



УДК 577.3+612.017:612.118

Активність радіонуклідів і реалізація функцій імунної системи у мешканців радіаційно забруднених територій

В.Л. Соколенко, С.В. Соколенко

Черкаський національний університет імені Богдана Хмельницького, Черкаси, Україна

Вивчали роль ступеня радіаційного забруднення території у реалізації функцій імунної системи за відсутності та наявності додаткових потенційних імунодепресантів. За відсутності психоемоційного навантаження у мешканців територій, забруднених радіонуклідами, спостерігаються позитивні корелятивні зв'язки між активністю радіонуклідів та концентрацією кортизолу, рівнем нейтрофілів, вмістом IgG та IgM у сироватці крові; негативні корелятивні зв'язки з абсолютною та відносною кількістю функціонально зрілих Т-лімфоцитів із фенотипом CD3+, абсолютною та відносною кількістю їх хелперної субпопуляції CD4+, абсолютною та відносною кількістю природних кілерів із фенотипом CD16+, імунорегуляторним індексом CD4+/CD8+. Рівень кортизолу демонструє корелятивні зв'язки подібного напрямку з такими ж показниками імунної системи, але значення коефіцієнта кореляції нижче. За умов стресового впливу, зумовленого психоемоційним навантаженням під час екзаменаційної сесії, в обстежених достовірно зростає рівень кортизолу. Додатковий короточасний стрес, поєднаний із хронічним впливом малих доз радіації, посилює залежність імуносупресії, зумовленої радіаційним забрудненням місцевості, та викликає збої роботи компенсаторних механізмів.

Ключові слова: радіаційне забруднення; стрес; кортизол; імуносупресія

Radionuclide activity and the immune system functioning in residents of radiation contaminated areas

V.L. Sokolenko, S.V. Sokolenko

Bohdan Khmelnytsky Cherkasy State University, Cherkasy, Ukraine

The objective of this research is to assess the relation of radioactive contamination degree to immune system functioning, in the absence or presence of additional potential immunosuppressants. To achieve the objective, during the period of 1995–2015 we examined 250 people, students of Cherkasy State University, who lived in the areas of enhanced radiation monitoring before. Also we evaluated the additional impact of the emotional stress caused by examinations on examined students. Indicators of cellular immunity were determined by immunophenotyping and dyeing using Romanowsky-Giemsa method. The level of immunoglobulins in blood serum was determined by radial immunodiffusion (Mancini method). The level of cortisol in blood serum was determined by immunoenzyme method. We have found that in absence of the emotional stress among residents of the areas contaminated with radionuclides, cortisol level remained at the upper limit of homeostatic norm. There is an average positive correlation between the activity of radionuclides in the territories of residence and the level of cortisol. There are marked average positive correlations between the activity of radionuclides and the level of neutrophils, and low positive correlations with the levels of IgG and IgM in blood serum. Average negative correlations between the activity of radionuclides and the following parameters are also observed: absolute and relative number of functionally mature T-lymphocytes with phenotype CD3+, absolute and relative number of their helper subpopulation CD4+, absolute and relative number of natural killer cells with phenotype CD16+; and strong negative correlations with immunoregulatory index CD4+/CD8+. Cortisol level shows the similar correlation with the same parameters, but correlation coefficient is lower. Under conditions of additional stress, caused by emotional load during the examinations, cortisol level significantly increases. This enhanced previously discovered correlations and revealed new ones: average negative correlations between radionuclide activity / cortisol level and expression of pan-T cell marker CD5, medium positive correlations with absolute and relative number of suppressor T-lymphocytes with phenotype CD8+, correlation with the level of serum IgG changes from positive to negative. Additional short-term stress factor combined with chronic influence of low doses of radiation increases the dependence

of immunosuppression, caused by radiation contamination of the areas where examined students live, and causes failures in the work of compensatory mechanisms, particularly at the level of serum immunoglobulin products.

Keywords: radiation contamination; stress; cortisol; immunosuppression

Вступ

Іонізуюче випромінювання – фактор, здатний впливати на всі рівні організації живого. Навіть за низьких доз можливий прояв стохастичних ефектів, зокрема, у віддалений період після безпосереднього радіаційного ураження. Аварія на Чорнобильській АЕС спричинила забруднення радіоактивними ізотопами значних територій України. При цьому легколеткі радіонукліди піднялися на значну висоту та сформували у північно-західному напрямку від епіцентру катастрофи забруднену зону протяжністю близько 1 200 км. Головним фактором радіаційного ураження в перший період після аварії стали ізотопи ^{131}I . Протягом наступних років основне дозове навантаження на мешканців територій посиленого радіоекологічного контролю чинили довгоживучі ізотопи ^{137}Cs та ^{90}Sr (Hoshi, 2000).

Після аварії на Чорнобильській АЕС минуло вже 29 років, тобто практично завершується період напіврозпаду ^{137}Cs , активність якого вважається важливим фактором оцінки радіаційного забруднення ґрунтів і, відповідно, визначення територій посиленого радіоекологічного контролю (Godekmerdan, 2004). Як наслідок, певні території Черкаської області вже втратили статус радіаційно забруднених, а їх населення – статус потерпілих внаслідок аварії на ЧАЕС. Проте статистика медичних закладів області свідчить про незадовільний стан здоров'я та тенденцію до зростання відсотка онкологічної та тиреоїдної патологій у мешканців територій, забруднених радіонуклідами. При цьому слід враховувати те, що навіть у межах одного району можна виділити населені пункти з досить високою різницею ґрунтової активності радіонуклідів, забруднення радіонуклідами певних продуктів харчування (Hoshi, 2000; Morita, 2005; McMahan, 2014).

Іонізуюче випромінювання – визнаний імунодепресант, дія якого реалізується на рівні генетичного апарату та біологічних мембран імунокомпетентних клітин, а також чинить стресовий вплив (Telnov, 2002). Найчутливішою до дії радіації та стресорів іншої природи вважається Т-клітинна ланка імунітету, проте робота імунної системи є інтегративною, будь-які дисфункції однієї ланки можуть відбитися на системі в цілому (Manuck, 1991; Sajjadieh, 2009).

Певні контингенти населення зазнають впливу одночасно декількох потенційних імунодепресантів, що може викликати ефекти потенціювання, адитивності чи синергізму. Явище дистресу створює критичні умови роботи гомеостатичних систем організму, у тому числі імунної, призначеної підтримувати антигенний гомеостаз. Важливим критерієм стресових реакцій є рівень кортизолу у сироватці крові (Khaitov, 2001; Shirinsky, 2001). Вважають, що тривале перебування у стресових умовах (зокрема, хронічний вплив малих доз радіації, проживання на територіях, забруднених радіонуклідами) зумовлює певну адаптацію до дії фактора, проте додатковий стресор може виявити адаптаційні можливості та потенційний ресурс імунної системи для функціону-

вання за несприятливих умов (Drannik, 1999; Khaitov, 2001; Sajjadieh, 2009). У більшості досліджень не враховано фактор варіативності радіаційного забруднення території. Це зумовило актуальність наших досліджень і визначило мету.

Мета статті – оцінити зв'язок ступеня радіаційного забруднення території з показниками імунної системи за умов відсутності або наявності додаткових потенційних імунодепресантів.

Матеріал і методи досліджень

Протягом 1995–2015 років обстежено 250 осіб – студентів ЧНУ, які приїхали на навчання з територій посиленого радіоекологічного контролю (IV радіаційна зона, щільність забруднення ґрунтів ізотопами ^{137}Cs – 1–5 Кі/км²). Вік обстежених – 18–24 роки, всі вони на час обстеження не мали гострих захворювань. Серед них 105 осіб чоловічої та 145 – жіночої статі (обстежених у фолікулярну стадію менструального циклу). Між показниками осіб різних статей не спостерігалось статистично вірогідної різниці, тому у подальшому їх розглядали як єдину сукупність. Кров забирали вранці, до вживання їжі. В обстежених відбирали 10 мл венозної крові. Для частини аналізів (оцінка лейкоцитарної формули та рівня лейкоцитів) використовували капілярну кров. Обстеження та забори крові проводили кваліфіковані медичні працівники на базі санаторіо-профілакторію «Едем» при Черкаському національному університеті та біохімічної лабораторії міської лікарні № 1 м. Черкаси.

Аналіз показників імунної системи проводили до (контрольні значення) екзаменаційної сесії та на другий день після останнього іспиту (для оцінки впливу психоемоційного навантаження). Загальну кількість лейкоцитів підраховували в камері Горяєва, лімфоцитів – на основі кров'яного мазка (фарбування барвником Романовського – Гімза). Експресію поверхневих антигенів лімфоцитами периферичної крові визначали імунофлуоресцентним методом із використанням моноклональних антитіл до поверхневих маркерів клітин імунної системи LT1 (для оцінювання експресії пан-Т-клітинного маркера CD5), LT3 (для оцінки експресії пан-Т-клітинного маркера CD3), LT4 (для оцінки експресії Т-клітинного маркера хелперної активності CD4), LT8 (для оцінювання експресії Т-клітинного маркера ефекторної/супресорної активності CD8), LNK16 (для оцінки експресії маркера природної кілерної активності CD16) та F(ab)₂ – фрагментів овечих антитіл до IgG миші, мічених FITC («Сорбент», Росія). Рівень імуноглобулінів у сироватці крові визначали методом радіальної імунодифузії за Манчіні з використанням моноспецифічних сироваток проти IgG(H), IgM(H), IgA(H). Вміст кортизолу у сироватці крові визначали імуноферментним методом із використанням набору «BIO-RAD» (Росія). Дані про стан радіаційного забруднення територій отримали в обласній санітарно-

епідеміологічній станції та регіональній державній лабораторії ветеринарної медицини.

Для оцінки взаємозалежності показників визначали коефіцієнт кореляції Пірсона.

Результати та їх обговорення

За відсутності психоемоційного навантаження у мешканців територій, забруднених радіонуклідами, вміст кортизолу перебував на верхній межі гомеостатичної норми ($637 \pm 6,0$ ммоль/л). Спостерігається середній позитивний корелятивний зв'язок між активністю радіонуклідів, відзначеною для місця проживання обстежених

згідно із загальнодозиметричною паспортизацією, та значенням вмісту кортизолу у сироватці крові. Середні позитивні корелятивні зв'язки відмічені також між активністю радіонуклідів та рівнем нейтрофілів (за абсолютним і відносним числом), низькі позитивні – із рівнем IgG та IgM у сироватці крові. Середні негативні корелятивні зв'язки відмічені між активністю радіонуклідів та такими показниками: абсолютним і відносним числом функціонально зрілих Т-лімфоцитів із фенотипом CD3+, абсолютним і відносним числом їх хелперної субпопуляції CD4+, абсолютним і відносним числом природних кілерів із фенотипом CD16+; сильний негативний зв'язок – з імунорегуляторним індексом CD4+/CD8+ (табл.).

Таблиця

Кореляція між радіаційним забрудненням, продукцією кортизолу та показниками імунної системи в обстежених із територій посиленого радіоекологічного контролю (n = 250)

Характеристика	Кортизол, ммоль/л	Нейтрофіли, % $\times 10^9/\text{л}$	CD3+, % $\times 10^9/\text{л}$	CD5+, % $\times 10^9/\text{л}$	CD4+, % $\times 10^9/\text{л}$	CD8+, % $\times 10^9/\text{л}$	CD16+, % $\times 10^9/\text{л}$	CD4+/CD8+	IgG, мг/мл	IgM, мг/мл
Активність радіонуклідів, Кі/км ² , до стресу	0,521*	0,481* 0,513*	-0,521* -0,502*	-0,112 -0,098	-0,572* -0,531*	0,122 0,111	-0,532* -0,491*	-0,792*	0,252*	0,209*
Кортизол, ммоль/л, до стресу	1,000*	0,415* 0,445*	-0,450* -0,403*	-0,101 -0,109	-0,504* -0,491*	0,131 0,101	-0,443* -0,414*	-0,604*	0,201*	0,215*
Активність радіонуклідів, Кі/км ² , стрес	0,842*	0,571* 0,537*	-0,556* -0,561*	-0,452* -0,404*	-0,684* -0,662*	0,432* 0,444*	-0,621* -0,689*	-0,810*	-0,451*	-0,121
Кортизол, ммоль/л, стрес	1,000*	0,510* 0,513*	-0,601* -0,611*	-0,500* -0,520*	-0,713* -0,704*	0,404* 0,422*	-0,611* -0,645*	-0,852*	-0,433*	-0,112

Примітки: * – достовірність коефіцієнта кореляції, $P < 0,05$; для популяцій і субпопуляцій клітин імунної системи вказано коефіцієнти кореляції з відносною кількістю (верхній показник) і абсолютною кількістю (нижній показник).

Позитивна кореляція активності радіонуклідів на забрудненій території та вмісту нейтрофілів у периферичній крові є логічною, оскільки поліморфноядерні лейкоцити вважаються важливим індикатором стресової реакції. Негативна кореляція хелперних Т-лімфоцитів та природних кілерів дає підстави робити висновок про певні збої в ефективності роботи противірусного та протипухлинного імунітету. Справді, Т-лімфоцити з фенотипом CD4+ стимулюють запуск численних імунних процесів, а лімфоцити з фенотипом CD16+ відіграють важливу роль у розпізнаванні та знищенні малігнізованих клітин (Drannik, 1999; Yarin, 1999). Отримані дані узгоджуються з даними літератури щодо підвищеної чутливості до впливу іонізуючого випромінювання саме хелперних Т-лімфоцитів (Kinet, 2007).

Відсутність кореляційної залежності з активністю радіонуклідів експресії антигену CD8, який є одним із головних маркерів ефекторної та супресорної активності Т-лімфоцитів, зумовлена, очевидно, тим, що клітини з фенотипом CD8+ вважаються відносно кортизолрезистентними та найстійкішими до впливу іонізуючого випромінювання (Finlay, 2011; Hommel, 2007).

Вміст кортизолу за відсутності додаткових стресових чинників демонструє середній позитивний корелятивний зв'язок із відносною та абсолютною кількістю нейтрофілів, низький позитивний зв'язок із рівнем IgG та IgM у сироватці крові, середній негативний корелятивний зв'язок із відносною та абсолютною кількістю функціонально зрілих Т-лімфоцитів із фенотипом CD3+, відносною та абсолютною кількістю хелперних Т-лімфоцитів із фенотипом CD4+, відносною та абсолютною кількіс-

тю природних кілерів із фенотипом CD16+, а також сильний негативний зв'язок з імунорегуляторним індексом CD4+/CD8+ (табл.).

Відповідно, між вмістом кортизолу та оцінюваними показниками імунної системи спостерігаються корелятивні зв'язки того ж напрямку, що і між активністю радіонуклідів, але значення коефіцієнта кореляції нижчі (табл.). Таким чином, за умов відсутності додаткових стресових впливів спостерігається певна адаптація до постійної помірної гіперпродукції кортизолу. Проте, оскільки за майже 20 років спостережень відмічено тенденцію до певного зростання зазначених коефіцієнтів кореляції, можна зробити висновок про посилення залежності показників клітинної ланки від дозового навантаження (як наслідку вищої чи нижчої активності радіонуклідів на певній території) та зумовленої ним гіперпродукції кортикостероїдів.

Виявлені закономірності показують, що імуносупресія клітинної ланки, яка залежить від дозового навантаження, до певної міри компенсується зростанням концентрації сироваткових імунoglobulinів. Ефект узгоджується з даними літератури про вищу чутливість до стресових впливів узагалі та радіаційного чинника зокрема саме Т-клітинної ланки імунної системи (Titov, 1995; Godekmerdan, 2004; Sajjadih, 2009; Weng, 2010; Jahns, 2011; Balogh, 2013).

За умов додаткового стресового впливу, зумовленого психоемоційним навантаженням під час екзаменаційної сесії, в обстежених достовірно зростає вміст кортизолу у сироватці крові ($893 \pm 8,1$ ммоль/л). При цьому спостерігаються корелятивні залежності, подібні до відмічених у

міжсесійний період, проте, є певні особливості. Зокрема, між рівнем кортизолу та активністю радіонуклідів спостерігається сильний позитивний кореляційний зв'язок. Посилюється ступінь кореляційної залежності між радіаційним забрудненням і вмістом кортизолу, з одного боку, та імуносупресією на рівні показників хелперних Т-лімфоцитів, імунорегуляторного індексу, природних кілерних клітин – з іншого. З'являється середній негативний кореляційний зв'язок між активністю радіонуклідів (а також концентрацією кортизолу) та експресією пан-Т-клітинного маркера CD5, середній позитивний – з абсолютним та відносним числом супресорних Т-лімфоцитів із фенотипом CD8+, змінюється з позитивної на негативну кореляційна залежність із рівнем сироваткового IgG (табл.).

Таким чином, додатковий короткочасний стресовий чинник, поєднаний із хронічним впливом малих доз радіації, посилює залежність імуносупресії, зумовленої радіаційним забрудненням місцевості проживання обстежених, і викликає збої у компенсаторних механізмах, зокрема, на рівні продукції сироваткових імуноглобулінів.

Виражена імуносупресія в обстежених із населених пунктів, що мали вищі дозові навантаження, була підставою для надання рекомендації даному контингенту щодо подальших обстежень у санаторії-профілакторії при університеті, а після огляду лікарів санаторію (для окремих осіб) – в обласних ендокринологічній та онкологічній лікарнях.

Висновки

В обстежених, які зазнали хронічного впливу малих доз радіації, важливим фактором, що визначає вираженість імуносупресії, можна вважати активність радіонуклідів на території проживання та зумовлену їх дією гіперпродукцію кортикостероїдів. Додаткове стресове навантаження, зокрема, емоційної природи, посилює залежність імуносупресії від ступеня радіаційного забруднення та здатне викликати збої у роботі компенсаторних механізмів. Незважаючи на зниження протягом 1995–2015 рр. дозового навантаження на мешканців територій посиленого радіоекологічного контролю, вони є групами ризику розвитку порушень стану здоров'я, зокрема, на рівні роботи імунної та ендокринної систем, і потребують регулярних медичних оглядів.

Бібліографічні посилання

Balogh, A., Persa, E., Bogdarndi, E.N., Benedek, A., Hegyesi, H., Sarfrany, G., Lumniczky, K., 2013. The effect of ionizing radiation on the homeostasis and functional integrity of murine splenic regulatory T cells. *Inflamm. Res.* 62, 201–212.

Drannik, G.N., 1999. Clinical immunology and allergology [Klinicheskaja immunologija i allergologija]. Astroprint, Odessa (in Russian).

Finlay, D., Cantrell, D.A., 2011. Metabolism, migration and memory in cytotoxic T cells. *Nat. Rev. Immunol.* 11, 109–117.

Godekmerdan, A., Ozden, M., Ayar, A., 2004. Diminished cellular and humoral immunity in workers occupationally exposed to low levels of ionizing radiation. *Arch. Med. Res.* 35, 324–328.

Hommel, M., Hodgkin, P.D. 2007. TCR affinity promotes CD8+ T cell expansion by regulating survival. *J. Immunol.* 179, 2250–2260.

Hoshi, M., Konstantinov, Y.O., Evdeeva, T.Y., Kovalev, A.I., Akseonov, A.S., Koulikova, N.V., Sato, H., Takatsui, T., Takada, J., Endo, S., Shibata, Y., Yamashita, S. 2000. Radiocesium in children residing in the western districts of the Bryansk oblast from 1991–1996. *Health Phys.* 79, 182–186.

Jahns, J., Anderegg, U., Saalbach, A., Rosin, B., Patties, I., Glasow, A., Kamprad, M., Scholz, M., Hildebrandt, G. 2011. Influence of low dose irradiation on differentiation, maturation and T-cell activation of human dendritic cells. *Mutat. Res.* 709–710, 32–39.

Khaitov, R.M., Leskov, V.P., 2001. Immunity and stress [Immunitet i stress]. *Rossijskij Fiziologicheskij Zhurnal* 87(8), 1060–1072 (in Russian).

Kinet, S., Swainson, L., Lavanya, M., Mongellaz, C., Montel-Hagen, A., Craveiro, M., Manel, N., Battini, J.L., Sitbon, M., Taylor, N., 2007. Isolated receptor binding domains of HTLV-1 and HTLV-2 envelopes bind Glut-1 on activated CD4+ and CD8+ T cells. *Retrovirology* 4, 31.

Manuck, S.B., Cohen, S., Rabin, B.S., 1991. Individual differences in cellular immune response to stress. *Psychol. Sci.* 2, 111–114.

McMahon, D., Vdovenko, V., Karmaus, W., 2014. Effects of long-term low-level radiation exposure after the Chernobyl catastrophe on immunoglobulins in children residing in contaminated areas: prospective and cross-sectional studies. *Environ. Health* 13(1), 36–50.

Morita, N., Takamura, N., Ashizawa, K., Shimasaki, T., Yamashita, S., Okumura, Y., 2005. Measurement of the whole-body ¹³⁷Cs in residents around the Chernobyl nuclear power plant. *Radiat. Prot. Dosim.* 113, 326–329.

Sajjadih, M.R., Sheikh, L.V., Kuznetsova, V.B., 2009. Effect of ionizing radiation on development process of T-cell population lymphocytes in Chernobyl children. *Iran. J. Radiat. Res.* 7, 127–133.

Shirinsky, I., Shirinsky, V., 2001. Social stress disorders and immunity. *Russ. J. Immunol.* 6(2), 207–214.

Telnov, V.I., Zhuntova, G.V., 2002. Genotypic analysis of biochemical status of people received radioactive irradiation [Genotipicheskij analiz biohimicheskogo statusa u ljudej, obluchennyh v znachitel'nyh dozah]. *Voprosy Medicinskoj Khimii* 44(5), 56–60 (in Russian).

Titov, L., Kharitonic, G., Gourmanchuk, I., Ignatenko, S., 1995. Effects of radiation on the production of immunoglobulins in children subsequent to the Chernobyl disaster. *Allergy Asthma Proc.* 16(4), 185–193.

Weng, L., Williams, R.O., Vieira, P.L., Screatton, G., Feldmann, M., Dazzi, F., 2010. The therapeutic activity of low-dose irradiation on experimental arthritis depends on the induction of endogenous regulatory T cell activity. *Ann. Rheum. Dis.* 69, 1519–1526.

Yarilin, A.A., 1999. Osnovy immunologii [Immunology fundamentals]. Medicine, Moscow (in Russian).

Надійшла до редколегії 14.09.2015