

© Соколенко В. Л., Соколенко С. В.

УДК 577.3+612.017:612.118+616-092.12

Соколенко В. Л., Соколенко С. В.

ПАТОФІЗІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СТРЕС-ІНДУКОВАНОЇ ІМУНОСУПРЕСІЇ, ЗУМОВЛЕНОЇ ПРОЖИВАННЯМ НА РАДІАЦІЙНО ЗАБРУДНЕНИХ ТЕРИТОРІЯХ

Черкаський національний університет
ім. Богдана Хмельницького (м. Черкаси)

sokolenko@ukr.net

Дослідження є фрагментами кафедральних науково-дослідних програм, виконаних за замовленням МОН України: «Дослідження впливу вітамінів і їх комплексів на обмінні процеси в організмі та його захисні функції в нормальних фізіологічних умовах та в умовах дії малих доз радіації» (№ державної реєстрації 0101U004466) і «Дослідження впливу окремих вітамінів та їх комплексів на імунізаційні функції організму і обмін вуглеводів у процесі розвитку діабету в нормальних умовах та при дії малих доз радіації» (№ державної реєстрації 0102U007101); «Біохімічні, імунізаційні та екологічні аспекти адаптації організму людини до екзогенних чинників» (№ державної реєстрації 0116U003828).

Вступ. Відомо, що стресові впливи на організм людини створюють ризики розвитку чи загострення захворювань різної етіології, такі ризики зростають за умов хронічного стресу [15].

Значна частина населення України з народження й до повноліття проживає на територіях, забруднених радіонуклідами внаслідок аварії на ЧАЕС. Згідно даних літератури, у осіб, що зазнали гострого впливу факторів даної техногенної катастрофи, вже в ранні терміни після радіаційного ураження зростає функціональна активність адаптаційної триади «гіпоталамус-гіпофіз-наднирки», зумовивши стійке підвищення секреції АКТГ та кортизолу. При цьому у віддалений період функціональні проби демонстрували зниження резервних можливостей гіпоталамо-гіпофізарної системи та кори наднирників [3]. Логічно припустити, що тривалі адаптаційні процеси, на фоні хронічного радіаційно-індукованого стресу, зумовленого проживанням на територіях, забруднених радіонуклідами, призводять до формування певних особливостей імунного статусу з ризиком розвитку дисфункцій природної резистентності організму.

Мета дослідження: з'ясувати особливості стрес-індукованої імунізаційної супресії у осіб віком 18-24 роки, зумовленої пролонгованим впливом малих доз іонізуючого випромінювання.

Об'єкт і методи дослідження. Протягом 2000-2015 рр. нами проаналізовано показники 350 студентів ЧНУ (145 осіб чоловічої статі та 205 осіб жіночої статі, обстежених у фолікулярну стадію менструального циклу), серед них виділили когортні мешканців радіаційно незабруднених районів (контрольна група, 150 осіб) та мешканців територій

посиленого радіоекологічного контролю (IV радіаційна зона, щільність забруднення ґрунтів ізотопами ^{137}Cs $3,7 \cdot 10^4$ – $18,5 \cdot 10^4$ Бк/м², 200 осіб). Вік обстежених – 18-24 років, на період забору крові вони не мали гострих захворювань.

Роль фактору додаткового психоемоційного навантаження для студентів відіграла зимова екзаменаційна сесія. Перший аналіз показників імунної системи проводили у міжсесійний період, другий – у кінці сесії, після останнього іспиту.

Загальне число лейкоцитів підраховували в камері Горяєва, лімфоцитів – на основі кров'яного мазка (фарбування за Романовським-Гімзою). Фагоцитарний індекс (ФІ) та фагоцитарне число (ФЧ) нейтрофілів і моноцитів підраховували за їх здатністю поглинати бактерії *S. aureus* (штам № 209, еталонний тест-Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів) з наступним фарбуванням мазків за Романовським-Гімзою. Експресію поверхневих антигенів лімфоцитами периферичної крові визначали імунофлуоресцентним методом з використанням моноклональних антитіл до поверхневих маркерів клітин імунної системи LT1, LT3 (для оцінки експресії пан-Т-клітинних маркерів CD3 та CD5), LT4, LT8, LNK16 (для оцінки експресії антигенів CD4+, CD8+, CD16+ та CD72+) та F(ab)₂ – фрагментів овечих антитіл до імуноглобуліну G (IgG) миші, мічених FITC («Сорбент», Росія).

Рівень Ig у сироватці крові визначали методом радіальної імунодифузії з використанням моноспецифічних сироваток проти IgG (H), IgM (H), IgA (H), вміст кортизолу – імуноферментним методом з використанням набору «BIO-RAD» (США).

Отримані результати обробили методами варіаційної статистики з використанням програми Microsoft Excel і подали у вигляді: середнє арифметичне ± похибка середнього арифметичного (M±m). Вірогідність різниці між вибірками визначали за t-критерієм Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення. Встановлено, що у осіб, котрі зазнали пролонгованого впливу малих доз радіації, вміст кортизолу перебував на верхній межі гомеостатичної норми ($637,15 \pm 12,094$ нмоль/л) і був достовірно підвищений, порівняно з контролем ($345,51 \pm 5,931$ нмоль/л) (табл.). Тобто, у обстежених наявний хронічний стресовий стан. Отримані дані узгоджуються з повідомленнями щодо зростання рівня тривожності на

межі депресії у 10,0-20,6% (за різними критеріями і залежно від віку) українських школярів віком 7-17 років, котрі проживали на територіях, забруднених радіонуклідами [16]. Наявність хронічного емоційного стресу відмічена і для ліквідаторів аварії на ЧАЕС [9,10,11].

Також у обстежених із територій посиленого радіоекологічного контролю спостерігалось достовірне зростання відносної та абсолютної кількості паличкоядерних та сегментоядерних нейтрофілів на фоні зниження відносної і абсолютної кількості лімфоцитів (табл.). Виявлений ефект є типовим проявом стресової реакції помірної інтенсивності, що узгоджується із даними літератури про хронічне опромінення малими дозами, як потенційний стресовий чинник [2,3,8,9,10,11,15,16].

Таким чином, зростання рівня нейтрофілів, одного з провідних факторів неспецифічної резистентності, можна розглядати як компенсаторну реакцію, направлену на підтримання антигенного гомеостазу в умовах стресової ситуації, коли запускаються механізми енергозбереження [13,14,18,21]. Проте, у нашому випадку компенсація виявилася неповноцінною, оскільки паралельно спостерігалось зниження фагоцитарного індексу нейтрофілів. Можливо, ефект зумовлюється формуванням нейтрофілів із радіаційно індукованими патологіями, можливість яких описана в науковій літературі [5].

Протягом останніх років отримані численні дані щодо ролі вродженого імунітету у єдиній системі імунобіологічного нагляду, зокрема, за умов дії екстремальних факторів середовища, тому, виявлені тенденції свідчать про потенційну загрозу оптимальної роботи імунітету вже на етапі неспецифічних реакцій [4,20].

За умов впливу стресових факторів у розвитку адаптаційної відповіді включаються всі компоненти імунної відповіді [12,19]. Тенденції, відмічені нами для показників специфічного імунітету, не можна пояснити лише міграційними процесами різних популяцій лейкоцитів. Зокрема, характерним проявом імуносупресії Т-клітинної ланки імунітету є зниження імунорегуляторного індексу CD4+/CD8+, що компенсується підвищеною концентрацією сироваткового IgG (табл.).

Проаналізували вплив на показники імунної системи студентів, котрі зазнали пролонгованого впливу малих доз іонізуючого випромінювання, екзамінаційної сесії, як додаткового емоційного навантаження. Виявили посилену тенденцію, характерних для міжсесійного періоду. Зокрема, ще більше знизилися відносна та абсолютна кількість лімфоцитів на фоні підвищення рівня нейтрофілів у периферичній крові. Імунорегуляторний індекс у значної частини обстежених досяг значень, нижчих від гомеостатичної норми. Рівень IgG, підвищений у міжсесійний період, став вірогідно нижчим як від контрольних значень, так і від

даних, отриманих за відсутності додаткового психо-емоційного навантаження (табл.).

Імунорегуляторний індекс є важливим фактором інтегративної роботи імунної системи. Його вихід за межі клінічної норми свідчить про радіаційно-індуковані передумови формування дисбалансу діяльності різних ланок природної резистентності, який запускається додатковим стресовим впливом. Варто враховувати, що порушення імунорегуляторного індексу CD4+/CD8+ створює ризик активації апоптозної відповіді лімфоцитів на іонізуюче випромінювання, і, як наслідок, подальшого пригнічення Т-клітинної ланки імунітету [17] (табл.).

Прошло більше 80 років з часу формування Гансом Сельє теорії стресу, як неспецифічної реакції організму на будь-які зовнішні та внутрішні впливи, та виділення ним основних етапів розвитку адаптаційного синдрому – реакції тривоги, стадії резистентності та стадії виснаження [7,12]. На той час не було можливості розглянути особливості ще одного визначеного нині стресового фактору – радіаційного. Багатьма авторами вказується, що для людини радіаційно-індукований компонент включає як емоційну складову, так і фізіологічну, зумовлену, у першу чергу, активацією вільнорадикальних процесів, змінами окислювального метаболізму, енергетичними порушеннями [1,6].

Нами показано, що радіаційно-індукований стрес, зумовлений пролонгованою дією у малих дозах, має ще одну особливість – затяжний другий період, що накладається на приховану стадію виснаження. Саме так можна пояснити ефекти перебування багатьох показників імунної системи мешканців територій, забруднених радіонуклідами, у межах норми і, у той же час, на рівні, вірогідно нижчому від контрольних значень. Додаткове навантаження стресової природи викликає демаскування стадії виснаження і прогресуюче зниження показників. Компенсаторні та адаптаційні механізми, які повинні підтримувати імунологічний гомеостаз у стресових

Таблиця.

Вміст кортизолу та окремі показники імунної системи у осіб, котрі зазнали пролонгованого впливу малих доз іонізуючого випромінювання

Показники	Контрольна група (n=150)	Дослідна група, IV зона (n=200)	
		до сесії	після останнього екзамену
Кортизол, нмоль/л	345,51±5,931	637,15±12,094*	899,1±10,214*,**
Лімфоцити, %	26,56±0,245	23,55±0,245*	18,45±0,415*,**
Лімфоцити, x10 ⁹ /л	1,81±0,025	1,65±0,032*	1,21±0,058*,**
Нейтрофіли, пал., %	3,60±0,245	4,57±0,055*	7,10±0,099*,**
Нейтр., пал., 10 ⁹ /л	0,25±0,015	0,31±0,020*	0,41±0,029*,**
Нейтр., сегм., %	62,88±0,463	65,11±0,478*	67,01±0,510*,**
Нейтр., сегм., x10 ⁹ /л	4,19±0,044	4,49±0,049*	5,99±0,074*,**
Фагоцит. інд., нейт.	5,72±0,298	4,71±0,296*	4,02±0,305*
CD4+/CD8+	1,65±0,029	1,36±0,028*	1,04±0,025*,**
IgG, мг/мл	10,01±0,173	11,44±0,417*	7,89±0,845*,**

Примітка: * P<0,05 порівняно з контролем;

** P<0,05 порівняно з показниками до емоційного навантаження.

умовах (міграція імунних клітин, компенсація діяльності Т-клітинної ланки продукцією імуноглобулінів), виявляються за даних умов малоефективними.

Висновки. У осіб, котрі з народження проживали на територіях, забруднених радіонуклідами, спостерігається вичерпування можливостей адаптаційних механізмів природної резистентності, що проявля-

ється за умов додаткових навантажень стресової природи супресією різних ланок імунної відповіді.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження варто провести для мешканців територій посиленого радіоекологічного контролю віком 18-24 роки з вираженими патологіями імунної системи.

Література

1. Барабой В.А. Чернобыль: десять лет спустя. Медицинские последствия радиационных катастроф / В.А. Барабой. – Киев: Чернобыльинтеринформ, 1996. – 188 с.
2. Бурлакова Е.Б. Перекисное окисление липидов мембран и природные антиоксиданты / Е.Б. Бурлакова, И.Г. Храпова // Успехи химии. – 1990. – № 9. – С. 1540-1557.
3. Клінічні аспекти Чернобыльської катастрофи. Ендокринна система / [Н.Д. Тронько, А.К. Чебан, В.А. Олійник, Є.В. Епштейн] // Чернобыльська катастрофа / Під ред. В.Г. Бар'яжтара. – К.: Наук. думка, 1996. – С. 475-476.
4. Литвицкий П.Ф. Врожденный иммунитет: механизмы реализации и патологические синдромы / П.Ф. Литвицкий, Т.Г. Синельникова // Вопросы современной педиатрии. – 2009. – Т. 8, № 1. – С. 52-58.
5. Пінчук Л.Б. Зміни в системі кістково-мозкового кровотворення у тварин, які постійно утримувались у Чернобыльській зоні відчуження / Л.Б. Пінчук, Н.К. Родіонова // Чернобыль. Зона відчуження: Зб. наук. праць / Під ред. В.Г. Бар'яжтара. – К.: Наук. думка, 2001. – С. 429-435.
6. Порядин Г.В. Регуляция экспрессии поверхностных структур мембраны пуриновыми соединениями в норме и при патологии / Г.В. Порядин, А.И. Макаров, Ж.М. Салмаси // Пат. физиол. и эксперим. терапия. – 1997. – № 1. – С. 42-45.
7. Селье С. Очерки об адаптационном синдроме / С. Селье. – М., 1960. – 120 с.
8. Хаитов Р.М. Иммунитет и стресс / Р.М. Хаитов, В.П. Лесков // Рос. физиол. ж. – 2001. – Т. 87, № 8. – С. 1060-1072.
9. Чапля М.М. Особливості стану захисних систем осіб, підлеглих дії малих доз ¹³⁷Cs і хронічного стресу та їх комбінації / М.М. Чапля // Чернобыль, пристосувально-захисні системи, реабілітація. – К.: Комп'ютерпрес, 2006. – С. 155-190.
10. Чапля М.М. Роль факторів Чернобыльської катастрофи – інкорпорованих радіонуклідів ¹³⁷Cs та хронічного психоемоційного стресу – у порушеннях імунітету / М.М. Чапля // Медична гідрологія та реабілітація. – 2004. – Т. 2, № 3. – С. 18-28.
11. Чапля М.М. Роль факторів Чернобыльської катастрофи – інкорпорованих радіонуклідів ¹³⁷Cs та хронічного психоемоційного стресу – у порушеннях природженого і набутого імунітету / М.М. Чапля, І.Л. Попович // Трускавецький бальнеологічний альманах: V конф. Асоціації учених, присвячена 180-річчю курорту та 60-річчю м. Трускавця, 7 вер. 2007 р.: матеріали конф. – Трускавець, 2007. – С. 121-131.
12. Bailey M.T. Psychological Stress, Immunity, and the Effects on Indigenous Microflora / M.T. Bailey // Advances in Experimental Medicine and Biology. – 2016. – V. 874. – P. 225-246.
13. Beta2 adrenergic receptor activation stimulates pro-inflammatory cytokine production in macrophages via PKA- and NF-kappaB-independent mechanisms / K.S. Tan, A.G. Nackley, K. Satterfield [et al.] // Cell Signal. – 2007. – V. 19. – P. 251-260.
14. Campisi J. Acute stress decreases inflammation at the site of infection. A role for nitric oxide / J. Campisi, T.H. Leem, M. Fleshner // Physiol. Behav. – 2002. – V. 77. – P. 291-299.
15. Cohen S. Keynote Presentation at the Eight International Congress of Behavioral Medicine: the Pittsburgh common cold studies: psychosocial predictors of susceptibility to respiratory infectious illness / S. Cohen // Int. J. Behav. Med. – 2005. – V. 12. – P. 123-131.
16. Contis G. Depression, Suicide Ideation, and Thyroid Tumors Among Ukrainian Adolescents Exposed as Children to Chernobyl Radiation / G. Contis, T.P. Foley // J. Clin. Med. Res. – 2015. – V. 7, № 5. – P. 332-338.
17. Differential apoptotic response to ionizing radiation in subpopulations of human white blood cells / R.C. Wilkins, D. Wilkinson, H.P. Maharaj [et al.] // Mutat. Res. – 2002. – V. 513. – P. 27-36.
18. Lyte M. Microbial endocrinology and infectious disease in the 21st century / M. Lyte // Trends. Microbiol. – 2004. – V. 12. – P. 14-20.
19. Microbial endocrinology: how stress influences susceptibility to infection / P.P. Freestone, S.M. Sandrini, R.D. Haigh, M. Lyte // Trends. Microbiol. – 2008. – V. 16. – P. 55-64.
20. Paul W. Fundamental immunology / W. Paul, 7th ed. – Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2013. – 1283 p.
21. Regulation of phagocytic process of macrophages by noradrenaline and its end metabolite 4-hydroxy-3-metoxyphenyl-glycol. Role of alpha- and beta-adrenoreceptors / J.J. Garcia, S.M. del Carmen, F.M. de La, E. Ortega // Mol. Cell. Biochem. – 2003. – V. 254. – P. 299-304.

УДК 577.3+612.017:612.118+616-092.12

ПАТОФІЗІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СТРЕС-ІНДУКОВАНОЇ ІМУНОСУПРЕСІЇ, ЗУМОВЛЕНОЇ ПРОЖИВАННЯМ НА РАДІАЦІЙНО ЗАБРУДНЕНИХ ТЕРИТОРІЯХ

Соколенко В. Л., Соколенко С. В.

Резюме. Досліджували особливості стрес-індукованої імуносупресії, викликані тривалим проживанням на радіаційно забруднених територіях. Встановили, що хронічний стрес, зумовлений пролонгованою дією радіації у малих дозах, має затяжний період адаптації, який накладається на приховану стадію виснаження. Любе додаткове навантаження стресової природи викликає демаскування стадії виснаження природної резистентності організму і прогресуюче зниження імунних показників. Компенсаторні та адаптаційні

механізми, які повинні підтримувати імунологічний гомеостаз під час стресу, виявляються за даних умов малоефективними.

Ключові слова: пролонгований вплив малих доз радіації, стрес, дезадаптація, імунні дисфункції.

УДК 577.3+612.017:612.118+616-092.12

ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННОЙ ИММУНОСУПРЕССИИ, ОБУСЛОВЛЕННОЙ ПРОЖИВАНИЕМ НА РАДИАЦИОННО ЗАГРЯЗНЕННЫХ ТЕРРИТОРИЯХ

Соколенко В. Л., Соколенко С. В.

Резюме. Исследовали особенности стресс-индуцированной иммуносупрессии, вызванной длительным проживанием на загрязненных радионуклидами территориях. Установили, что хронический стресс, обусловленный пролонгированным воздействием радиации в малых дозах, имеет долговременный период адаптации, накладывающийся на скрытую стадию истощения. Любая дополнительная нагрузка стрессовой природы вызывает демаскирование стадии истощения природной резистентности организма и прогрессирующее снижение иммунных показателей. Компенсаторные и адаптационные механизмы, которые должны поддерживать иммунологический гомеостаз во время стресса, оказываются в данных условиях малоефективными.

Ключевые слова: пролонгированное влияние малых доз радиации, стресс, дезадаптація, иммунные дисфункции.

UDC 577.3+612.017:612.118+616-092.12

THE PATHOPHYSIOLOGICAL FEATURES OF STRESS-INDUCED IMMUNOSUPPRESSION CAUSED BY LIVING IN RADIOACTIVE CONTAMINATED AREAS

Sokolenko V. L., Sokolenko S. V.

Abstract. We studied the features of stress-induced immunosuppression caused by prolonged effects of low doses of ionizing radiation.

A significant part of Ukraine's population is living in areas contaminated with radionuclides from birth and to the full age. It happened due to the Chernobyl catastrophe. According to the literature data, the people who have suffered an acute influence of the technological disaster, showed an increase in functional activity of adaptive triad «hypothalamus-pituitary-adrenal» in early terms after radiation damage. And that predetermined steady increase of ACTH secretion and cortisol. However, in the remote period of time functional tests displayed decreasing of spare capacity of the adrenal cortex and hypothalamic-pituitary system.

It is logical to assume that long-term adaptation processes on the background of chronic radiation-induced stress caused by living in areas contaminated with radionuclides, lead to the formation of certain features of the immune status with the risk of natural resistance dysfunctions development.

We have analyzed the data of 350 students of Cherkasy State University, aged 18-24, including control group of 150 persons. The rest are residents of areas of enhanced radiation monitoring (IV radiation zone, the density of soil contamination with isotopes ^{137}Cs is $3.7 \cdot 10^4 - 18.5 \cdot 10^4 \text{ Bq/m}^2$), 200 people. We determined the leukocyte formula, phagocytic activity, the major subpopulations of lymphocytes of the peripheral blood, levels of serum immunoglobulins and cortisol.

It was found out that people, who had experienced prolonged exposure of low doses of radiation, were marked with cortisol at the upper limit of homeostatic norm, which indicates the presence of chronic stress. Herewith, the increase in neutrophils against the background of lymphocytes reducing was observed. A discovered effect is a typical display of stress-induced compensatory processes implementation.

However, the increase in neutrophils was accompanied by a decrease of phagocytic index, which indicates the failure in compensation mechanisms.

Another display of adaptive-compensatory effects in the patients may be an increase of serum IgG level against the background of immunoregulatory index CD4+/CD8+ decline.

However, this effect does not work in conditions of additional emotional stress when immunoregulatory index falls below the clinical standards.

Immunoregulatory index is an important factor of integrative work of immune system. Its going beyond the norms is the evidence of radiation-induced prerequisites in formation of natural resistance imbalance that can be activated by additional stress factors. It should be taken into consideration that, according to the literature, breach of immunoregulatory index CD4+/CD8+ creates the risk of activating the apoptotic lymphocytes response to ionizing radiation, and as a result, further inhibiting T-cell immunity.

It has been over 80 years since Hans Selye's formulation of the theory of stress as a nonspecific reaction to any external and internal influences, and highlighting the main stages of adaptation syndrome – anxiety reaction, resistance stage and exhaustion stage. Thus, we make a conclusion, that chronic stress, caused by prolonged small dose radiation exposure, has a protracted adaptation period being superimposed on the latent stage of exhaustion. Any additional stress causes development of the stage of exhaustion and progressive dropping in immune parameters. Compensatory and adaptive mechanisms called to maintain immunological homeostasis under conditions of stress, here are ineffective.

Keywords: prolonged effect of low doses of radiation, stress, deadaptation, immune dysfunction.

Рецензент – проф. Боечко Ф. Ф.

Стаття надійшла 06.12.2016 року