

ВЛИЯНИЕ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ФИЗИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ НА ПОКАЗАТЕЛИ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У ЖИВОТНЫХ

Исследовали влияние внешнего пролонгированного действия ионизирующей радиации низкой мощности в суммарных дозах 0,28; 0,56 и 0,85 Гр на содержание сывороточных иммуноглобулинов и циркулирующих иммунных комплексов у крыс. Длительность облучения составила 30, 60 и 90 суток. Показана зависимость гуморального звена иммунитета от длительности пребывания животных под облучением. Однократное действие радиации большой мощности в указанных дозах вызывает у животных иммунодефицитное состояние, обусловленное пониженным содержанием иммуноглобулинов классов А и М.

Одним из физических факторов загрязнения окружающей среды является радиация. В последние десятилетия прошлого столетия на планете произошло повышение естественного радиационного фона. Повышение произошло за счет ядерных взрывов как на объектах военного, так и гражданского назначения. Радиоактивные выбросы АЭС и других объектов ядерной энергетики, неправильная технология захоронения радиоактивных отходов явились дополнительным фактором загрязнения окружающей среды радионуклидами. Начиная с 1944 года в мире произошло 8 ядерных катастроф на закрытых ядерных комплексах и атомных электростанциях; 5 из них – на территории СНГ. Отсюда постоянно существует необходимость изучения механизмов биологического действия малых и надфоновых уровней радиации, как в натуральных, так и в экспериментальных условиях.

Иммунная система в общебиологической оценке влияния ионизирующих излучений на организм занимает основополагающее значение. Поэтому она наряду с нервной и эндокринной системами проявляет немедленную реакцию на любое внешнее воздействие. В этой цепи иммунная система поддерживает целостность и генетическую однородность организма, уничтожая клетки с чужим или измененным геномом. Активно участвует во всех патологических и репаративных процессах, происходящих в организме. Кроме того, иммунная система часто принимает самое непосредственное участие в возникновении и поддержании патологического состояния (аллергические и аутоиммунные заболевания, иммунодефициты и т. п.).

В связи с этим целью работы явилось изучение влияния длительного гамма-облучения низкой мощности на некоторые показатели гуморального иммунитета в экспериментальных условиях. В задачу исследований входило:

1. Изучить длительное влияние малых уровней радиации в суммарных дозах 0,28; 0,56 и 0,84 Гр на содержание иммуноглобулинов (ИГ) классов G, M, A в сыворотке крови крыс.

2. Изучить влияние малых доз при длительном воздействии радиации на формирование циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в организме животных.

3. Провести сравнительный анализ по влиянию однократного и хронического облучения в одинаковых дозах.

Известно, что в норме иммуноглобулины класса G составляют 70-80% сыворотки крови. Это единственный класс антител, способных проникать через плацентарный барьер, присутствовать в крови новорожденных. К этому классу относятся противобактериальные и противовирусные антитела, а также блокирующие антитела, которые определяют феномен усиления; антитоксины. Концентрация ИГ G повышается при некоторых аутоиммунных заболеваниях.

Иммуноглобулины класса M составляют 5-10% сыворотки белков. Они первыми появляются после антигенной стимуляции или при развитии инфекции, затем уступают место иммуноглобулинам класса G, которые продуцируются другими плазматическими клетками. Концентрация ИГ M повышается при парентеральных инфекциях, инфекционном поражении системы крови, острых гепатитах; понижается при гипо- и агаммаглобулинемиях, некоторых опухолях лимфоидной системы.

Иммуноглобулины класса A встречаются в мономерной форме, они связываются с антигеном без участия комплемента и занимают ключевое место в невоспалительном удалении антигена.

Иммуноглобулины всех классов способны соединяться с растворимыми антигенами и образовывать крупные молекулы, определяемые как иммунные комплексы. Обнаружение иммунных комплексов у здоровых животных демонстрирует биологически защитную функцию циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). Другой биологической функцией ЦИК является модуляция иммунного ответа, осуществляемого по механизму обратной связи, путем взаимодействия с им-

мунокомпетентными клетками при помощи клеточных рецепторов. Это взаимодействие ведет к изменению клеточного метаболизма, что выражается в продукции и секреции биологически активных веществ. Важное биологическое значение имеет регулирующее действие ЦИК. Удаление ЦИК из организма осуществляется путем фагоцитоза. При нарушении этого процесса ЦИК могут длительное время циркулировать в крови, приводя к патологическим явлениям.

Патогенное действие иммунных комплексов осуществляется в два этапа. Сначала происходит их отложение вдоль базальной мембраны сосудов, что зависит от многих причин. Вазоактивные амины освобождаются из базофилов и тромбоцитов, вызывают расширение сосудов, что приводит к расхождению эндотелиальных клеток и повышению сосудистой проницаемости. Сенсибилизированные иммунными комплексами тромбоциты при участии кининов активизируют свертывающую систему крови, вызывая появление микротромбозов и геморрагий, а также отложение фибрина в стенках сосудов. Процессы развиваются преимущественно в капиллярах, артериолах и венах.

Крупные иммунные комплексы локализуются преимущественно в стенках сосудов, тогда как более мелкие структуры могут проходить через стенку и депонироваться в ближайших к пораженному сосуду участках ткани.

Существует несколько причин, приводящих к нарушению удаления иммунных комплексов. Одна из них – чрезмерная продукция иммунных комплексов как результат постоянного образования антител и поступления антигена эндо- или экзогенного происхождения.

В настоящее время признано, что иммунная система выполняет одну из основных и центральных функций, заключающуюся в поддержании антигенного состояния внутренней среды организма. Расстройства иммунной системы приводят к снижению защитных сил организма, повышению вероятности возникновения опухолей, извращению иммунных реакций, включая аутоиммунные расстройства и аллергии, развитию осложнений после широкого круга заболеваний. Например, определение сывороточных иммуноглобулинов имеет большое диагностическое значение. Их отсутствие в сыворотке свидетельствует об агаммаглобулинемии – состоянии, при котором в сыворотке крови животных не содержится гамма-глобулиновой фракции или глобулины содержатся в малом количестве.

Материалы и методы

В качестве подопытных животных были взяты белые нелинейные крысы с массой тела 150-170 грамм. Используя для опытов крыс, исходили из общебиологической точки зрения закономерностей развития радиобиологического эффекта. При одинаковых уровнях доз облучения организм крыс проявляет относительно малую степень различия радиационных эффектов, в частности в уровнях эффективных доз для различных тканей, продолжительности жизни, изменений показателей иммунологической реактивности и других. Белые крысы имеют несущественные сезонные изменения биологических процессов.

Модели радиационного поражения животных. Для моделирования воздействия радиационных факторов при хроническом облучении использовали гамма-облучение изотопных источников цезия-137. Выбор способа облучения и конструкции установок для длительного облучения животных производили, исходя из следующих требований:

1. Облучение должно проводиться непрерывно, в течение нескольких месяцев, одновременно всех опытных животных в условиях, обеспечивающих их нормальную жизнедеятельность.
2. Размещение животных должно быть групповым.
3. Облучение животных должно быть осуществлено при соблюдении существующих норм радиационной безопасности для обслуживающего персонала и окружающей среды.
4. Неравномерность дозного поля, в котором длительное время содержатся животные, должна быть не более $\pm 10\%$.
5. Отключение установки на период кормления и ухода за животными не должно превышать 20 минут.

Для выполнения этих требований наиболее оптимальным вариантом явилось использование установки «Пума». Гамма-установка биологическая ГУБ-20 «Пума» – экспериментальная, предназначена для использования ионизирующего излучения в животноводстве. Обладает большим диапазоном регулирования мощностей доз при высокой равномерности поля облучения. Источником излучения служит цезий-137 со ступенчатым снижением мощности дозы за счет изменения расстояний между объектом и контейнерами-облучателями. Для обеспечения дозиметрического контроля в процессе работы гамма-установки в камере облучения установлены гамма-датчики, управление работой установки осуществляется с пульта управления, ко-

торый размещается вместе со щитом питания в операторской.

Условия хронического облучения крыс в малых дозах представлены в таблице 1.

Методы оценки показателей гуморального иммунитета. Кровь для исследования брали из яремной вены путем декапитации под наркозом. Количественное определение иммуноглобулинов различных классов в сыворотке крови проводили методом радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини (1980). Для постановки реакции использовали моноспецифические антисыворотки против иммуноглобулинов G, M, A.

Циркулирующие иммунные комплексы в сыворотке крови определяли по методу M.Dugeon и др. (1987). Метод основан на различной растворимости мономеров иммуноглобулинов в составе иммунных комплексов при наличии полиэтиленгликоля (ПЭГ) 6000. Величина и состав иммунных комплексов зависят как от антигена, так и от свойств антител и в то же время от их относительной и абсолютной концентрации. Высокомолекулярные растворимые иммунные комплексы преимущественно образуются из олиговалентных антигенов и M-антител. Соотношение АГ/АТ в составе иммунных комплексов зависит от относительных концентраций обеих компонентов; образующиеся при избытке антигена иммунные комплексы, как правило, меньше по размеру, чем формирующиеся в зоне эквивалентности. В отличие от олиговалентных поливалентные антигены легче преципитируются избытком антител.

Результаты исследований

Содержание основных классов иммуноглобулинов и циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови крыс в течение всего времени их нахождения в поле непрерывного воздействия радиации низкой мощности представлены в таблице 2.

Как показывают данные, приведенные в таблице, уровень иммуноглобулинов класса G в сыворотке крови крыс на протяжении всего периода нахождения под облучением соответствовал контрольным величинам. Это свидетельствует о том, что данный показатель гуморального звена иммунитета является радиорезистентным в отношении действия пролонгированного облучения малой мощности.

Что касается иммуноглобулинов класса M (табл. 2), то незначительное снижение их отмечалось через 30 дней. Затем в последующие сроки этот показатель колебался в пределах биологи-

ческого контроля или несколько превосходил его (90-е сутки). Условия непрерывного облучения при заданной мощности дозы 0,39 мГр/час способствовали незначительному увеличению содержания иммуноглобулинов класса A через 30 и 90 суток (табл. 2). По-видимому, полученные суммарные дозы 0,28 и 0,84 Гр в течение длительного времени не оказывали депрессивного действия на синтез данного класса иммуноглобулинов, а напротив, способствовали их стимуляции. Иммуноглобулины класса A играют ключевую роль в невоспалительном удалении антигена и создании местного иммунитета. В кишечнике он обезвреживает попавшие с пищей токсические микроорганизмы, в дыхательных путях препятствует инфицированию слизистых оболочек носоглотки, в репродуктивной системе создает заслон развитию инфекции. Можно предположить, что активация иммуноглобулинов класса A происходит за счет аутоантигенной стимуляции, произошедшей в ответ на воздействие ионизирующего излучения. Выявленные особенности соотношения различных классов иммуноглобулинов в разные сроки после хронического облучения в малых дозах, вероятно, свидетельствуют о наличии адаптационных процессов, протекающих в гуморальном звене иммунитета. Наряду с этим можно считать, что у подопытных крыс, находившихся в условиях длительного облучения в течение 30, 60 и 90 суток в суммарных дозах 0,28; 0,56 и 0,84 Гр, сохраняются защитные функции организма, характерные для иммуноглобулинов данного класса.

Снижение ЦИК в сыворотке периферической крови крыс (табл. 2), возможно, происходило за счет некоторой задержки их в органах и тканях. По данным литературы известно, что комплексы антиген – антитело образуются в кровеносном русле облученного организма (И.Н. Клемпарская и др., 1991). Отложившись в тканях, эти комплексы претерпевают существенные изменения. В частности, к ним дополнительно присоединяются антитела, антигены, компоненты комплемента или ревматоидные факторы. Возможно, именно этот механизм отвечает за образование некрозов и геморрагий у облученных животных, обуславливающих геморрагический синдром при остром лучевом поражении. В условиях хронического облучения, в зависимости от величины мощности дозы, циркулирующие иммунные комплексы могут вызывать определенные аутоиммунные процессы. Вероятность этого существует и в нашем случае.

Сравнительный анализ результатов исследований разных временных диапазонов показал, что

однократное облучение в тех же примерно дозах вызывает заметные нарушения в показателях, характеризующих гуморальное звено иммунитета (табл. 3). Сравнительная характеристика однократного и пролонгированного облучения учитывала разную мощность излучения. Для однократного облучения использовался источник излучения Cs-137 с мощностью 0,08 Гр/мин.

Данные, приведенные в табл. 3, свидетельствуют о разном реагировании основных классов иммуноглобулинов в ответ на однократное воздействие радиации большой мощности. Дозы однократного облучения 0,5 и 0,8 Гр принято в радиобиологии считать малыми, поскольку они не вызывают видимых клинических и явных гематологических изменений. Поэтому полученные результаты представляют определенный интерес в плане выявленных изменений в составе основных классов иммуноглобулинов, имеющих определенное значение в формировании общей резистентности организма к любым неблагоприятным факторам внешней среды.

Как следует из приведенной таблицы 3, ИГ G имели тенденцию к повышению (недостаточно) на 5-10 сутки после облучения, а в большинстве случаев сохраняли относительную стабильность по отношению к контрольным величинам. Такую стабильность, вероятно можно объяснить большим удельным весом, который они занимают среди других классов иммуноглобулинов. Вероятно, для того, чтобы сдвинуть их концентрацию в сторону понижения, необходимы более высокие дозы воздействия.

Что касается ИГ M, то их достоверное снижение отмечалось на 10 день. В остальные сроки их содержание в сыворотке крови находилось в пределах контрольных величин. Отмеченное снижение концентрации ИГ M на 10 день может свидетельствовать о гипо- и агаммаглобулинемии и нестабильности лимфоидной системы в этот период.

Выраженную реакцию на облучение в дозах 0,5-0,8 Гр проявили иммуноглобулины класса A. В отличие от хронического облучения, где мы не наблюдали снижения их концентрации в пределах этих дозовых величин, однократное внешнее облучение вызывало угнетение синтеза иммуноглобулинов данного класса. Достоверное снижение ИГ A наблюдалось через 10, 20, 30 суток после облучения как при дозе 0,5 Гр, так и 0,8 Гр. При этом общее состояние животных было вполне удовлетворительным в течение всего периода наблюдения, вплоть до 90 суток. Они адекватно реагировали на

Таблица 1

Группы	Количество (шт.)	Время облучения (сут.)	Мощность дозы (МГр/ч)	Суммарная доза (Гр)
1	20	30	0,39	0,28
2	20	60	0,39	0,56
3	20	90	0,39	0,84
4 контроль	20	Нет	Нет	Нет

Таблица 2. Содержание иммуноглобулинов G, M, A (мг/мл) и циркулирующих иммунных комплексов (усл.ед.) в сыворотке крови крыс

Время нахождения под облучением	G	M	A	ЦИК
30 суток б.к.	6,40±0,70 6,90±0,80	0,40±0,80 0,47±0,08	0,65±0,09 0,59±0,08	32,8±1,3 41,3±6,3
60 суток б.к.	6,50±0,03 7,00±0,04	0,47±0,40 0,47±0,07	0,64±0,03 0,64±0,04	32,2±0,8 39,1±2,3
90 суток б.к.	6,80±0,31 6,90±0,80	0,48±0,1 0,47±0,09	0,67±0,1 0,59±0,08	33,0±2,1 41,3±1,3

Таблица 3. Содержание иммуноглобулинов G, M, A в сыворотке крови крыс при однократном облучении малыми дозами (мг/мл)

Сроки исследования (сутки)	Дозы облучения (Гр)	ИГ G	ИГ M	ИГ A
5	0,5	7,89±0,20	0,74±0,28	0,68±0,10
	0,8	8,26±0,20	0,55±0,11	0,69±0,05
	нет (б.к.)	7,12±0,20	0,45±0,09	0,69±0,09
10	0,5	7,06±0,26	0,29±0,02*	0,41±0,03*
	0,8	7,56±0,80	0,28±0,07*	0,31±0,01*
	нет (б.к.)	6,60±0,26	0,44±0,37	0,61±0,01
20	0,5	6,70±0,12	0,37±0,12	0,33±0,07*
	0,8	7,14±1,20	0,44±0	0,30±0,03*
	нет (б.к.)	7,52±0,23	0,48±0,01	0,59±0,03
30	0,5	7,50±0,2	0,55±0,02	0,37±0,07*
	0,8	6,70±0,48	0,58±0,30	0,29±0,01*
	нет (б.к.)	6,70±0,27	0,47±0,01	0,58±0,04
90	0,5	7,20±0,12	0,45±0,09	0,47±0,02
	0,8	6,50±0,20	0,41±0,07	0,42±0,10
	нет (б.к.)	7,44±0,43	0,50±0,06	0,57±0,01

Примечание: * – достоверная разница с контролем.

внешние раздражители, охотно поедали корм, прибавляли в массе. Но при внешнем благополучии происходили изменения в сторону понижения концентрации иммуноглобулинов классов A и M в сыворотке крови облученных животных. У того и другого класса эта особенность наиболее была выражена на 10 сутки после облучения. Если рассматривать острую лучевую патологию по периодам ее проявления, то 10 сутки приходятся на разгар болезни. В данном случае видимых клинических признаков острой лучевой болезни не наблюдалось. Следовательно, изменения в гуморальном звене иммунитета со стороны ИГ A и ИГ M могут служить дополнительным прогностическим тестом, характеризующим неблагоприятное действие ионизирующих излучений. Следует отметить, что пониженное содержание их в сыворотке крови может способствовать развитию различных инфекций в организме.

Выводы

1. Облучение крыс мощностью дозы 0,39 мГр/час в течение 30, 60 и 90 суток не вызывает заметных изменений в концентрации сывороточных иммуноглобулинов классов G, M, A.

2. Содержание циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови крыс снижается в ответ на воздействие суммарных доз 0,28; 0,56 и

0,84 Гр, полученных в течение 30, 60 и 90 суток, соответственно.

3. Однократное внешнее облучение мощностью дозы 0,08 Гр/мин вызывает иммунодефицитное состояние у животных, которое обусловлено понижением сывороточных иммуноглобулинов классов M и A на 10, 20 и 30 сутки после воздействия радиации.

Список использованной литературы:

1. Гелашвили К.Д. Влияние малых доз ионизирующих излучений на некоторые показатели иммунитета // Всесоюз. радиобиол. съезд. / Тез. докл. М., 1989. С. 1069.
2. Клемпарская Н.Н. К методологии исследования иммунного статуса организма // Иммунный статус человека и радиация. М., 1991. С.18-19.
3. Кузин А.И. Радиационный гормезис и адаптивные реакции при хроническом облучении // Тез. докл. 1-го Всесоюзного симпозиума /Молекулярно-клеточные механизмы хронического действия ионизирующих излучений на биологические системы. Пушкино, 1990. С.70.
4. Сафонова В.А. К вопросу о роли иммунной системы в реализации лучевых реакций у животных // Сб. научн. работ / Морфология и хирургия в практической ветеринарии и медицине. Оренбург, 1999. С.150-152.
5. Киришин В.А., Портнов В.С., Сафонова В.А. Иммунная реактивность у животных при радиационных воздействиях // Матер. междунаро. конф. / Иммунитет и радиация. РАН, М., 1992. С. 72.