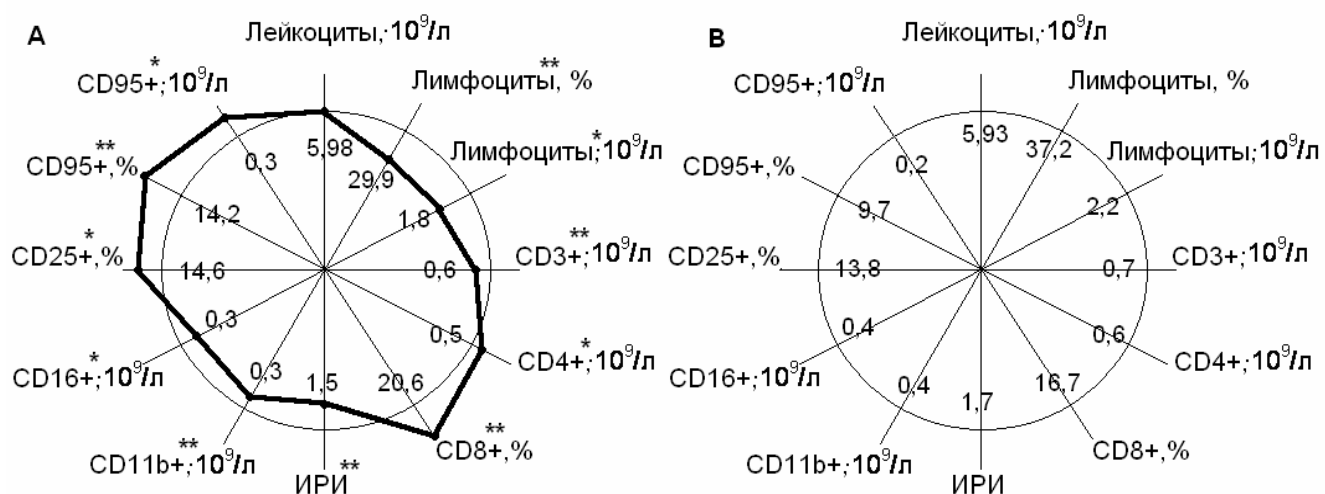


Рис. 1. Показатели популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов в группе облученных лиц, значительно отличающиеся от контроля. А – основная группа, В – группа сравнения, * - достоверность различий по сравнению с контролем $p < 0,05$, ** - достоверность различий по сравнению с контролем $p < 0,01$.

Повышение относительного количества CD8+- (20,6% - в основной группе, 16,7% - в группе сравнения, $p=0,003$) и CD25+-лимфоцитов (14,6% - у облученных лиц, 13,9% - в контроле, $p=0,03$) свидетельствует о некоторой активации Т-клеточного иммунного ответа. У облученных лиц наблюдается повышенная готовность лимфоцитов к Fas-опосредованному апоптозу. Абсолютное количество

CD95+-лимфоцитов в группе облученных лиц составляет $0,25 \cdot 10^9/\text{л}$, при $0,18 \cdot 10^9/\text{л}$ – в контроле ($p=0,01$), относительное количество - 14,2% в группе облученных людей, 9,7% - в контроле ($p=0,001$).

Снижение абсолютного количества CD16+-лимфоцитов ($0,32 \cdot 10^9/\text{л}$ – в основной группе, $0,41 \cdot 10^9/\text{л}$ – в группе сравнения, $p=0,02$) (рис.1) и концентрации ИФН- γ (29,7 пг/мл – у облученных лиц, 38,8 пг/мл – в контроле, $p=0,02$) (рис.2) в сыворотке крови облученных людей свидетельствует о понижении естественной цитотоксичности. Снижение количества натуральных киллеров и изменение активности Т-звена иммунитета у жителей прибрежных сел реки Теча регистрировалось через 35-44 года после начала хронического радиационного воздействия (Аклеев, 1990).

Отмечается статистически значимое ($p=0,01$) повышение концентрации сывороточного Ig A (3,77 мг/мл – в основной группе, 2,62 мг/мл – в группе сравнения) на фоне нормального содержания В-лимфоцитов в периферической крови облученных людей (рис. 2).

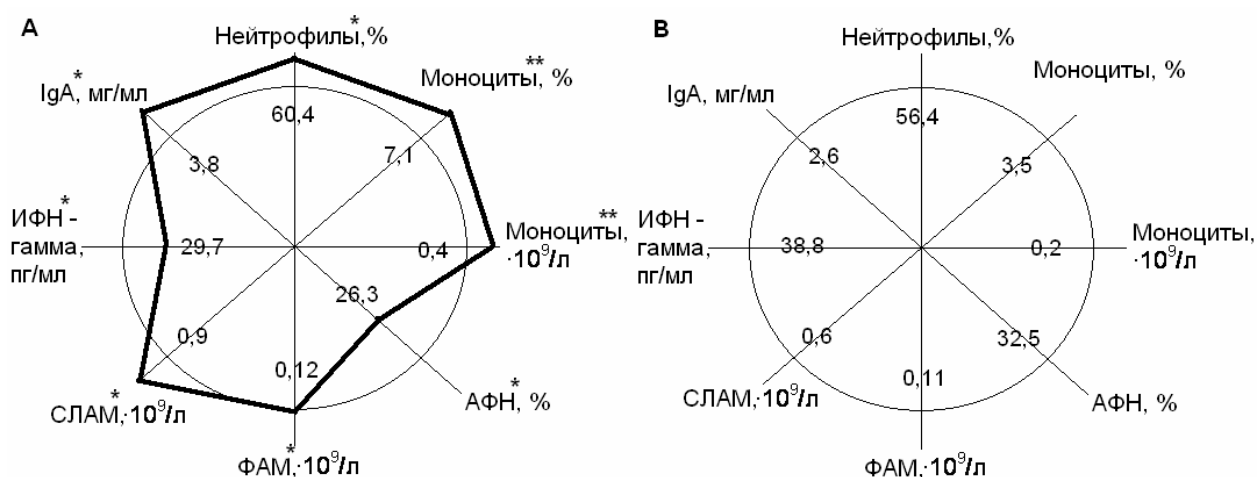


Рис. 2. Показатели гуморального иммунитета, цитокинового спектра и функциональной активности фагоцитов в группе облученных лиц, значительно отличающиеся от контроля.

А – основная группа, В – группа сравнения, * - достоверность различий по сравнению с контролем $p < 0,05$, ** - достоверность различий по сравнению с контролем $p < 0,01$.

В группе лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, регистрируется увеличение абсолютного ($0,43 \cdot 10^9/\text{л}$ – в группе облученных людей, $0,2 \cdot 10^9/\text{л}$ – в контрольной группе, $p=0,001$) и относительного (7,1% - в основной группе, 3,5% - в группе сравнения, $p=0,001$) количества моноцитов и относительного количества нейтрофилов (60,4% - у облученных людей, 56,4% - в контроле, $p=0,02$) в периферической крови. Отмечается снижение активности фагоцитоза нейтрофилов (26,3% - в основной группе, 32,5% - в группе сравнения,

$p=0,03$), увеличение фагоцитарной активности моноцитов одного литра крови ($0,12 \cdot 10^9/\text{л}$ – в группе облученных лиц, $0,1$ – в контроле, $p=0,04$) и суммарной лизосомальной активности моноцитов ($0,87 \cdot 10^9/\text{л}$ – в основной группе, при $0,6 \cdot 10^9/\text{л}$ – в контроле).

Полученные результаты согласуются с данными клинических и экспериментальных исследований о высокой радиочувствительности и медленном восстановлении Т-звена иммунитета (Ярилин и др., 1983, Yarilin et al., 1993) и процессов межклеточной кооперации (Петров, 1971) в отдаленные сроки после радиационного воздействия и, особенно, при внутреннем облучении (Nillson et al., 1980).

Зависимость иммунологических изменений от дозы облучения красного костного мозга

Исследование зависимости иммунологических изменений от дозы облучения красного костного мозга позволяет судить о том, какое влияние оказывает хроническое облучение, обусловленное остеотропным ^{90}Sr , на процессы лимфопоэза и клетки предшественники лимфоцитов.

На основании результатов анализа установлено, что слабо коррелируют с дозой облучения красного костного мозга лишь некоторые иммунологические параметры.

Относительное количество лимфоцитов снижалось (рис. 3) с увеличением дозы облучения ККМ ($r=0,28$, $p=0,001$).

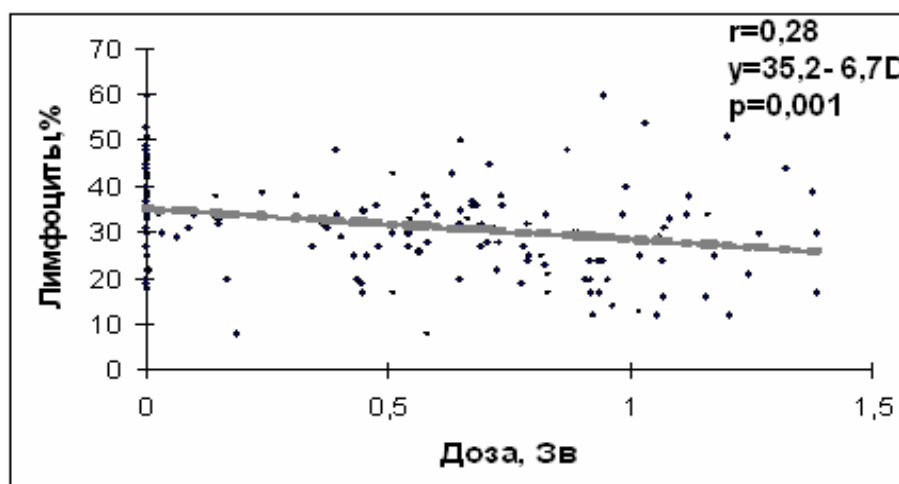


Рис. 3. Регрессионная зависимость относительного количества лимфоцитов от дозы облучения ККМ (D, Зв).

Аналогичная зависимость от дозы облучения ККМ наблюдалась для абсолютного количества CD11b⁺-лимфоцитов ($r=0,27$, $y=0,36-0,11 \cdot D$, где D – доза облучения красного костного мозга, $p=0,001$).

Относительное количество нейтрофилов увеличивалось с увеличением дозы облучения красного костного мозга ($r=0,2$, $p=0,01$) (рис. 4). Отмечалось некоторое увеличение абсолютного ($r=0,3$, $y=0,3+0,2 \cdot D$, где D – доза облучения красного костного мозга, $p=0,001$) и относительного ($r=0,29$, $y=4,8+2,56 \cdot D$, где D – доза облучения красного костного мозга, $p=0,001$) количества моноцитов с увеличением дозы облучения ККМ.

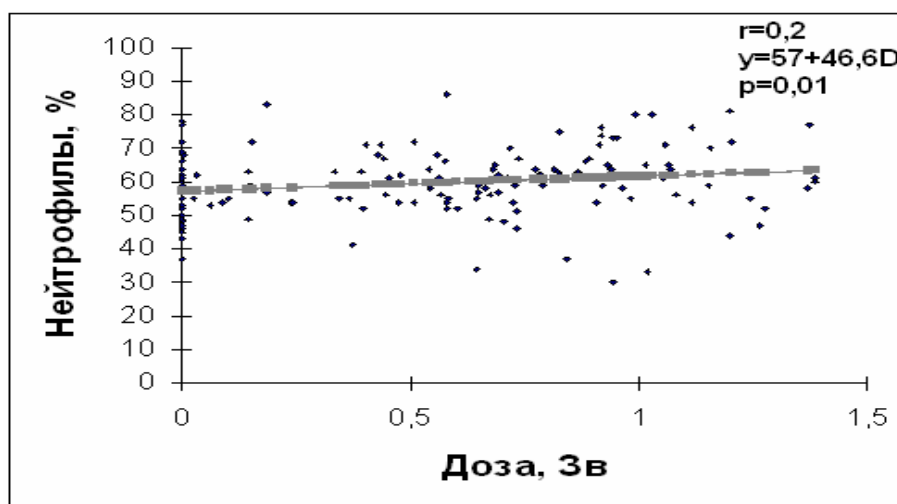


Рис. 4. Регрессионная зависимость относительного количества нейтрофилов от дозы облучения ККМ (D, Зв).

Остальные показатели клеточного, гуморального иммунитета, цитокинового спектра и неспецифической резистентности не имели линейной зависимости от дозы облучения ККМ.

Таким образом, наблюдаемые в группе хронически облучавшихся лиц иммунологические изменения, не имеют четко выраженной зависимости от дозы облучения красного костного мозга.

Зависимость иммунологических изменений от дозы облучения тимуса, селезенки и лимфоузлов

Исследование зависимости иммунологических изменений от дозы облучения мягких тканей позволяет судить о влиянии хронического гамма- и, в меньшей степени, бета-облучения на пул зрелых лимфоцитов в периферических органах иммунной системы (селезенке и лимфоузлах) и кровотоке и клеток предшественников в тимусе.

В группе лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, через 53-56 лет после начала облучения наблюдается очень слабая корреляционная зависимость между относительным количеством Т-цитотоксических/супрессоров ($r=0,18$, $p=0,05$) и дозой облучения тимуса, селезенки и лимфоузлов, уравнение регрессии имеет вид: $y=21,6-13,79 \cdot D_1$, где D_1 – доза облучения тимуса, селезенки и лимфоузлов. Значение иммуно-регуляторного индекса несколько повышалось (рис. 5) с увеличением дозы облучения тимуса, селезенки и лимфоузлов ($r=0,19$, $p=0,04$).

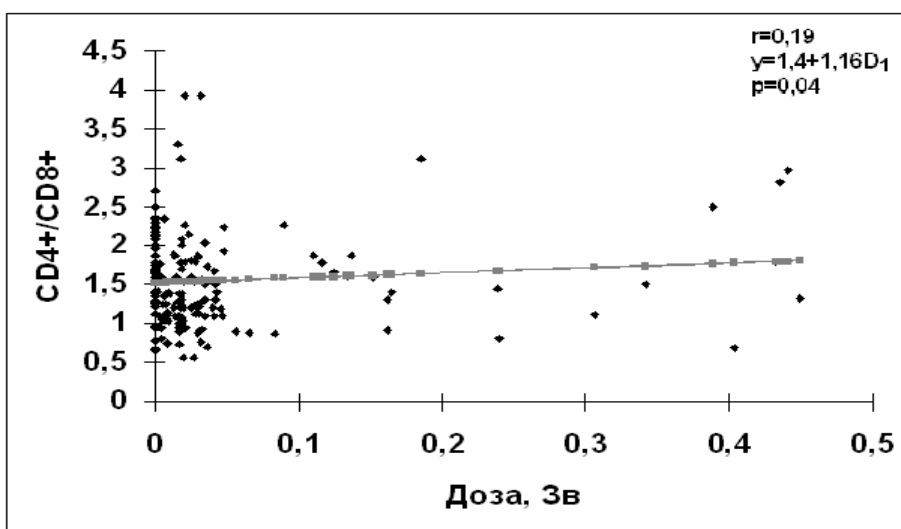


Рис. 5. Регрессионная зависимость значения иммуно-регуляторного индекса ($CD4+/CD8+$) от дозы облучения тимуса, селезенки и лимфоузлов (D_1 , Зв).

Таким образом, в отдаленные сроки (53-56 лет после начала облучения) наблюдаемые в группе облученных лиц, иммунологические изменения не имеют четко выраженной зависимости от дозы облучения на мягкие ткани.

Зависимость иммунологических изменений от мощности дозы облучения на период максимального радиационного воздействия

При исследовании влияния хронического радиационного воздействия на иммунную систему помимо дозы облучения представляется необходимым учитывать такой параметр, как мощность дозы радиационного воздействия. Как отмечалось выше, максимальные мощности дозы облучения наблюдались в 1950 и 1951 годах, затем резко падали. Начиная с 1956 года, мощность дозы облучения у жителей прибрежных сел реки Теча постепенно снижалась и на момент обследования была крайне низкой, поэтому исследовали зависимость иммунологических изменений от мощности дозы облучения ККМ, а также от мощности дозы тимуса, селезенки и лимфоузлов в период максимального радиационного воздействия - 1950 год.

Анализ зависимости показателей иммунитета от мощности дозы облучения ККМ в период максимальной интенсивности радиационного воздействия (1950 г.) не выявил статистически значимых зависимостей ни по одному из показателей иммунитета.

Однако была отмечена очень слабая статистически значимая зависимость между значениями иммуно-регуляторного индекса (CD4+/CD8+) и мощностью дозы облучения тимуса, селезенки и лимфоузлов в 1950 г ($r=0,19$, $p=0,04$) (рис.6). По мере увеличения мощности дозы облучения тимуса, селезенки и лимфоузлов значения иммуно-регуляторного индекса несколько увеличивались.

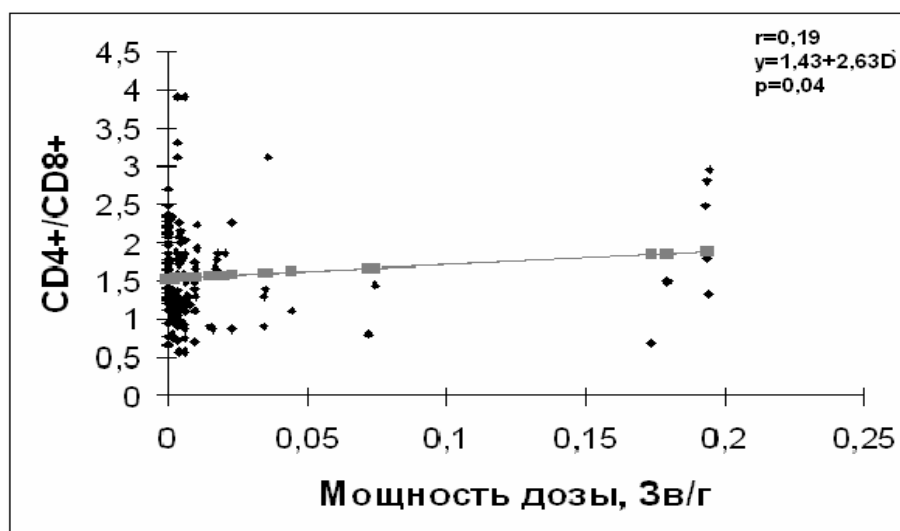


Рис. 6. Регрессионная зависимость значения иммуно-регуляторного индекса (CD4+/CD8+) от мощности дозы облучения тимуса, селезенки и лимфоузлов (1950 г.) (D, Зв/год).

Таким образом, наблюдаемые в группе хронически облучавшихся лиц иммунологические изменения, не имеют четко выраженной зависимости от мощности дозы облучения красного костного мозга, тимуса, селезенки и лимфоузлов в период максимального воздействия. Полученные результаты согласуются с литературными данными об отсутствии выраженных дозовых зависимостей изменений в системе иммунитета в отдаленные сроки после радиационного воздействия (Аклеев, Силкина, 2001, Орадовская, 1996, 2006, Шубик, 2003 и др.)

Анализ влияния факторов радиационной и нерадиационной природы на отдельные иммунологические показатели

Методом многофакторного дисперсионного анализа оценивали влияние факторов радиационной (доза внешнего и внутреннего облучения ККМ) и

нерадиационной природы (пол, принадлежность к этнической группе, возраст на момент обследования, возраст на момент максимального радиационного воздействия (1950 г.), употребление алкоголя и табакокурение) на отдельные показатели иммунитета, статистически значимо отличающиеся в группе облученных лиц от контроля.

Анализ проводили отдельно в группе лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, и в группе необлученных людей. Результаты анализа показали, что значимо зависели от выше перечисленных факторов лишь некоторые иммунологические показатели (таблица 17).

Таблица 1

Влияние факторов радиационной и нерадиационной природы
на отдельные параметры иммунитета

Показатель	Доза внутреннего облучения ККМ	Пол	Этническая принадлежность	Алкоголь	Курение
Моноциты, %	-	F=37,5 p=0,04	-	-	-
Моноциты, 10^9 /л	-	-	-	-	F=4,3 p=0,04
CD3+, $\cdot 10^9$ /л	-	-	F=5,6 p=0,04	F=3,99 p=0,05	-
CD11b+, $\cdot 10^9$ /л	F=2,8 p=0,04	-	-	-	-
CD16+, $\cdot 10^9$ /л	-	F=23,2 p=0,02	-	-	-

В группе облученных лиц выявлено достоверное влияние пола обследованных на относительное количество моноцитов (F=37,5, p=0,04) (среднее значение у женщин составило 6,7%, у мужчин - 7,8%) и абсолютное количество CD16+-лимфоцитов (F=23,2, p=0,02) (среднее значение этого показателя у женщин составило $0,31 \cdot 10^9$ /л, у мужчин – $0,33 \cdot 10^9$ /л).

Абсолютное количество Т-лимфоцитов у облученных людей, принадлежащих к тюркской этнической группе, составило $0,51 \cdot 10^9$ /л, у лиц славянской группы – $0,66 \cdot 10^9$ /л, (F=5,6, p=0,04); у лиц, употребляющих спиртные напитки, этот показатель был ниже ($0,5 \cdot 10^9$ /л), по сравнению с непьющими людьми ($0,57 \cdot 10^9$ /л), (F=3,99, p=0,05). Абсолютное количество CD11b+-лимфоцитов снижалось по мере увеличения дозы внутреннего облучения ККМ, (F=2,8, p=0,04). Абсолютное

количество моноцитов в группе курящих лиц в среднем составило $0,45 \cdot 10^9/\text{л}$, у некурящих людей – $0,41 \cdot 10^9/\text{л}$, ($F=4,3$, $p=0,04$).

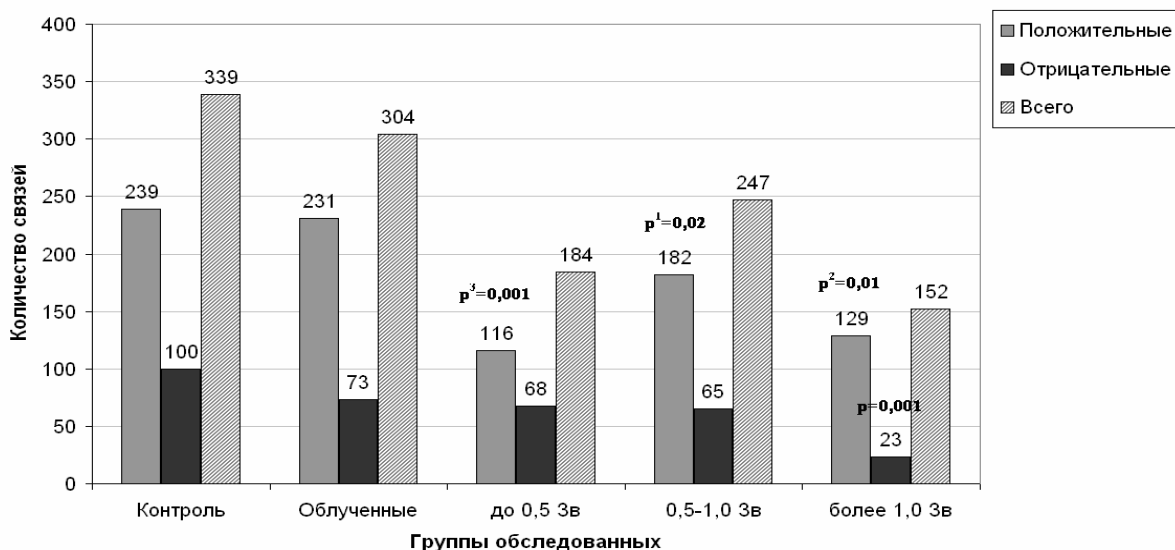
Таким образом, анализ влияния факторов радиационной и нерадиационной природы показал, что доза внутреннего облучения красного костного мозга является значимым фактором только для одного показателя иммунитета – абсолютного количества CD11b+-лимфоцитов в периферической крови. На отдельные показатели иммунитета в группе хронически облученных людей оказывали значимое влияние такие факторы, как пол (абсолютное количество натуральных киллеров и относительное количество моноцитов), национальность (абсолютное количество Т-лимфоцитов), употребление спиртных напитков (абсолютное количество Т-лимфоцитов) и курение (абсолютное количество моноцитов). Полученные результаты позволяют предположить, что изменения в иммунной системе людей, подвергшихся хроническому радиационному воздействию в диапазоне доз облучения красного костного мозга от 0,01 до 1,39 Зв, в отдаленные сроки (53-56 лет) после начала облучения обусловлены, главным образом, воздействием комплекса факторов радиационной и нерадиационной природы. Это подтверждается отсутствием четко выраженных зависимостей наблюдаемых в системе иммунитета отклонений от дозовых характеристик (накопленной дозы и мощности дозы облучения в период максимального радиационного воздействия) и согласуются с данными литературы (Шубик, 2003, Ширинский и др., 2001 и др.).

Анализ сбалансированности иммунной системы у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию.

Анализ количества и характера взаимосвязей внутри иммунной системы (Петров и др., 1983, Михайленко, Федотова, 2000) у людей, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, через 53-56 лет после начала радиационного воздействия показал, что в целом они соответствуют таковым у необлученных лиц. Общее количество достоверных ($p < 0,05$) корреляционных связей (рис. 7) в группе хронически облученных людей несколько снижено по сравнению с контрольной группой и составляет 304 связи в основной группе, из них: 73 – отрицательные и 231 – положительная (в группе сравнения - 339 связей, из них: 100– отрицательные, 239 - положительные).

Общее количество достоверных положительных корреляционных связей в подгруппе по дозе на ККМ «0,5-1,0 Зв» (182) достоверно выше, чем в подгруппах «более 1,0 Зв» (129, $p^2=0,01$) и «до 0,5 Зв» (116, $p^1=0,02$), а в подгруппе «до 0,5 Зв»

значимо ниже по сравнению с подгруппой «более 1,0 Зв» ($p^3=0,001$). В подгруппе «более 1,0 Зв» общее количество отрицательных связей (23) достоверно снижено



по отношению к контрольной группе (100, $p=0,001$).

Рис. 7. Распределение корреляционных связей в подгруппах по дозе облучения ККМ.

Примечание: p – достоверность различий по сравнению с контролем, p^1 – достоверность различий между группами «до 0,5 Зв» и «0,5-1,0 Зв», p^2 – достоверность различий между группами «0,5-1,0 Зв» и «более 1,0 Зв», p^3 – достоверность различий между группами «до 0,5 Зв» и «более 1,0 Зв»

Наблюдается некоторое уменьшение общего количества достоверных корреляционных связей по мере увеличения дозы облучения красного костного мозга. Однако статистически значимых различий между общим числом связей при сравнении дозовых подгрупп с контролем и между собой не отмечается (рис. 8).

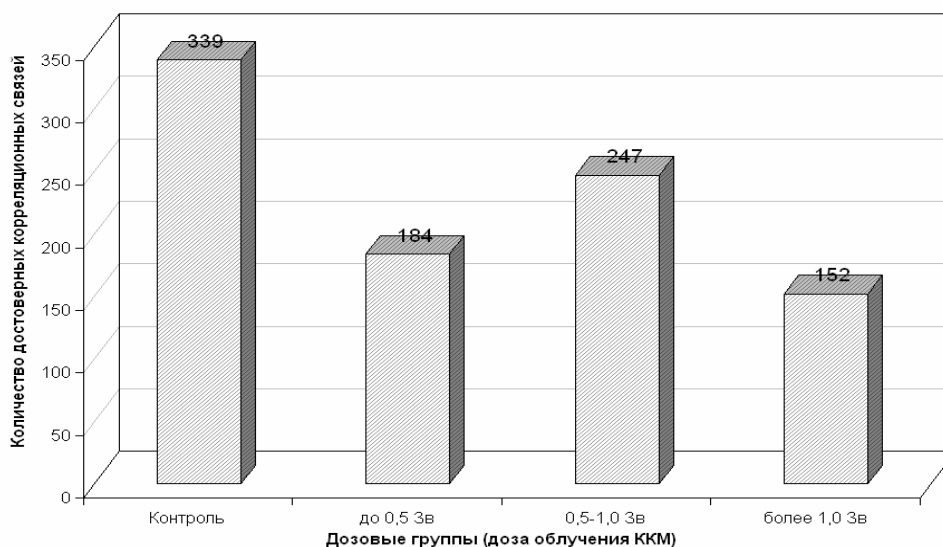


Рис. 8. Зависимость общего количества достоверных корреляционных связей от дозы облучения ККМ.

Хотя в целом иммунная система у людей, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, через 53-56 лет после начала облучения сбалансирована, результаты анализа корреляционных взаимосвязей между различными показателями иммунитета свидетельствуют о наличии некоторых признаков иммунологического дисбаланса. В группе облученных лиц в ряде случаев принципиально изменяется характер и сила связей, часть характерных для контрольной группы связей исчезла, появились новые связи, отсутствующие в группе сравнения.

Полученные результаты согласуются с опубликованными ранее экспериментальными данными о том, что дисбаланс иммунной системы после облучения сохраняется дольше, чем изменения отдельных иммунологических показателей, и в отдаленном периоде может быть основной причиной неполноценности функционирования иммунной системы (Ярилин, 1982).

Таким образом, через 53-56 лет после начала хронического радиационного воздействия в диапазоне доз облучения ККМ от 0,003 до 1,39 Зв, регистрируются некоторые доклинические изменения иммунитета у жителей прибрежных сел реки Теча. Наблюдается снижение содержания лимфоцитов, повышение относительного и абсолютного количества моноцитов в периферической крови, снижение активности клеточного иммунитета и естественной цитотоксичности, некоторая активация В-звена иммунитета.

Изменения иммунитета слабо зависят от дозы облучения и мощности дозы облучения в период максимального радиационного воздействия. Доза внутреннего облучения красного костного мозга является значимым фактором для абсолютного количества CD11b⁺-лимфоцитов в периферической крови. На отдельные параметры иммунитета влияют факторы нерадиационной природы (пол, национальность, вредные привычки).

У облученных людей в основном сохраняется сбалансированность различных компонентов иммунного ответа. Отмечаются лишь некоторые признаки иммунологического дисбаланса, наиболее выраженные при дозе облучения красного костного мозга более 1,0 Зв.

Выводы

1. В отдаленные сроки (53–56 лет) от начала радиационного воздействия у жителей прибрежных сел реки Теча, при дозах облучения красного костного мозга

в диапазоне от 0,003 до 1,39 Зв, тимуса, селезенки и лимфоузлов – от 0,0004 до 0,45 Зв и мощности дозы облучения красного костного мозга в 1950 году в диапазоне от 0,01 до 0,3 Зв/год, тимуса, селезенки и лимфоузлов – от 0,0001 до 0,195 Зв/год, сохраняется пониженное содержание лимфоцитов и повышенное количество моноцитов в периферической крови, а также изменения в иммунной системе, которые выражаются в наличии признаков иммунологического дисбаланса, снижении активности клеточного иммунитета и естественной цитотоксичности, некоторой активации В-звена иммунитета.

2. Изменения клеточного иммунитета, отмеченные в отдаленные сроки после начала радиационного воздействия, выражаются в снижении абсолютного количества CD3+-лимфоцитов, снижении иммуно-регуляторного индекса (CD4+/CD8+) преимущественно за счет повышенного количества Т-супрессоров/цитотоксических лимфоцитов, повышении относительного количества активных лимфоцитов (CD25+) и повышенной экспрессии CD95 на мембранах лимфоцитов. Не установлено зависимости вышеуказанных изменений от дозы и мощности дозы облучения (в 1950 году) красного костного мозга, тимуса, селезенки и лимфоузлов. Отмечается снижение абсолютного количества CD11b+-клеток с увеличением дозы облучения красного костного мозга за счет ^{90}Sr .

3. Изменения гуморального иммунитета в отдаленные сроки после начала хронического неравномерного радиационного воздействия характеризуются увеличением концентрации иммуноглобулина А в сыворотке крови облученных людей, которое не зависит от накопленной дозы облучения красного костного мозга и мягких тканей и интенсивности радиационного воздействия в 1950 году.

4. Факторы естественной резистентности у лиц, подвергшихся хроническому облучению, такие как фагоцитарная активность нейтрофилов и моноцитов периферической крови, лизосомальная активность и способность этих клеток к завершённому фагоцитозу не отличаются от таковых у необлученных лиц. Не установлено зависимости состояния показателей естественной резистентности от накопленной дозы и мощности дозы облучения (в 1950 году) красного костного мозга, тимуса, селезенки и лимфоузлов.

5. Изменения цитокинового спектра у жителей прибрежных сел реки Теча в отдаленные сроки характеризуются пониженной концентрацией интерферона-гамма в сыворотке крови, что на фоне пониженного количества естественных киллеров свидетельствует о снижении естественной цитотоксичности. Данные изменения в исследуемом диапазоне доз не зависят от накопленной дозы облучения и мощности дозы в период максимального радиационного воздействия.

Уровень интерлейкина-8 и фактора некроза опухолей альфа в группе облученных лиц не отличается от концентрации этих цитокинов в группе необлученных людей.

6. В отдаленные сроки после начала радиационного воздействия у хронически облучавшихся лиц отмечено влияние комплекса факторов как радиационной (доза внутреннего облучения красного костного мозга), так и нерадиационной природы (пол, национальность, употребление алкоголя, курение) на отдельные показатели иммунитета: абсолютное количество CD3+-лимфоцитов, абсолютное количество естественных киллеров, относительное и абсолютное количество моноцитов.

7. У лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, через 53-56 лет после начала облучения отмечаются некоторые признаки иммунологического дисбаланса (исчезают достоверные корреляционные связи, преимущественно между показателями Т-клеточного звена, и появляются качественно новые корреляционные связи, главным образом, отражающие процессы взаимодействия между различными отделами иммунной системы). Наиболее выраженные признаки иммунологического дисбаланса наблюдаются при дозе облучения красного костного мозга более 1,0 Зв.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Аклеев А.В., Веремеева Г.А., Овчарова Е.А. Влияние хронического радиационного воздействия на уровень апоптоза лимфоцитов периферической крови // Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды: Материалы Всероссийской научной конф., 11-15 октября 2004 г. – Челябинск, 2004. – С. 165-166.
2. Аклеев А.В., Веремеева Г.А., Худякова О.И., Варфоломеева Т.А., Овчарова Е.А., Стяжкина Е.В. Влияние хронического облучения на структурно-функциональное состояние клеток периферической крови человека // Бюллетень Сибирской медицины. – 2005. - № 2. – С. 9-11.
3. Аклеев А.В., Овчарова Е.А. Состояние системного иммунитета у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, в отдаленные сроки // Бюллетень Сибирской медицины. – 2005. - № 2. – С. 13.
4. Аклеев А.В., Веремеева Г.А., Худякова О.И., Варфоломеева Т.А., Овчарова Е.А., Стяжкина Е.В. Состояние адаптационных возможностей у людей, подвергшихся хроническому облучению, в отдаленные сроки // Хроническое радиационное воздействие: медико-биологические эффекты: Материалы III Международного симпозиума, 24-26 октября 2005 г. – Челябинск, 2005. - С. 55-56.

5. Аклеев А.В., Овчарова Е.А. Роль иммунных механизмов в развитии отдаленной радиационной патологии // Проблемы радиоэкологии и пограничных дисциплин / Под ред. В.И. Мигунова, А.В. Трапезникова. - Екатеринбург, 2006. – Вып. 8. – С. 84-139.
6. Аклеев А.В., Овчарова Е.А. Состояние иммунитета у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, в отдаленные сроки // Здоровье детей и радиация: 20 лет аварии на Чернобыльской АЭС: Матер. научн. конф. с междунар. участием, 18-19 апреля 2006 г., г. Москва. – М., 2006. – Вып. 2. – С. 86-90.
7. Овчарова Е.А. Аклеев А.В., Отдельные параметры иммунитета у жителей прибрежных сел реки Теча в отдаленные сроки // Russian Journal of Immunology – 2006. – Vol.9. – Suppl.3. – P. 107
8. Аклеев А.В., Овчарова Е.А. Содержание иммуноглобулинов основных классов и отдельных цитокинов в сыворотке крови людей, подвергшихся хроническому радиационному воздействию // Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды: Материалы Всероссийской научной конф., 9-11 октября 2006 г. – Челябинск, 2006. – С. 165-166.
9. Аклеев А.В., Овчарова Е.А. Иммунный статус людей, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, в отдаленные сроки // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2006. – в печати.