

УДК: 616.831—001:612.017.1:614.876—092.9.259

Особливості імунних порушень у віддалений період легкої закритої черепно-мозкової травми на фоні впливу хронічного іонізуючого опромінення в експерименті

Дяків В.В.

Львівський державний медичний університет ім. Данила Галицького, м.Львів, Україна

Ключові слова: легка черепно-мозкова травма, іонізуюче випромінювання, імунологія, мітогени, бласттрансформація лімфоцитів.

Особливої актуальності вивчення впливу іонізуючого випромінювання (ІВ) на головний мозок набуло після виникнення в 1986 р. аварії на ЧАЕС.

Значну кількість досліджень присвячено гострому впливу на живий організм великих доз радіації та хронічній дії малих доз іонізуючого випромінювання [1,2,4,6,8,11,12]. Немало наукових спостережень проведено з метою вивчення перебігу віддаленого періоду легкої черепно-мозкової травми – ЛЗЧМТ [3,5,7,9,10]. В той же час у доступній літературі ми не зустріли публікацій, які б містили дані щодо імунного статусу хворих у віддалений період ЛЗЧМТ на фоні хронічного впливу малих доз ІВ.

Матеріали і методи дослідження. Досліди проводились на 40 безпородних білих щурах-самцях віком 3—4 міс, з середньою масою тіла 160—180 г. Тварини були розділені на 4 групи по 10 у кожній. Першу групу склали інтактні щури (контрольна група). Тваринам другої групи на третій місяць утримання було модельовано ЛЗЧМТ пістолетним пружинним ударником [А.П. Ромоданов, М.І.Лісяний, 1991]. Третій групі тварин протягом 6 міс один раз на добу давали як харчову добавку до їжі (молока) радіоактивний цезій у складі розчину хлористого цезію-137 — по 0,5 мл з активністю 620 Бк\добу [С.С. Макеєв та ін.,1998]. Всього за 6 міс опромінення підслідні щури отримали дозу радіації, що наводиться в табл.1. Тварини четвертої групи протягом 6 міс одержували з їжею радіоактивний цезій-137 за тією методикою, що й тварини третьої групи. На третій місяць після початку затравки їм було модельовано ЛЗЧМТ за описаною вище методикою.

Усіх тварин забивали на шостий місяць утримання методом декапітації.

Вивчення γ -активності мозку щурів проводили на спектрофотометрі “Robotron” у свинцевій камері.

Об’єктом імунних досліджень в експерименті були кров і селезінка, які брали через 5 хв після забивання тварин.

Таблиця 1. Вміст цезію-137 в тілі підслідних щурів та поглинута доза препарату через 180 діб експерименту

Середня маса тіла тварин, г	Середня кількість радіонуклідів у тілі тварин, Бк	Поглинута доза препарату, Гр
300 ± 2,5	2531,82 ± 908,807	0,021

Функціональну активність лімфоцитів периферичної крові і спленоцитів досліджували в спонтанній реакції бласттрансформації їх (РБТЛ) з Т- і В- мітогенами, яка відображає функціональну активність Т- і В- лімфоцитів [М.І.Лісяний та ін.,1993, 1998]. РБТЛ з мітогеном КонА в дозі 6 мкг\мл відображає функціональну активність Т-лімфоцитів [В.В.Хоробрих та ін.,1983].

Функціональну активність В-лімфоцитів визначали у РБТЛ на поліклональний активатор В-клітин — декстран-сульфат (100 мкг\мл), який стимулює останніх [В.В.Хоробрих та ін.,1983].

Відомо, що певні популяції супресорних клітин чутливі до дії індометацину, що блокує синтез гуморального супресорного фактора, до складу якого входять простагландини Е-2. Ця популяція клітин-супресорів має властивість прилипати до скла чи пластика і належить як до популяції Т-супресорів, так і до макрофагальних супресорів. Додавання у реакцію бласттрансформації лімфоцитів індометацину в діапазоні від 1 мкг/мл до 5 мкг/мл викликає пригнічення активності супресорів і, таким чином, посилення бласттрансформації лімфоцитів [У.Рacini et al.,1982; L.Skoldstam et al.,1982]. Нами використовувалася концентрація індометацину 2 мкг\мл. Визначався також показник активності індометацинзалежних супресорів (ПАС) за формулою: ПАС = О/К, де О — проба лімфоцитів, які були стимульовані індометацином; К — лімфоцити, стимульовані мітогеном КонА.

При дослідженні стану клітинного імунітету за допомогою тестів проліферації лімфоцитів

крові, стимульованих Т- і В- мітогенами, виявлено незначні зміни проліферативної активності Т-лімфоцитів у всіх досліджуваних групах тварин (табл.2).

Зіставлення отриманих даних показало, що

статистично значущих відмінностей між групами немає. Це свідчить про збереження у всіх тварин функціональної активності Т-клітинної ланки імунітету (табл.2).

При вивченні здатності лімфоцитів відпові-

Таблиця 2. Функціональна активність лімфоїдних клітин крові щурів у тесті РБТЛ (% бласттрансформації)

Група тварин	Функціональна активність лімфоцитів			
	Спонтанна, %	Т-лімфоцитів (Кон А), %	Супресорів, індекс супресії	В-лімфоцитів (декстран), %
Контрольна n = 8	2,10 ± 1,10	22,0 ± 2,80	1,23 ± 0,02	54,00 ± 3,30
З ЧМТ n = 7	5,33 ± 0,80*	16,05 ± 3,70	1,36 ± 0,02 *	36,70 ± 6,08
Опромінені Cs ¹³⁷ n = 7	2,00 ± 0,20	21,00 ± 1,00	0,87 ± 0,13 *	45,25 ± 4,58
З ЧМТ+ Cs ¹³⁷ n = 9	6,04 ± 1,30 *	25,29 ± 4,93	0,96 ± 0,02 *	35,70 ± 7,66

Примітка. * — вірогідно порівняно з контролем.

дати на дію В-мітогенів у тесті РБТЛ було виявлено пригнічення проліферативної активності їх у піддослідних тварин. Так, якщо в інтактних щурів відсоток бласттрансформації лімфоцитів становив $54,00 \pm 3,30\%$, то у тварин, які отримали травму на фоні опромінення, виявлялося вірогідне пригнічення проліферації лімфоцитів у відповідь на дію В-мітогенів: індекс трансформації складав — $35,70 \pm 3,60\%$ ($P < 0,05$). У щурів, які зазнали впливу лише опромінення, реєструвалось пригнічення проліферації лімфоцитів внаслідок дії В-мітогенів, але це пригнічення було невірогідним ($P = 0,05$) порівняно з інтактними тваринами. У групі тварин, які отримали тільки ЛЗЧМТ, також спостерігалось невірогідне пригнічення проліферації порівняно з контрольними. Таким чином, лише у тварин з ЛЗЧМТ, одержаною на фоні радіаційного опромінення, виявлялось вірогідне пригнічення проліферативної функції В-лімфоцитів крові. В той же час при порівнянні результатів, отриманих у всіх трьох групах піддослідних тварин, вірогідної різниці між ними не встановлено, хоча в кількісному відношенні це виглядало таким чином: найбільше пригнічення проліферації В-клітин виявлено у тварин, які і зазнали впливу опромінення і мали травму, трохи менше у тварин з ЛЗЧМТ, ще менше — у тих тварин, на яких діяло тільки хронічне опромінення.

При вивченні стану регуляторної ланки імунітету, а саме активності індометацинзалежних супресорів, було виявлено, що у тварин піддослідних груп мають місце різнонаправлені зміни імунних показників. Так, у щурів, які отримали радіонукліди та ЛЗЧМТ, спостерігалось вірогідне ($P < 0,05$) пригнічення індексу імунорегуляції порівняно з інтактними. У тварин, які лише мали травму, реєструвалось незначне

підвищення цього показника, а у тих, які були тільки опромінені, — його пригнічення. Отже, поєднана дія ЧМТ та опромінення викликає такі ж порушення в системі імунорегуляторних клітин, як і саме лише опромінення, хоча в кількісному вираженні воно дещо менше, ніж при опроміненні.

Важливим показником активності імунних клітин є рівень спонтанної проліферації лімфоцитів, що вказує на ендogenous стан імунної системи. При визначенні у піддослідних тварин цього показника було встановлено, що лише поєднана дія травми та опромінення призводить до спонтанного посилення проліферації клітин порівняно з контрольними даними. Однак потрібно зазначити, що вірогідної різниці між даними, одержаними в дослідних групах тварин та в контрольній, немає, є лише тенденція до певної ендogenous активації імунної системи при сумісному впливі опромінення та ЛЗЧМТ. Необхідно також вказати, що при самому тільки опроміненні подібна активація лімфоцитів не виявляється, що свідчить про імуносупресивну дію опромінення.

Виявлені особливості змін у системі імунітету за показниками крові значною мірою доповнюються даними дослідження стану функціональної активності клітин селезінки — важливого органа, що бере участь у забезпеченні імунітету. Встановлено, що проліферативна активність Т-лімфоцитів селезінки, як при дії окремих чинників (ЛЗЧМТ або опромінення), так і внаслідок сукупної їх дії пригнічується (табл.3). Дослідження стану регуляторної ланки імунітету у піддослідних тварин, що визначався за рівнем активності індометацинзалежних супресорів селезінки, показало найбільш значуще вірогідне пригнічення її у щурів, які зазнали

сукупного впливу опромінення та ЛЗЧМТ. Так, індекс супресії складав в основній групі (з опроміненням та ЧМТ) $0,99 \pm 0,03$ ($P < 0,05$), тоді як у групі інтактних тварин — $1,38 \pm 0,09$. ЛЗЧМТ практично не впливала на стан індометацинзалежних супресорів, що повністю узгоджується з даними, отриманими при дослідженні імунних показників крові. У той же час виявлено певну відмінність показника спонтанної проліферації спленоцитів. Практично у всіх трьох групах тварин спостерігалась підвищена спонтанна проліферація клітин селезінки, але найбільшою ($P < 0,05$) вона була у тварин основної групи, які зазнали сукупної дії двох чинників. Порівняння результатів, отриманих при дослі-

дженні крові та селезінки тварин, вказувало на однаправленість імунних змін під впливом опромінення та травми, а також на те, що більшою мірою страждає імунна система, а саме селезінка, тоді як, за показниками крові, зміни в імунній системі менш виражені, що пов'язано з великою динамічністю показників крові та їх залежністю від різних чинників.

Підсумовуючи результати проведеного дослідження, необхідно вказати, що при розвитку травматичної хвороби головного мозку на фоні опромінення організму малими дозами радіації відбуваються значні зрушення в функціональній активності лімфоцитів, а саме: при-

Таблиця 3. Стан функціональної активності лімфоцитів селезінки у експериментальних тварин після внутрішнього опромінення у віддалений період легкої закритої ЧМТ

Група тварин	Функціональна активність лімфоцитів			
	Проліферативна активність, %		Супресорна (індометацинчутлива)	ПАС
	Спонтанна	Стимульована Кон А		
Контрольна N = 10	$8,50 \pm 0,07$	$45,40 \pm 2,40$	$62,40 \pm 2,80$	$1,38 \pm 0,09$
З ЧМТ N = 7	$12,10 \pm 1,10$	$31,40 \pm 3,40$	$42,80 \pm 5,60$	$1,34 \pm 0,10$
Опромінені Cs ¹³⁷ n = 7	$13,40 \pm 1,30$	$32,10 \pm 4,10$	$34,50 \pm 3,50$	$1,10 \pm 0,13$
З ЧМТ+ Cs ¹³⁷ n = 9	$18,20 \pm 1,06 *$	$34,10 \pm 3,20$	$31,70 \pm 4,70$	$0,99 \pm 0,03 *$

Примітка. * — вірогідно порівняно з контролем

гнічується проліферативна активність В-лімфоцитів, порушується імунорегуляторна супресорна функція імунних клітин, збільшується ендогенна активація лімфоцитів. При порівнянні виявлених змін у крові та селезінці ми констатували вагомні зміни в селезінці, що вказує на значне ураження імунних органів. Направленість цих змін в основному визначається порушеннями, зумовленими хронічним опроміненням.

Список літератури

- Булавка А.В., Васильев А.М., Скибо Г.Г. Реакція нервової тканини на зовнішнє опромінювання // 1-й з'їзд нейрохірургів України: Тези доп. — Київ, 1993. — С.69—70.
- Давыдов Б.И., Ушаков И.Б., Федоров В.П. Радиационное повреждение головного мозга. — М.: Энергоатомиздат, 1991. — 239 с.
- Курако Ю.Л., Букина В.В. Легкая закрытая черепно-мозговая травма. — К.: Здоров'я, 1989. — 159 с.
- Лисяний М.І., Гнедкова І.О., Любич Л.Д. Роль нейроімунних процесів у патогенезі змін у головному мозку під дією малих доз іонізуючого випромінювання // Хронічний вплив малих доз опромінення на нервову систему / За ред. Ю.О. Зозулі. — Київ, 1998. — С.174 — 208.
- Лихтерман Л.Б. Черепно-мозговая травма — прогноз и последствия. — М.: Медицина, 1993. — 458 с.
- Пікулев А.Т. Малі дози іонізуючої радіації і головний мозок // Радиобіологічний съезд: Тезиси докл. — Пушчино, 1993. — Ч.3. — С.798.
- Ромоданов А.П. Спільні механізми патогенезу всіх видів закритої черепно-мозкової травми та її віддалених наслідків // 1-й з'їзд нейрохірургів України: Тези доп. — К., 1993. — С.24.
- Fito J., Cann C., Turovski K. et al. Radiation dose repons of normal brain // Int.J. Radiat. kncol. Biol. Phys. — 1988. — N.14 — С.63 — 70.
- Gasquoine P.G. Postconcussion symptoms // Neuropsychology Review. — 1997. — V.7, N.2. — P.77—85.
- King N. Mild head injury: neuropathology, sequelae, measurement and recovery // British J. Clin. Psychol. — 1997. — V.36, pt 2. — P.161—184.
- Mormex F., Beauvois S., Van Houtte P. Late effects of ionizing radiations on central nervous system, spinal cord and peripheral nerves // Cancer Radiotherapie. — 1997. — V.1, N.6. — P.677—682.
- Usenius T., Tenhunen M., Koistimaho J. Ionizing radiation induces expression of immediate early genes in the rat brain // Neuroreport. — 1996. — V.7, N. 15—17. — P.2559—2563.

Особенности иммунных нарушений в отдаленный период легкой черепно-мозговой травмы на фоне влияния хронического ионизирующего облучения в эксперименте

Дяків В.В.

Проводилось исследование иммунных нарушений в отдаленный период легкой черепно-мозговой травмы на фоне хронического влияния малых доз ионизирующего излучения в эксперименте. Опыты проведены на белых крысах, которые были разделены на 4 группы. Объектом исследования были кровь и селезенка. Выявлено, что при развитии травматической болезни головного мозга на фоне внутреннего облучения организма животных малыми дозами радиации возникают значительные изменения в функциональной активности лимфоцитов, в частности угнетается пролиферативная активность В-лимфоцитов, нарушается иммунорегуляторная функция супрессорных клеток, возрастает эндогенная активация лимфоцитов. В то же время во всех группах подопытных животных изменения в пролиферативной активности Т-лимфоцитов были незначительные. Обнаруженные изменения более весомые в селезенке, чем в крови, что указывает на преимущественное поражение иммунных органов. Направленность этих изменений обусловлена в основном нарушениями, вызванными действием ионизирующей радиации.

Peculiarities of immune disorders in remote period of experimental mild craniocerebral injuries against the background of chronic effects of small-dose ionizing radiation

Kiakov V.V.

Immune disorders in the late period of craniocerebral injuries against the background of chronic effect of small doses of ionizing radiation have been studied in vitro. The experiments were carried out on white rats who were divided into 4 groups. The object of the investigation was the blood and the spleen. It has been found out that during development of traumatic diseases of brain against the background of internal radiation of the animal organism with small doses of radiation there develop significant shifts in the function activity of lymphocytes, namely: proliferative activity of B-lymphocytes is inhibited, immunoregulatory function of suppressor cells is impaired, endogenous activation of lymphocytes increases. At the same time changes in the proliferative activity of T-lymphocytes were insignificant in all groups of the studied animals. The revealed changes were more marked in the spleen than in the blood, it testifying to the prevalent lesion of immune organs. The character of these changes is mainly caused by disturbances induced by the action of ionizing radiation.