

# МЕДИЦИНСКАЯ ЭКОЛОГИЯ

УДК 591.046

## ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ И ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ НИЗКОУРОВНЕВОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ: СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕЖКЛЕТОЧНЫХ И МЕЖСИСТЕМНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ

*Н.Г.Кручинский, А.И.Тепляков, Н.В.Акулич, Д.В.Теплякова, Е.В.Прищепова, Т.И.Чегерова, А.С.Прокопович, В.Л.Хохлова, Л.Н.Ковалева, В.А.Остапенко*

ГУ здравоохранения «НИИ экологической и профессиональной патологии», г. Могилев, Беларусь

## PROFESSIONAL AND ECOLOGICAL RADIATION INFLUENCE: THE COMPARATIVE ANALYSIS OF INTERCELLULAR AND INTERSYSTEM INTERACTIONS

*N.G.Kruchinsky, A.I.Teplyakov, N.V.Akulich, D.V.Teplyakova, E.V.Prishchepova, T.I.Chegerova, A.S.Prokopovich, V.L.Khochlova, L.N.Kovaleva, V.A.Ostapenko*

State department of Public health service «Scientific research institute of ecological and professional pathology», Mogilyov, Belarus

© Коллектив авторов, 2004 г.

В статье на основании анализа базовых патогенетических механизмов атеросклеротического поражения артерий в условиях неблагоприятных воздействий (радиационного и химического) проведена проверка гипотезы, согласно которой нарушение межклеточных взаимодействий лежит в основе патогенеза атеросклероза. Показано, что при атеросклеротическом поражении вследствие приобретенных гемостазиопатий однотипно изменяется характер «привычных» межклеточных взаимодействий «клетка-клетка» и «клетка-субстрат» с развитием воспалительных реакций у пациентов, проживающих на загрязненных радионуклидами территориях, у медицинского персонала, подвергающегося длительному низкоуровневому радиационному воздействию, и у стажированных рабочих химической промышленности. Постулируется, что со снижением уровня токсических воздействий низкой интенсивности и увеличением их экспозиции ответные реакции имеют менее специфичный характер и реализуются посредством закрепления перехода внутри- и межклеточных координационных взаимодействий на новый, патологический уровень функционирования.

In article on the basis of the analysis of the basic pathogenetic mechanisms of atherosclerotic defeat of arteries in conditions adverse (radiating and chemical) influences check of a hypothesis according to which infringement of intercellular interactions underlies pathogenesis an atherosclerosis is lead. It is shown, that at atherosclerotic defeat owing to got haemostasiopathies, character of «habitual» intercellular interactions «cell-cell» and «cell-substratum» с development of inflammatory reactions and in the patients living on contaminated after the Chernobyl accident territories, and in the medical personnel, exposed long-term to radiating influence, and at workers of the chemical industry the same varies. It is postulated, that with decrease in a level of toxic influences of low intensity and increase in their exposition, responses have less specific character and are realized by means of fastening transition inside and intercellular coordination interactions on a new, pathological level of functioning.

### ВВЕДЕНИЕ

Проведенные ранее исследования показали, что модифицируемые факторы риска развития атеросклероза и их сочетания у различных категорий населения, в том числе и подвергающегося неблагоприятному экологическому (радиационному и химическому) прессингу, могут встречаться с примерно одинаковой частотой [1–7]. Следует отметить также, что, на наш взгляд, такие процессы, как хемотаксис, экстравазация, движение форменных элементов крови в потоке и их последующая адгезия и агрегация, являются част-

ными случаями таких фундаментальных процессов, как реализация клеточных реакций системы гемостаза, неспецифической резистентности и клеточного иммунитета, лежащих в основе формирования системных воспалительных реакций при атеросклерозе [2].

С учетом вышеизложенного целью настоящего исследования явилось изучение основных патогенетических механизмов патогенеза и патоморфоза атеросклеротического поражения артерий в условиях низкоуровневых неблагоприятных воздействий для проверки нашей гипотезы о нарушении межклеточных взаимодействий, лежащих в основе патогенеза атеро-

склероза на всех уровнях (от инициации и до развития атеротромботических осложнений).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выбор объекта настоящего исследования определила сложившаяся в республике экологическая ситуация, обусловленная катастрофой на ЧАЭС и ее последствиями, а также особенность г. Могилева, отличающегося высоким развитием химической (производство вискозы является наиболее вредным) промышленности, что еще более усугубляет обстановку в регионе. Изучению и анализу подвергнуты результаты обследования и лечения 282 пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) и головного мозга (ИБМ), относящихся к различным категориям населения (77 ликвидаторов последствий аварии и 155 постоянно проживающих на контаминированных территориях), пострадавшего от аварии на Чернобыльской АЭС; 250 медицинских работников — персонал отделений лучевой диагностики ЛПУ, профессионально подвергающийся низкоуровневому радиационному воздействию (группа «профессионалов»); 75 рабочих вискозной промышленности с длительным стажем работы (более 10 лет) во вредных (воздействие сероуглеродом) условиях труда; 55 пациентов с установленным диагнозом профессионального заболевания (интоксикация сероуглеродом); 144 пациента с сердечно-сосудистой и цереброваскулярной патологией, не подвергавшихся длительному низкоуровневому радиационному и химическому воздействию (контрольная группа).

Следует отметить, что сероуглерод относится к веществам II класса опасности, а согласно зарубежным данным, он является мощным проатерогенным токсином [7, 8], что и обусловило выбор именно этой группы исследования. Среди всех основных групп в равной степени рассматривались пациенты с ИБС и цереброваскулярной патологией, связанной с атеросклерозом, соответствующей понятию ишемической болезни мозга [9, 10]. Привлекает внимание тот факт, что результаты обследования пациентов позволяют говорить только о клинических вариантах преобладающей патологии, так как атеросклеротическое поражение магистральных артерий практически всегда имело сочетанный характер, что отражает системное вовлечение сосудов в атеросклеротический процесс.

В качестве контрольной группы для изучения характера межклеточных взаимодействий и внутриклеточной коммуникации выбраны 12 практически здоровых доноров-добровольцев без признаков атеросклеротического поражения магистральных артерий. Недостатком такого выбора является отсутствие репрезентативности по возрасту, однако, на наш взгляд, это компенсируется тем обстоятельством, что все основные группы репрезентативны по основным факторам риска развития атеросклероза и полу. Очень важно то, что средний стаж неблагоприятного профессионального и экологического воздействия строго

совпадает: 15-летний послеаварийный период и средний стаж «профессионалов» — 14,5 лет (рентгенологи) и 13,8 лет (рабочие вискозной промышленности).

### Методические подходы к анализу межклеточных и межсистемных взаимодействий

Как уже указывалось, ранее нами было высказано предположение о ведущей роли нарушения «привычных» межклеточных и внутриклеточных (состояние эпигенома) взаимодействий на всех этапах развития атерогенеза [11–13].

Для доказательства этого предположения нами проведено развернутое гемостазиологическое исследование (адгезивная и агрегационная функция тромбоцитов в ответ на широкий спектр индукторов (АДФ 1,0 мкмоль и 2,5 мкмоль, эпинефрин 2,5 мкмоль, ристоцетин 1,0 мг/л) агрегации, что позволяет оценить характер межклеточных взаимодействий типа «тромбоцит-тромбоцит» и «тромбоцит-субстрат» [13–15].

Исследовали состояние гемостазиологического равновесия с оценкой теназо-, протромбиназообразования и фибринолитической системы. Необходимость этого подхода обусловлена тем, что все гемостазиологические реакции протекают на клеточной мембране как трансдуцирующей поверхности [11, 13].

Исследование реологических свойств крови с оценкой структурно-функциональных особенностей эритроцитов (деформируемость и агрегация) проводилось с помощью гематологического анализатора, что позволяет исследовать взаимодействие типа «эритроцит-эритроцит» [16, 17].

Адгезивный потенциал других форменных элементов крови и степень нарушения «привычных» межклеточных взаимодействий оценивались по уровню растворимых (s) форм молекул клеточной адгезии (МКА): sP- и sE-селектинов, sICAM-1 и sVCAM-1. Также были изучены следующие медиаторы межклеточных взаимодействий: ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, и эндотелин-1 (ЕТ-1) иммуноферментным методом ELISA [12, 13, 15].

Изменение характера внутриклеточной коммуникации изучали с помощью оценки состояния интерфазного хроматина лимфоцитов и нейтрофильных гранулоцитов крови (НГК) при проведении морфоденситометрического (МДМ) анализа интерфазного хроматина с оценкой оптических и геометрических параметров гетеро-, эу- и перигранулярного («переходного») компонентов на аппаратно-программном комплексе «ДиаМорф» (Россия) [3].

Методы оценки межклеточных взаимодействий включали в себя также выполнение разработанных нами ранее так называемых нагрузочных проб, моделирующих осложненное (тромбообразование) течение атеросклеротического процесса (путем инкубации образца крови при 37° С в течение 6 часов) и постстенотическую сепарацию кровотока при атеросклеротической окклюзии с высокими напряжениями

ми сдвига (путем инкубации образца крови после реологического воздействия при высокой скорости сдвига) [12, 13]. Выбор именно этих тестов обусловлен тем, что основной стоящей перед нами задачей было изучение патогенеза атеросклероза в различных экологических условиях.

Следующим этапом работы было изучение изменения внутриклеточной коммуникации по принципу «обратной связи». Для этого нами были изучены МДМ-реакции лимфоцитов и НГК на основные проатерогенные факторы роста — PDGF-AB (в конечных концентрациях 0,5 нг/мл, 5,0 нг/мл и 10,0 нг/мл) и TGF- $\beta$  (0,05 нг/мл, 0,5 нг/мл и 5,0 нг/мл) в различные временные интервалы инкубации (30 мин, 60 мин и 6 ч).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Результаты гемостазиологического и гемореологического исследований

Во всех основных группах пациентов с различными формами атеросклеротического поражения артерий выявлены и описаны нами ранее [11–15, 18, 19] изменения гемостазиологического равновесия. Они могут быть расценены как приобретенные гемостазиопатии, главную роль в формировании которых играет как основной патологический процесс, так и длительное влияние неблагоприятных экологических факторов. Влияние последних может быть оценено на основании выявленных особенностей смещения гемостазиологического равновесия. Рассмотрим эти особенности поэтапно.

Во-первых, во всех основных группах пациентов выявлена функциональная активация тромбоцитов и НГК, что может быть расценено как гипераггезивная и гиперагрегационная тромбоцитопатия с появлением в кровотоке активных НГК, способных к спонтанной секреции содержимого лизосомальных гранул и обладающих мощным протеолитическим и оксидативным потенциалом (не в основе ли этих реакций лежит дебют оксидативного стресса?).

Следует обратить внимание на то что у пациентов, проживающих на загрязненных территориях, и медперсонала, работающего с источниками ионизирующей радиации, а также рабочих вискозной промышленности отмечается достоверно более высокий уровень активации тромбоцитов и НГК, чем у ликвидаторов и жителей г. Могилева (последние также подвергаются воздействию сероуглерода, но в меньшей степени).

Самый высокий уровень активации обнаружен нами у пациентов с хронической интоксикацией сероуглеродом (они подвергались самому интенсивному воздействию в анамнезе). Эти данные четко указывают на активацию взаимодействий как типа «тромбоцит-тромбоцит», так и «тромбоцит-фактор Виллебранда».

Во-вторых, при атеросклерозе выявлено типичное для этого патологического процесса гиперкоагуляционное состояние во всех основных группах обследованных пациентов. Однако и на уровне коагуляционного гемостаза можно проследить ряд различий, связанных с особенностями неблагоприятного экологического воздействия. Так, у ликвидаторов аварии на Чернобыльской АЭС гиперкоагуляция связана преимущественно с активацией теназообразования, которое, как уже указывалось выше, протекает при участии клеточной поверхности, и уровнем тромбинемии, тогда как у жителей загрязненных территорий гиперкоагуляция в основном обусловлена повышением концентрации фибриногена и уменьшением тромбинового времени. Аналогичная картина наблюдается и у «профессионалов», работающих с источниками ионизирующей радиации.

В то же время наиболее значительные изменения гемостазиологического равновесия, касающиеся всех фаз процесса свертывания крови, выявлены нами у рабочих вискозной промышленности. Следует остановиться и на роли фибриногена как показателя активации и систематизации воспалительных реакций, что является фактором риска развития как атеросклероза, так и связанных с ним сосудистых катастроф (инфаркта миокарда и ишемического инсульта).

В-третьих, во всех группах пациентов с атеросклерозом наблюдается повышение вязкости крови во всем диапазоне скоростей сдвига, которое статистически более значимо у жителей загрязненных радионуклидами территорий и рабочих вискозной промышленности по сравнению с ликвидаторами и персоналом отделений лучевой диагностики ЛПУ. Для выявления этих различий было предпринято изучение характеристической вязкости (значение вязкости при низких скоростях сдвига принимается за 1,0). Нами обнаружены следующие особенности: у ликвидаторов аварии на ЧАЭС выявлено самое высокое расположение реологического плато, что можно расценивать как повышение риска тромбогенной опасности, связанное с избыточным для каждого случая количеством эритроцитов, что, однако, компенсируется состоянием системы гемостаза.

Напротив, все остальные группы обследованных пациентов (медицинский персонал, работающий с источниками ионизирующей радиации, жители загрязненных радиацией территорий и рабочие вискозной промышленности) имеют низкое расположение реологического плато, что также связано с повышением риска тромбогенной опасности и отсутствием или истощением компенсаторных реакций со стороны системы гемостаза. Следует также обратить внимание на повышение индексов агрегации и деформируемости эритроцитов, что свидетельствует о затруднении прохождения их по микроциркуляторному руслу и развитие тенденции к сладжевым реакциям, что является подтверждением нарушения взаимодействия типа «эритроцит-эритроцит». Эта особенность,

на наш взгляд, характерна для всех групп пациентов с атеросклерозом, проживающих в неблагоприятных экологических условиях.

Также обращает на себя внимание выявленная тенденция к макроцитозу (увеличению среднего объема эритроцита), что косвенно свидетельствует об изменении регуляции эритропоэза со стороны цитокиновой сети. Эта тенденция наиболее выражена у жителей контаминированных территорий и рабочих вискозной промышленности.

Таким образом, проведенное исследование показало наличие приобретенных гемостазиопатий при атеросклеротическом поражении и, в то же время, четкое влияние экологических факторов на патогенез их формирования, в основе которого лежат, прежде всего, изменения (нарушение) характера «привычных» межклеточных взаимодействий [3, 20] следующих типов: «тромбоцит-тромбоцит», «тромбоцит-фактор Виллебранда», «эритроцит-эритроцит» с развитием системных воспалительных реакций. Следует обратить внимание на идентичность изменений состояния системы гемостаза и реологических свойств крови у пациентов, проживающих на контаминированных нуклидами территориях, медицинского персонала, подвергающегося длительному низкоуровневому радиационному воздействию, и стажированных рабочих вискозной промышленности. Эта идентичность чрезвычайно важна для понимания патогенеза атеросклероза у людей, проживающих в неблагоприятных экологических условиях и подвергающихся неблагоприятным воздействиям, потому что если проатерогенное действие такого химического агента, как сероуглерод, достаточно хорошо известно [3, 7, 8], то проатерогенное влияние длительного низкоуровневого радиационного воздействия до сих пор остается вне поля зрения исследователей. Однако в настоящем исследовании показана возможность ускоренного атерогенеза и изменение его патоморфоза и при длительном низкоуровневом радиационном воздействии.

#### **Результаты исследования концентрации растворимых форм МКА и состояния провоспалительной цитокиновой сети в условиях экообусловленного низкоуровневого радиационного воздействия**

Исходное содержание цитокинов в плазме крови пациентов с атеросклерозом, пострадавших от катастрофы на ЧАЭС, характеризуется повышением уровня основных провоспалительных цитокинов: ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6. При этом моделирование процесса тромбообразования и стеноза с использованием образцов крови обследованных пациентов в «нагрузочных» тестах показали развитие выраженной секреторной реакции, сопровождающейся резким достоверным ростом концентрации цитокинов (у ИЛ-1 $\alpha$  и ИЛ-8 не выявлены достоверные различия между обоими тестами). В то же время отмечается резкое и достоверное возрастание содержания остальных исследуемых цитокинов

(ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-10, ЕТ-1), но для них характерно значительно более высокое увеличение концентрации при моделировании стеноза (сдвиговая активация) по сравнению с процессом свертывания крови. Исходное содержание всех МКА оказалось чрезвычайно высоким по сравнению с контрольной группой пациентов. В реологическом же тесте при моделировании стеноза концентрация sP- и sE-селектинов после сдвиговой активации достоверно снижается, а после свертывания крови концентрация sP-селектина резко возрастает, что связано, на наш взгляд, с реализацией секреторного потенциала тромбоцитов. После свертывания крови достоверно увеличивается содержание sICAM-1, тогда как концентрация sVCAM-1 практически не изменяется, оставаясь стабильно высокой.

Высокое исходное содержание цитокинов и МКА у пациентов с атеросклеротическим поражением магистральных артерий свидетельствует о глубоких изменениях клеточной координации и коммуникации в системе «тромбоцит-лейкоцит-эндотелий» и является прямым подтверждением нарушения межклеточных взаимодействий, развития системных воспалительных реакций при атеросклерозе.

Различие между группами пациентов с ИБС и ИБМ заключается в том, что при преобладании в клинической картине ИБС обнаруживается достоверно более высокое содержание sP-селектина, тогда как при ИБМ эта тенденция выявлена для sICAM-1. Это можно объяснить, на наш взгляд, тем, что при ИБС наиболее выражена активация тромбоцитов, тогда как при ИБМ этот процесс происходит с нарушением меж- и внутриклеточной коммуникации, и иммунологические механизмы оказываются заинтересованными в большей степени.

Изучение изменения концентраций МКА при проведении экстремальных «нагрузочных» тестов, моделирующих осложненное течение атеросклероза, представляется нам весьма важным, поскольку позволяет выявить как сам характер межклеточных взаимодействий, так и возможные механизмы их нарушений.

На основании вышеизложенного уместна следующая гипотеза: растворимые формы МКА имеют не только шеддинг-природу, но и также, вероятно, секретируются форменными элементами крови и эндотелием, полностью сохраняя при этом свою функциональную активность.

Данная гипотеза нуждается в дополнительных доказательствах в силу того, что ни один из применяемых в сегодняшней клинической практике антитромботиков не влияет на селектин-зависимый роллинг клеток крови и адгезию. Этот этап исследования перспективен также в плане разработки новых фармакологических препаратов на основе антител к цитокинам и МКА либо с учетом молекулярной мимикрии и дизайна «малых» молекул.

Нами обнаружен ряд особенностей состояния МКА в группах ликвидаторов и постоянно проживающих на контаминированных радионуклидами тер-

территориях, характерных для обеих групп и отличающихся их от пациентов с ИБС и ИБМ, постоянно проживающих в г. Могилеве.

Во-первых, выявлен статистически значимый высокий исходный уровень содержания ET-1 у пациентов, пострадавших от аварии на Чернобыльской АЭС, что свидетельствует о более выраженной активации эндотелия. В этой ситуации следует ожидать и увеличения количества случаев ангиодистонических реакций, ускоренного атерогенеза и артериальной гипертензии. В частности, наши эпидемиологические данные подтверждают опережающий рост сердечно-сосудистой патологии у всех категорий населения, пострадавшего от аварии на Чернобыльской АЭС.

Во-вторых, дополнительным подтверждением активации эндотелия является достоверное изменение реакции со стороны sE-селектина, которое заключается в более выраженном снижении его концентрации при моделировании стеноза (высокие напряжения сдвига). В свете изложенной гипотезы вероятно наличие более высокой концентрации функционально активного sE-селектина по сравнению с контрольной группой пациентов с атеросклерозом. Активация эндотелия является весьма ощутимым фактором, нарушающим стабильность системы межклеточной координации.

В-третьих, выявляется изменение реакции на экстремальные воздействия со стороны ИЛ-6, заключающееся в том, что в группе пациентов, пострадавших от аварии на Чернобыльской АЭС, его концентрация в обоих «нагрузочных» тестах резко и достоверно возрастает в одинаковой степени, тогда как в контрольной группе при резком увеличении его содержания в обоих тестах наблюдается четкое преобладание роста при моделировании стеноза. Указанный феномен представляет определенный интерес. Как было указано выше, в основных группах пациентов выявлена отчетливая тенденция к макроцитозу. Одним из возможных механизмов этого феномена является изменение эритропоэза, регуляция которого, помимо эритропоэтина, осуществляется также и CSF-GM [20]. Последний наряду с ИЛ-6 является маркером активации хелперных реакций второго типа (Th2). Следовательно, указанное изменение может явиться маркером активации Th2 типа при низкоуровневом радиационном воздействии. Однако это положение нуждается в дополнительных фундаментальных исследованиях на уровне экспрессии mRNA соответствующих цитокинов.

Таким образом, проведенное исследование показало, что sE-селектин, ИЛ-6 и ET-1 являются возможными маркерами радиационного воздействия, а гематологические изменения и реакции ИЛ-6 могут указывать на активацию реакций со стороны Th2 в условиях радиоэкологического неблагополучия. Насколько эти реакции специфичны, к сожалению, в настоящее время судить не представляется возможным ввиду отсутствия данных по другим токсикантам.

#### Изучение состояния внутриклеточной коммуникации (эпигенома иммунокомпетентных клеток) крови методом МДМ и его реакций при моделировании тромбоза и стеноза в различных экологических условиях, а также на проатерогенные факторы роста PDGF-AB и TGF-1 $\beta$ в условиях низкоуровневого радиационного воздействия

Проведенный сравнительный анализ не выявил статистически значимых различий между основными группами пациентов с атеросклеротическим поражением (контингенты, пострадавшие от аварии на Чернобыльской АЭС, медперсонал отделений лучевой диагностики и рабочие вискозной промышленности). Однако в целом, обнаружено снижение дисперсности (количества гранул) эу- и гетерохроматина с его перигранулярной зоной. Непосредственными маркерами атеросклеротического процесса являются перестройки перигранулярной зоны, которая, по нашему мнению, отражает состояние «переходного» хроматина. Эти реакции более выражены при ИБМ во всех группах, что подтверждает повышение концентрации ICAM-1 при этой патологии и отличает от преобладания ИБС. При оценке информативности МДМ-параметров при проведении «нагрузочных» тестов наиболее информативными оказались: площадь, доля и интегральная оптическая плотность гетерохроматина; оптическая плотность и изрезанность перигранулярной зоны.

Анализ результатов проведения «нагрузочных» проб и, в частности, реологического стресса показал следующие особенности:

- в группе ликвидаторов и рабочих вискозной промышленности обнаружено увеличение доли гетерохроматина и перигранулярной зоны, причем выявленные изменения имеют идентичный характер: увеличивается площадь компонента, размер гранул, повышаются интегральная оптическая плотность и контрастность. Изрезанность гетерохроматина снижается, тогда как перигранулярной зоны — возрастает, что свидетельствует в пользу определенной активации биохимических процессов;

- в группе медперсонала, профессионально подвергающегося воздействию ионизирующей радиации, происходит снижение доли перигранулярного компонента при снижении оптической плотности и отсутствии изменений других МДМ-параметров хроматина лимфоцитов;

- в группе пациентов, проживающих на пострадавших от аварии территориях, как и в контрольной группе, изменений МДМ-параметров в этом тесте не выявлено.

Следовательно, проведение данного теста выявило односторонний характер изменений МДМ-параметров клеток в группах ликвидаторов, «профессионалов» и рабочих вискозной промышленности, которые менее выражены при профессиональном радиационном воздействии и отсутствуют у жителей конта-

минированных территорий. Этот характер изменений касается перигранулярной зоны, отражающей уровень активности «переходного» хроматина и свидетельствует как о нарушении внутриклеточной коммуникации, так и о повышении функциональной готовности иммунокомпетентных клеток крови, которая, как уже было показано выше, немедленно реализуется путем секреции серии провоспалительных цитокинов и, возможно, рецепторным взаимодействием с МКА.

При проведении теста с моделированием тромбоза изменяются МДМ-параметры ядер в целом: достоверно уменьшается размеры ядер клеток, они светлеют, повышается контрастность, возрастает также отношение содержания гетерохроматина к эухроматину. Гетерохроматин характеризуется увеличением своей доли в ядре, контрастности и размера гранул, а также снижением изрезанности. При этом перигранулярная зона и эухроматин также претерпевают серьезные перестройки: уменьшается их площадь при увеличении оптической плотности и контрастности. Указанные изменения можно расценивать как тенденцию иммунокомпетентных клеток крови к функциональному угнетению, что, вероятно, связано с полной реализацией функции их цитокиновой программы. Возможно, эти изменения являются также и результатом запуска проапоптотической программы, однако это предположение требует подтверждения с помощью специального тестирования в тестах с классическими индукторами апоптоза.

Следует обратить внимание на выявленные нами следующие особенности состояния внутриклеточной коммуникации:

— указанный характер изменений в одинаковой степени выражен в группах ликвидаторов, «профессионалов» и рабочих вискозной промышленности;

— кроме того, в группах пациентов, постоянно проживающих на загрязненных территориях, и рабочих вискозной промышленности, наблюдается более выраженная реакция (увеличение оптической плотности и контрастности гетерохроматина и перигранулярной зоны) со стороны оптических параметров ядра. Указанные изменения имеют однонаправленный характер.

Итак, результаты исследования состояния внутриклеточной коммуникации в целом указывают, что моделирование процесса тромбообразования является мощным триггером изменения этого процесса, что находит отражение в резком снижении биохимических процессов в ядрах («стремление к покою» либо проапоптотические изменения), связанных с полным завершением функциональной программы клетки.

Изучение влияния экзогенно вводимого TGF-1 $\beta$  на состояние интерфазного хроматина (ИХ) показало следующие особенности. Изменения МДМ-параметров ИХ при конечных концентрациях 0,05 нг/мл и 0,5 нг/мл характеризуются как бы нивелированием исходно измененных параметров, особенно касающихся зоны «переходного» хроматина. Однако эти

активационные изменения носят кратковременный характер. Данные тенденции кардинально отличают пациентов с атеросклерозом от группы добровольцев без патологии, где отмечается «ареактивность» клеток даже при минимальной концентрации указанного цитокина, что свидетельствует о запредельном торможении ИХ. При более высокой концентрации TGF обнаруживаются различия между основной и контрольной группами пациентов, которые также четко связаны с преобладанием в клинической картине ИБС либо ИБМ.

Так, при преобладании ИБС направленность реакций ИХ имеет тенденцию к снижению синтетических процессов в ядре за счет увеличения вклада гетерохроматина и снижения активности его перигранулярного компонента, что напоминает изменения, происходящие в контрольной группе. При преобладании цереброваскулярной патологии, как и при низкоуровневом радиационном воздействии, наблюдается прямо противоположная реакция: определенная активация синтетических процессов с активацией в основном перигранулярной зоны. Указанные различия свидетельствуют в пользу того, что в основной группе пациентов, пострадавших от ядерной аварии, атеросклеротическое поражение артерий сопровождается более частым вовлечением артерий головного мозга, развитием цереброваскулярной патологии и ИБМ. Это представляет значительный практический интерес, так как предполагает рост цереброваскулярной патологии при экообусловленном низкоуровневом радиационном воздействии, равно как и, возможно, более раннее и тяжелое течение атеросклеротического процесса.

Анализ влияния экзогенно вводимого PDGF-AB на характер внутриклеточной коммуникации у пациентов с атеросклерозом всех групп наблюдения по сравнению с группой здоровых добровольцев позволил выявить следующее. Введение цитокина в конечной концентрации 0,5 нг/мл не вызвало реакции со стороны иммунокомпетентных клеток, тогда как в контрольной группе наблюдалось определенное усиление биохимических процессов в ядре. Влияние PDGF в концентрации 5,0 нг/мл четко зависело от экспозиции: при кратковременной инкубации отмечалось некоторое усиление активности ИХ, которая к 6-му часу инкубации возвращалась к исходному уровню. Напротив, в контрольной группе уже при кратковременной инкубации с минимальной концентрацией PDGF выявлена мощная реакция ИХ, связанная с активацией внутриклеточной коммуникации и перестройкой ИХ и ядра в целом. Продолжение инкубации приводит к диаметрально противоположным изменениям: увеличение соотношения содержания гетеро- и эухроматина, внутриядерные перестройки и изменения ядра в целом, что можно рассматривать как изменения, возникающие при моделировании экстремальных ситуаций (свертывание крови), при глубоком функциональном угнетении («стремление к покою» либо проапоптоз). При исследовании

довании влияния TGF мы не наблюдали подобного бифазного характера изменений. Возможно, подобный характер изменений ИХ является особенностью действия этого цитокина.

Внимание привлекает и тот факт, что при свертывании крови этот цитокин непременно высвобождается тромбоцитами при их секреции. Не исключено, что он может играть важную роль в том функциональном торможении клеток, которое мы наблюдали после 6 часов инкубации сгустка крови, более отчетливо выраженном в группах ликвидаторов и «профессионалов». При этом влияние PDGF всегда имеет патологический характер, причем при атеросклерозе чувствительность к этому цитокину ниже, чем у здоровых людей: классическая бифазная реакция ИХ наблюдается лишь при более высоких концентрациях и при более поздних периодах наблюдения. Следует отметить и тот факт, что, в отличие от TGF, более низкая чувствительность к PDGF отмечается у пациентов с ИБС, чем у пациентов с ИБМ. Возможно, это связано с тем, что основным источником этого цитокина при коронарном атеросклерозе, отличающемся сепарацией кровотока, более значительным напряжением сдвига и гемодинамики, являются необратимо активированные тромбоциты.

#### **Меж- и внутриклеточные взаимодействия и атерогенез в условиях длительных токсических воздействий низкой интенсивности: состояние проблемы**

Результаты настоящего исследования в целом подтвердили роль нарушения меж- и внутриклеточных взаимодействий в патогенезе атеросклероза, которая, благодаря развитию новых технологий в области иммунологии и молекулярной биологии, становится все более очевидной. Исследование цитокинов, реакций МКА и ИХ в ответ на вводимые проатерогенные факторы роста позволяет утверждать, что существующие гипотезы патогенеза атеросклероза описывают только те или иные пристрастия авторов, на самом деле реально отражая лишь отдельные звенья патогенеза атеросклероза. В частности, липидная гипотеза патогенеза атеросклероза в последнее время подверглась существенной модификации благодаря уточнению роли oxLDL, в образовании которых важнейшая роль отводится оксидативному стрессу. Как было указано нами, активация НГК и мононуклеаров является мощным источником свободных радикалов, так что и здесь нельзя исключить роль форменных элементов крови в реализации оксидативного метаболизма.

В нашем исследовании практически полностью подтвердилась гипотеза Р.Росса «ответ на повреждение» благодаря изучению состояния провоспалительной цитокиновой сети, содержания растворимых МКА и состояния ИХ иммунокомпетентных клеток. Более того, выявлены, во-первых, высокая функциональная готовность клеток к реализации своей провоспалительной программы и, во-вторых, функцио-

нальная активность растворимых МКА. Предположение о селективном механизме активации (синхронная активация ИХ клеток и снижение содержания селективных в экстремальных условиях при «нагрузочных» тестах) может лечь в основу и модификации гипотезы Р.Росса «ответ на повреждение» как «гиперответ на повреждение», «ответ на длительное повреждение» или «длительное повреждение и репарация». Что касается гипотезы «псевдотуморозного роста», мы не располагаем результатами прямых исследований моноклонального характера пролиферации субинтимальных гладкомышечных элементов, однако нами получены прямые доказательства влияния проатерогенных факторов роста на состояние ИХ. Изменение последнего характеризует именно включение иммунных механизмов атерогенеза, связанных с активацией либо с угнетением внутриклеточной коммуникации, охватывающей состояние эпигенома в целом. Изменение характера клеточных иммунных реакций, вероятно, и позволяет реализовать запуск механизма бесконтрольной пролиферации гладкомышечных элементов сосудистой стенки.

Следовательно, с точки зрения нарушения нормальных («привычных») межклеточных взаимодействий реально указанные гипотезы отражают лишь отдельные звенья патогенеза атеросклероза, причем не учитывают значения ряда биофизических констант, без которых межклеточные и внутриклеточные координационные процессы просто не могут быть реализованы, так как все события происходят непосредственно в кровотоке. Изменения в последнем, как показали результаты «нагрузочного» теста с высокой скоростью сдвига, неизбежно влекут за собой и изменения координационных механизмов. Вероятно, именно с этим связано развитие атеросклероза в местах изгибов и бифуркаций сосудистого ложа, т. е. там, где сепарация кровотока наиболее выражена.

Остановимся также и на проблеме токсических воздействий низкой интенсивности и атерогенезе. По поводу сравнительного анализа состояния системы гемостаза, реологических свойств крови и функционального состояния форменных элементов можно сказать следующее: при длительном низкоуровневом радиационном воздействии (экологическом и профессиональном) как примере влияния физического фактора, а также при длительном влиянии сероуглерода как известного проатерогенного химического агента можно утверждать, что изменения этих систем идентичны. С точки зрения оценки межклеточных взаимодействий изменяется сам характер клеточной и внутриклеточной координационной коммуникации таким образом, что оба агента обладают реальными проатерогенными свойствами, хотя при воздействии сероуглерода в большей степени страдает липидный обмен, а при воздействии ионизирующей радиации в малых дозах более вероятен оксидативный стресс. Однако с учетом изложенных выше положений можно говорить о преобладании того или ино-

го звена атерогенеза, но с обязательным запуском основных патогенетических механизмов, связанных с неспецифической реакцией со стороны «привычных» межклеточных взаимодействий. Потеря специфичности реакций в данном случае определяется двумя факторами: во-первых, низкой интенсивностью или мощностью фактора и, во-вторых, длительностью экспозиции. В итоге защитные системы (в случае атеросклероза это антиоксидантные ресурсы, антиатерогенные фракции липидов, гемопоз, форменные элементы крови, состояние цитокиновой сети, иммунный надзор, неспецифическая резистентность и т. д.) либо не реагируют на субпороговое воздействие, либо, с учетом длительности экспозиции, истощаются, что в результате и приводит к замыканию патологических кругов.

### ВЫВОДЫ

Таким образом, можно сформулировать следующую гипотезу, основанную на исследовании механизмов атерогенеза при токсических воздействиях низкой интенсивности: чем ниже уровень токсических воздействий физической или химической природы и больше его продолжительность, тем менее специфичный и более системный характер носят ответные реакции организма, реализующиеся посредством закрепления перехода внутри- и межклеточных координационных взаимодействий на новый, патологический уровень функционирования.

В результате подобного развития событий следует ожидать роста заболеваемости и смертности от сердечно-сосудистой и цереброваскулярной патологии, связанной с атеросклерозом.

Переход координационных механизмов на новый уровень функционирования при напряжении и истощении механизмов саногенеза тесно связан с проблемой генетически программируемой клеточной гибели (это проблемы истощения пула паренхиматозных клеток, нарастания генетической нестабильности и преждевременного старения).

Именно отсутствие специфических черт тех или иных изменений, зафиксированных при обследовании различных категорий населения, пострадавшего от катастрофы на Чернобыльской АЭС, позволяет, на наш взгляд, трактовать эти изменения как патологию психосоматического круга в ответ на психологический стресс, усугубляемый сложившимися социально-экономическими условиями.

Еще одной проблемой представляется то обстоятельство, что в большинстве случаев эффекты низкоуровневого радиационного воздействия оценивались путем экстраполяции данных исследований, полученных при анализе результатов облучения с достаточно высокой мощностью дозы. Второй аспект про-

блемы касается и правомочности экстраполяции результатов исследований, проведенных на лабораторных животных.

Принято считать, что эффекты радиационного воздействия делятся на «стохастические» и «детерминистские», однако попытка экстраполяции этих понятий на результаты настоящей работы оказалась безуспешной, причем это связано не только с отсутствием точных оценок как общей эффективной эквивалентной, так и индивидуальной дозы облучения.

Во-первых, в условиях уже инициированного атеросклеротического процесса воздействие экзоагента низкой интенсивности, в том числе ионизирующей радиации, представляется непредсказуемым. В частности, к стохастическим эффектам в данной ситуации должны быть отнесены гибель отдельной клетки или клеточной популяции независимо от пути ее реализации (некроз или апоптоз), поскольку сохраняется закон причинности: «все или ничего».

В то же время усугубление патологического процесса, обусловленное токсическим воздействием, может привести к стойкому нарушению функции органа (ИБС, ИБМ), что является нестохастическим эффектом в широком смысле слова, либо к фатальному атеротромбозу, когда эффект становится стохастическим.

Следовательно, понятия «стохастический» и «детерминистский» применимы скорее для нормативных документов, регламентирующих дозовые нагрузки. Введение этих понятий мало применимо для проведения научных исследований: чем более глубок уровень исследования, тем в большей степени изучаемые уровни организации становятся «малыми стохастическими» и «гипер- или квазидетерминистскими», и различия между ними практически нивелируются.

Таким образом, проведенное исследование показало, что полученные результаты изучения основных механизмов патогенеза атеросклероза в неблагоприятных макро- и микробиологических (рабочее место) условиях при токсических воздействиях низкой интенсивности физической (на примере низкоуровневого радиационного воздействия) и химической природы (на примере длительного воздействия сероуглерода) указывают на возможность более раннего развития и осложненного течения этого процесса. В основе указанного прогноза лежит изучение характера изменения меж- и внутриклеточных взаимодействий, условий реализации патологического процесса в виде стойкого перехода координационных механизмов на новый патологический уровень функционирования с истощением механизмов саногенеза, обеднением пула паренхиматозных клеток, созданием условий для реализации пролиферативного потенциала гладкомышечных элементов, апоптозу иммунокомпетентных клеток крови, генетической нестабильности и преждевременному старению.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Барабой В.А.* Радиобиология и уроки Чернобыля // Радиобиология.— 1990.— Т. 30, № 4.— С. 435–440.
2. *Москалев Ю.И.* Отдаленные последствия воздействия ионизирующих излучений.— М.: Медицина, 1991.— 464 с.
3. *Профессиональные заболевания: Руководство для врачей: В 2 тт.*
4. *Семенюк Я.П.* Реакция организма на длительное воздействие профессиональных вредностей малой интенсивности // Воен.-мед. журн.— 1995.— № 9.— С. 61–63.
5. *Суринов Б.П., Исаева В.Г., Карпова Н.А.* Контактная передача пострadiационного иммунодефицитного состояния // Иммунология.— 1997.— № 6.— С. 18–21.
6. *Эйдус Л.Х.* Мембранный механизм биологического действия малых доз. Новый взгляд на проблему / Ин-т теоретич. и экперим. биоф. РАН.— М., 2001.— 81 с.
7. *Room W.* Environmental and Occupational Medicine.— 2<sup>nd</sup> ed.— Boston, Toronto, London: Little and Brown & Co. Ltd., 1992.— 1493 p.
8. *Aaserud O., Gjerstad L., Nakstad P., et al.* Neurological examination, computerized tomography, cerebral blood flow and neuropsychological examination in workers with long-term exposure to carbon disulfide // Toxicology.— 1988.— Vol. 49.— P. 277–282.
9. *Гусев Е.И.* Ишемическая болезнь головного мозга // Вестн. РАМН.— 1993.— № 7.— С. 34–39.
10. *Кухтевич И.И., Лопатухин В.Г., Золкорняев И.Г. и др.* Факторы риска ишемической болезни головного мозга // Ишемия мозга: Мат. IV Международного симпозиума.— СПб., 1998.— С. 57–58.
11. *Кручинский Н.Г.* Механизмы формирования гемостазиопатий в условиях низкоуровневого радиационного воздействия после катастрофы на Чернобыльской АЭС // Тромбоз, гемостаз и реология.— 2002.— № 4.— С. 8–17.
12. *Тепляков А.И., Кручинский Н.Г., Прищепова Е.В. и др.* Роль молекул клеточных адгезивных и цитокинов в регуляции межклеточных взаимодействий при атеросклерозе // Ангиология и сосудистая хирургия.— 1999.— Т. 5, № 3.— С. 11–15.
13. *Тепляков А.И., Прысчепова Е.В., Кручинский Н.Г., Чежерова Т.И.* Cytokines and soluble cell adhesion molecules: possible markers of inflammatory response in atherosclerosis // Ann. N.-Y. Acad. Sci.— 2000.— Vol. 902.— P. 320–322.
14. *Кручинский Н.Г., Тепляков А.И.* Функциональное состояние тромбоцитов и молекулы клеточной адгезии: новые маркеры при коронарном и церебральном атеросклерозе // Проблемы и перспективы использования методов тромбоцитарной агрегатометрии в клинической практике: Мат. науч.-практ. конференции.— Минск, 2000.— С. 11–13.
15. *Кручинский Н.Г., Тепляков А.И.* Модификация воспалительных реакций: роль гемостазиологического дисбаланса в патогенезе атеросклероза в условиях длительного экологического и профессионального низкоуровневого радиационного воздействия // Фундаментальные и прикладные исследования в медицине: перспективы развития в Республике Беларусь: Сб. науч. работ / Под ред. С.Л.Кабака.— Минск: БГМУ, 2001.— С. 10–23.
16. *Мосягина Е.Н., Владимирская Е.В., Торубарова Н.А. и др.* Кинетика форменных элементов крови.— М.: Медицина, 1976.— 272 с.
17. *Пальцев М.А., Иванов А.А.* Межклеточные взаимодействия.— М.: Медицина, 1995.— 224 с.
18. *Теплякова Д.В., Тепляков А.И., Кручинский Н.Г., Остапенко В.А.* Ишемическая болезнь мозга в условиях низкоуровневого радиационного воздействия: некоторые гематологические аспекты. Сообщение 1. Особенности состояния системы гемостаза // Эфферентная терапия.— 1999.— Т. 5, № 3.— С. 58–62.
19. *Теплякова Д.В., Тепляков А.И., Остапенко В.А.* Ишемическая болезнь мозга в условиях низкоуровневого радиационного воздействия: некоторые гематологические аспекты. Сообщение 2. Особенности состояния эритронов и реологических свойств крови // Эфферентная терапия.— 2000.— Т. 6, № 1.— С. 32–35.
20. *Пальцев М.А.* Цитокины и их роль в межклеточных взаимодействиях // Арх. патол.— 1996.— Т. 58, № 6.— С. 3–7.

Поступила в редакцию 14.04.2003 г.  
Рецензент В.М.Виноградов.