

В. О. Сушко, Л. І. Швайко, І. В. Абраменко, А. С. Рязьська, О. М. Стаднійчук ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИННОГО СКЛАДУ БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОГО ЛАВАЖУ В УМОВАХ ВПЛИВУ НИЗЬКИХ ДОЗ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ

ДУ "Науковий центр радіаційної медицини АМН України"

Вивчення наслідків впливу іонізуючого випромінювання на бронхолегеневу систему, в тому числі за рахунок інгаляції радіонуклідів, є одним із пріоритетних напрямків сучасної клінічної радіобіології.

Аналіз захворюваності постраждалих у результаті аварії на Чорнобильській АЕС виявив, що захворювання бронхолегеневої системи у вигляді хронічних неспецифічних захворювань легень займають одне з провідних місць у структурі патології учасників ліквідації наслідків аварії (ЛНА), евакуйованих осіб та жителів контамінованих радіонуклідами територій України. Так, відповідно до даних Міністерства охорони здоров'я України, захворюваність дорослих і підлітків, які постраждали внаслідок аварії на ЧАЕС, на хвороби органів дихання зросла у 6,5 разів у порівнянні з 1987 р. і складає третину питомої ваги всіх захворювань даного контингенту осіб [5]. Дослідженнями українських та російських вчених показані клінічні та радіобіологічні ефекти інгаляційної дії радіонуклідів при вдиханні радіоактивної осколочної суміші [2, 4], знайдений ряд клінічних, патогенетичних і структурних особливостей захворювань. Це стимулювало вивчення стану дихальної системи в осіб, які працюють у зоні радіоактивного забруднення і складають групу ризику розвитку стохастичних та нестохастичних ефектів іонізуючого випромінювання (ІВ), у тому числі за рахунок інгаляції радіонуклідів.

Натепер до такої критичної групи належать особи, які беруть участь у роботах із перетворення Об'єкту "Укриття" ДСП ЧАЕС (ОУ) на екологічно безпечну систему. Слід зазначити, що до основних факторів, які можуть впливати на стан бронхолегеневої системи зазначеного контингенту осіб, слід віднести наявність відкритих джерел випромінювання, непередбачуваність радіаційної обстановки, радіоактивне забруднення повітря полідисперсними аерозолями, що містять продукти ділення урану в радіоактивні елементи трансуранового ряду, високий вміст паливного пилу у приміщеннях і конструкціях ОУ.

Основним морфологічним субстратом хронічних неспецифічних захворювань легень є персистуюче запалення дихальних шляхів [3]. Одним із найбільш інформативних методів аналізу його цитологічних особливостей є дослідження рідини бронхоальвеолярного лаважу (БАЛ), отриманого під час фібробронхоскопії [1]. Метод дозволяє охарактеризувати основні типи клітин, які беруть участь у реалізації запального процесу, їх співвідношення, морфологічні особливості [6].

Метою дослідження була оцінка цитологічних особливостей БАЛ у групі осіб, які брали участь у роботах із перетворення ОУ на екологічно безпечну систему з урахуванням наявності захворювань бронхолегеневої системи і попереднього радіаційного анамнезу.

Матеріали і методи

Дослідження клітинного складу БАЛ проведено 218 особам чоловічої статі, які знаходились на обстеженні у ДУ "НЦРМ АМН України" після участі у виконанні робіт на ОУ в 2004-2007 рр. За результатами радіаційного контролю усі обстежені особи були розподілені на 2 основні групи. Група I включала 155 осіб, для яких визначена індивідуальна доза опромінення не перевищувала 10 мЗв (середня $(5,34 \pm 0,21)$ мЗв). До групи II увійшли 63 особи із дозою опромінення більше 10 мЗв (середня $(14,26 \pm 0,62)$ мЗв). Різниця у дозах опромінення між групами була високо вірогідною ($p < 0,00001$). Крім того, з урахуванням попереднього радіаційного анамнезу, було виділено 4 підгрупи (A-D) (табл. 1).

Доза іонізуючого опромінення за період участі у ліквідації наслідків Чорнобильської катастрофи була встановлена 22 її учасникам, рівень опромінення знаходився у межах від 0,96 до 14,8 мЗв. 23 обстежених постійно проживали у населених пунктах, віднесених до 3 зони радіаційного контролю, 57 осіб були жителями 4 зони радіаційного контролю.

Діагноз хронічного необструктивного бронхіту (ХНБ) було встановлено 178 пацієнтам, хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) було виявлено у 14 хворих, бронхолегеневої патології не виявлено у 26 обстежених.

БАЛ отримували за стандартною методикою. Бронхоскопія проводилась за допомогою фібробронхоскопу (Olympus BF 40, Японія) під місцевою анестезією розчином лідокаїну. Проводилась інстиляція п'яти порцій по 20 мл стерильного фізіологічного розчину підігрітого до температури 37°C, як правило, у один із базальних сегментів правої генерації бронхіального дерева. Отриману рідину центрифугували, готували мазки, фарбували за Паппенгеймом і проводили підрахунок клітинних елементів за допомогою світлооптичного мікроскопу (Opton, Німеччина).

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням загальноприйнятих параметричних та непараметричних критеріїв у програмі SPSS 11.0 (США).

Результати досліджень

Групи обстежених осіб були співставні за віком (середній вік у I групі $(40,34 \pm 0,72)$ років; 2 групі — $(39,69 \pm 1,12)$ років; $p = 0,63$), попереднім радіаційним анамнезом ($\chi^2 = 5,09$, $p = 0,16$); за фактором куріння (75,2 % курящих, без вірогідної різниці між групами: $\chi^2 = 0,81$, $p = 0,36$; середній термін куріння $(14,81 \pm 0,67)$ років), пульмонологічним анамнезом (33,9 % перенесли пневмонію, гострий бронхіт; різниця між групами була невірогідною: $\chi^2 = 0,01$, $p = 0,91$), алергологічним анамнезом (у 1,3 % обстежених відмічались алергічні реакції у вигляді кропивниці на цвітіння рослин, медикаменти, деякі продукти харчування; різниця між групами невірогідна: $\chi^2 = 1,23$, $p = 0,26$). У структурі бронхолегеневих захворювань були виявлені деякі розбіжності: у I групі частота ХНБ (85,8 %) була вищою, ніж у II групі (71,4 %), та, навпаки, частота ХОЗЛ була вищою у II групі (12,69 % —

у II групі проти 3,87 % в I групі, $p = 0,02$). У осіб із ХНБ та ХОЗЛ дослідження проводилось у період ремісії захворювання.

У отриманих мазках із рідини БАЛ були виявлені наступні типи клітин: альвеолярні макрофаги (у середньому у всіх обстежених $(80,86 \pm 1,31) \%$, нейтрофіли $(9,88 \pm$

Таблиця 1

Розподіл обстежених осіб залежно від радіаційного анамнезу, кількість осіб

Попередній радіаційний анамнез	Група I	Група II
Підгрупа А — особи, які раніше не мали контакту з впливом іонізуючого випромінювання (ІВ)	81	36
Підгрупа В — жителі територій, контамінованих радіонуклідами	43	22
Підгрупа С — учасники ЛНА на ЧАЕС 1986–1987 гг	10	1
Підгрупа D — учасники ЛНА на ЧАЕС 1986–1987 гг, які продовжують проживати на територіях, забруднених радіонуклідами	21	4
Всього	155	63

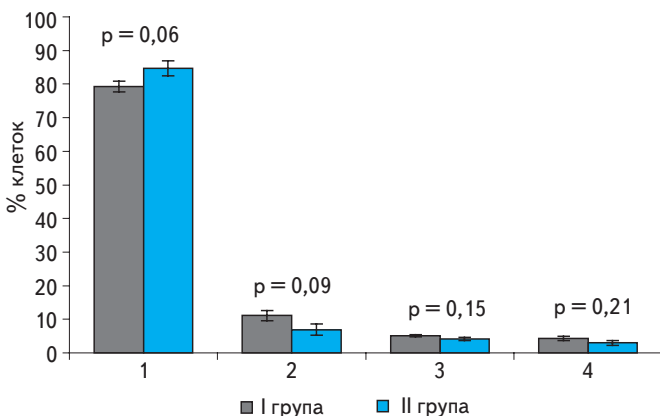


Рис. 1. Вміст окремих клітинних популяцій (1 — макрофаги, 2 — нейтрофіли; 3 — лімфоцити; 4 — циліндричний епітелій) в обстежених пацієнтів I і II груп

$\pm 1,16) \%$, лімфоцити $(4,84 \pm 0,31) \%$, циліндричний епітелій $(3,92 \pm 0,46) \%$, дуже зрідка — еозинофіли, плоский епітелій, еритроцити. Клітини із цитологічними ознаками атипії не були виявлені у жодному з випадків. Крім клітинних елементів, зустрічались волокна, мікроорганізми. Вміст зазначених клітинних популяцій значно відрізнявся. За перевагою того або іншого типу клітин спостерігались три типи БАЛ: з переважанням (65–97 %) макрофагів (БАЛ I типу; 187 осіб, 85,8 %), із значним (більше 30 %) вмістом нейтрофілів (БАЛ II типу; 21 особа, 9,6 %), із підвищеним вмістом (більше 20 %) циліндричного епітелію (БАЛ III типу; 10 осіб, 4,6 %). БАЛ із перевагою лімфоцитів або еозинофілів не виявлено.

Співвідношення окремих клітинних популяцій у мазках із БАЛ у осіб I та II груп вірогідно не відрізнялось, за виключенням тенденції до більш високого вмісту макрофагів і зниження кількості нейтрофілів в осіб II групи (рис. 1). Виявлена пряма кореляційна залежність між вмістом макрофагів ($r = 0,1918$; $p = 0,004$) та зворотні між кількістю нейтрофілів ($r = -0,1332$; $p = 0,050$), циліндричного епітелію ($r = -0,1642$; $p = 0,015$) та отриманою дозою опромінення. Присутність макрофагів у мазках негативно корелювала із кількістю нейтрофілів ($r = -0,8596$; $p = 0,0001$), лімфоцитів ($r = -0,3533$; $p = 0,0001$) і циліндричного епітелію ($r = -0,2367$; $p = 0,0001$) (рис. 2).

Відповідно, у пацієнтів II групи дещо частіше у рідині БАЛ відмічалась перевага альвеолярних макрофагів (92,0 % порівняно із 83,2 % у I групі) і рідше — БАЛ нейтрофільного типу (3,17 % і 12,25 %; $p < 0,05$). Частота БАЛ із перевагою циліндричного епітелію була однаковою (4,76 % і 4,51 %, $p > 0,05$).

На вміст макрофагів не впливали такі параметри, як наявність бронхолегеневої патології (частота БАЛ із перевагою альвеолярних макрофагів була близькою у хворих на ХОЗЛ — 85,71 %, ХНБ — 84,83 % та за відсутності бронхолегеневої патології — 92,3 %, $p > 0,05$), куріння (частота БАЛ із перевагою макрофагів 87,19 % у курящих і 81,49 % у некурящих, $p > 0,05$), пульмонологічний анамнез (частота БАЛ з перевагою макрофагів 81,01 % в осіб із обтяженим і 88,19 % із необтяженим анамнезом, $p > 0,05$). Частота виявлення БАЛ I типу була однаковою в осіб, які раніше не зазнавали впливу ІВ (88,8 %), та жителів контамінованих територій (89,23 %, $p > 0,05$).

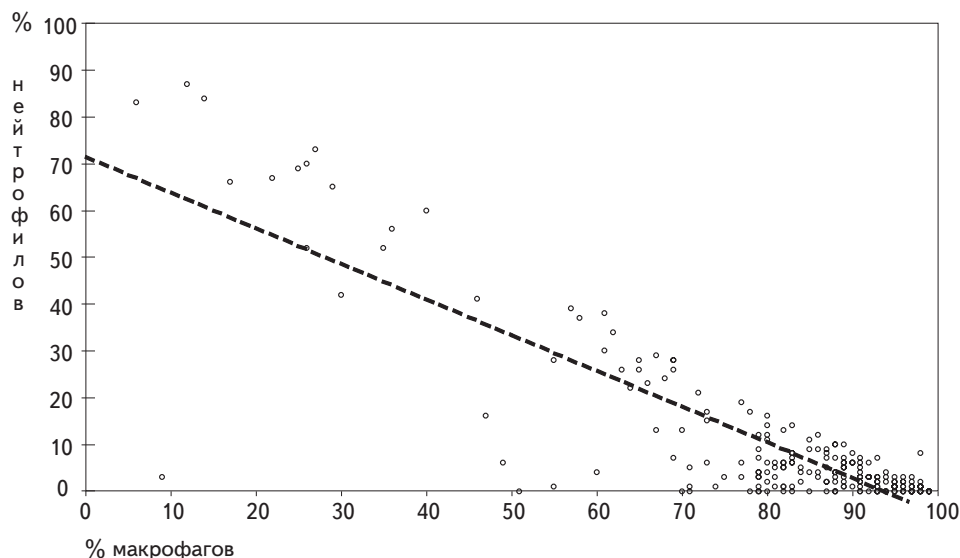


Рис. 2. Залежність між вмістом макрофагів і нейтрофілів у рідині бронхоальвеолярного лаважу

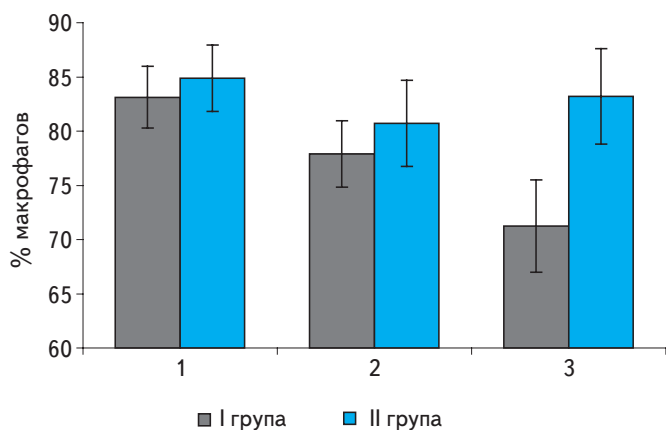


Рис. 3. Вміст макрофагів у мазках із рідини бронхоальвеолярного лаважу в обстежених осіб 1 і 2 групи залежно від радіаційного анамнезу: 1 — раніше не зазнавали впливу ІВ; 2 — жителі території, контамінованих радіонуклідами; 3 — учасники ЛНА на ЧАЕС

$p > 0,05$). Серед учасників ЛНА на ЧАЕС частота БАЛ із перевагою макрофагів була більш низькою (69,44 %, $p = 0,01$). Слід також зазначити, що кількість макрофагів відносно інших клітин БАЛ знижувалась в обстежених осіб із посиленням радіаційного анамнезу: підгрупа А — (83,66 ± 1,61) %; підгрупа В — (80,21 ± 2,44) %; підгрупа С — (79,36 ± 4,77) %; підгрупа D — (70,08 ± 4,95) % ($p = 0,015$). Проте, фактор радіаційного анамнезу не впливав на підвищення кількості макрофагів у II групі: аналіз клітинного вмісту БАЛ з урахуванням радіаційного анамнезу продемонстрував, що вміст макрофагів у осіб 2 групи був вищим в усіх підгрупах (за виключенням осіб, які раніше не зазнавали впливу ІВ), у порівнянні із пацієнтами I групи (рис. 3).

Проводилась також якісна оцінка окремих клітин. Приблизно у половині випадків визначались включення (при розрахунку на всі клітини мазка: у (19,96 ± 1,57) % — інтенсивні; в (29,35 ± 1,31) % — невиразні), решта макрофагів цитоплазматичних включень не мали ((31,46 ± 1,48) % при розрахунку на всі клітини мазку). В осіб II групи, порівняно із I групою, вміст інтенсивно забарвлених макрофагів був суттєво вищим і, відповідно, визначалась менша кількість макрофагів без цитоплазматичних включень (табл. 2). Виявлена також кореляційна залежність між вмістом у бронхоальвеолярному лаважі макрофагів з інтенсивними включеннями і значенням отриманої дози опромінення ($r = 0,2823$; $p = 0,0001$). Другим фактором, який впливав на інтенсивність забарвлення макрофагів, було куріння (табл.3). При аналізі лише осіб, які курять та не курять, ці показники вірогідно відрізнялись залежно від належності обстежених до I або II групи, за виключенням вмісту макрофагів у некурящих (рис. 4). Інші фактори (радіаційний анамнез, наявність бронхолегеневої патології) суттєво не впливали на інтенсивність забарвлення макрофагів.

БАЛ із перевагою нейтрофільних лейкоцитів було виявлено у 21 обстеженого (9,63 %). Вміст нейтрофілів у них перебував від 32 % до 96 % і у середньому склав (54,21 ± 3,59) %. Як було зазначено раніше, серед пацієнтів II групи БАЛ нейтрофільного типу зустрічався рідше (3,17 %), ніж у II групі (12,25 %, $\chi^2 = 4,24$; $p < 0,05$). Відповідно, вміст нейтрофілів у мазках осіб із дозою опро-

Таблиця 2
Цитологічна характеристика макрофагів бронхоальвеолярного лаважу в осіб I та II груп

Параметр	Група 1, n = 155	Група 2, n = 63	Вірогідність розбіжностей
Макрофаги з виразними гранулами, %	16,54 ± 1,80	28,38 ± 2,92	0,0006
Макрофаги з невиразними гранулами, %	28,81 ± 1,66	30,66 ± 1,98	0,5243
Макрофаги без включень, %	33,72 ± 1,73	25,88 ± 2,77	0,0167

Таблиця 3
Цитологічна характеристика макрофагів бронхоальвеолярного лаважу в осіб, які курять та не курять

Параметр	Особі, які курять, n = 164	Особі, які не курять, n = 54	Вірогідність розбіжностей
Макрофаги з виразними гранулами, %	24,02 ± 1,84	7,64 ± 2,32	0,00001
Макрофаги з невиразними гранулами, %	27,48 ± 1,71	29,96 ± 2,51	0,4139
Макрофаги без включень, %	24,00 ± 1,57	41,98 ± 2,74	0,00001

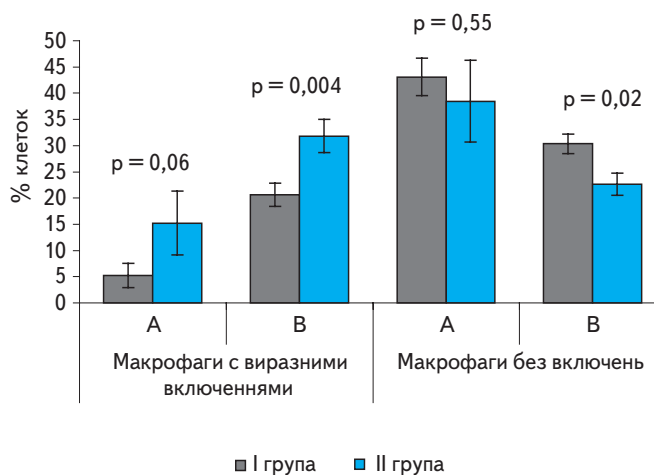


Рис. 4. Цитологічні особливості макрофагів в обстежених осіб I та II груп, які курять (А) і не курять (В)

мінення вищою за 10 мЗв був більш низьким: (6,82 ± 1,65) % порівняно із (11,12 ± 1,45) % в обстежених осіб із дозою опромінення меншою за 10 мЗв ($p = 0,07$).

Знайдена тенденція до більш частішої кількості БАЛ нейтрофільного типу у пацієнтів із обтяженим пульмонологічним анамнезом (14,86 % порівняно із 6,94 %; $\chi^2 = 3,52$; $p = 0,12$). У пацієнтів I і II груп, які мали обтяжений пульмонологічний анамнез, вміст нейтрофілів у БАЛ не відрізнявся (11,9 ± 2,62) % та (10,8 ± 4,42) %; $p = 0,8275$), проте при його відсутності кількість нейтрофілів була вірогідно більш низькою у пацієнтів II групи (10,72 ± 1,80) % і (4,83 ± 1,06) %; $p = 0,0442$). Інші фактори (куріння, на-

явність бронхолегеневої патології, радіаційний анамнез) на появу БАЛ нейтрофільного типу не впливали.

Висновок

За результатами проведених досліджень, клітинний субстрат бронхоальвеолярного лаважу в осіб, які були зайняті у роботах із перетворення ОУ на екологічно безпечну систему і які отримали дози опромінення більше 10 мЗв, у якісному співвідношенні суттєво не відрізнявся від такого в осіб, які отримали опромінення у менших дозах. Проте, у пацієнтів II групи виявлено деякі кількісні відмінності: тенденція до більш високого вмісту макрофагів, суттєве зростання кількості макрофагів з інтенсивним забарвленням цитоплазми, зниження вмісту нейтрофільних лейкоцитів. Встановлені кореляційні залежності між значеними параметрами і дозою опромінення. При аналізі інших факторів (куріння, обтяжений пульмонологічний анамнез, радіаційний анамнез, наявність бронхолегеневої патології), виявлено, що вони суттєво не впливали на особливості клітинного складу БАЛ у пацієнтів II групи і, вірогідно, ці особливості у значному ступені обумовлені більш високою отриманою дозою опромінення.

Отримані дані співвідносяться з літературними свідченнями про особливості розвитку запального процесу у дихальній системі та вкладаються у картину реакції клітин ураженого імунітету. Альвеолярні макрофаги відносяться до важливіших ефекторів цієї ланки імунної системи, функція якої полягає в елімінації чужорідних часточок, мікроорганізмів, вірусів, генетично змінених клітин шляхом фагоцитозу із подальшою активацією, синтезом і секрецією ряду протизапальних цитокинів і хемоатракторів.

Таким чином, на ранніх етапах впливу іонізуючого опромінення (вірогідно, переважно інгаляційним шляхом) на бронхолегеневу систему, спостерігається активація фагоцитарної ланки, спрямована на виведення інгальованих часток із організму.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Кокосов, А. Н.* Диагностическое значение общеклинических лабораторных методов в пульмонологии. Болезни органов дыхания [Текст] / А. Н. Кокосов — Санкт-Петербург: Лань, 1999. — 132 с.
2. *Чучалин, А. Г.* Патология органов дыхания у ликвидаторов аварии на Чернобыльской АЭС [Текст] / А. Г. Чучалин, А. Л. Черняев, К. Вуазен — Москва: "ГРАНТЪ", 1998. — 272 с.
3. *Чучалин, А. Г.* Респираторная медицина. Руководство. В 2 томах [Текст] / под редакцией А. Г. Чучалина, 2007. — Т. 1. — С. 620–624.
4. *Сушко, В. О.* Бронхолегеневая система [Текст] / В. О. Сушко // 20 років Чернобыльської катастрофи. Погляд у майбутнє: Національна доповідь України (гол. ред. В.І. Балого) — К.: Атіка, 2006. — С. 80–81.
5. *Хронічні бронхолегеневі захворювання в осіб, які постраждали внаслідок Чернобыльської катастрофи (20 років досліджень)* [Текст] / Ю. І. Фещенко [і ін.] // Журнал АМН України. — 2006. — Т. 12. — № 1. — С. 134–147.
6. *R.P. Baughman, R. P. S.I. Rennard.* Bronchoalveolar lavage: approaches to correct for variability of dilution and lung permeability [Text] / R. P. Baughman, S. I. Rennard // Eur. Respir. Rev. — 1999. — № 9, Vol. 66. — P. 28–31.

ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИННОГО СКЛАДУ БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОГО ЛАВАЖУ В УМОВАХ ВПЛИВУ НИЗЬКИХ ДОЗ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ

В. О. Сушко, Л. І. Швайко, І. В. Абраменко, А. С. Рязьська, О. М. Стаднічук

Резюме

У статті розглянуті кількісні та якісні характеристики морфологічного складу бронхоальвеолярного лаважу (БАЛ) в осіб, які виконують роботи із перетворення об'єкту "Укриття" ДСП ЧАЕС на екологічно безпечну систему залежно від поглинутої дози опромінення. Дослідження клітинного складу БАЛ проведене 218 особам чоловічої статі, які знаходились на обстеженні у ДУ "НЦРМ АМН України" після участі у виконанні робіт на об'єкті "Укриття" ДСП ЧАЕС в 2004–2007 рр. Виявлено кореляційну залежність між підвищенням кількості макрофагів із інтенсивним забарвленням, зниженням кількості нейтрофільних лейкоцитів і дозою опромінення. На ранніх етапах впливу іонізуючого опромінення (вірогідно, переважно інгаляційним шляхом) на бронхолегеневу систему, спостерігається активація фагоцитарної ланки, яка спрямована на виведення інгальованих часток із організму.

PECULIARITIES OF BRONCHOALVEOLAR LAVAGE CELL COUNT UNDER THE INFLUENCE OF SMALL DOSES OF IONIZING RADIATION

V. A. Sushko, L. I. Shvayko, I. V. Abramenko, A. S. Rjazska, E. N. Stadnychuk

Summary

The qualitative and quantitative characteristics of bronchoalveolar lavage (BAL) fluid morphological cell count in workers, involved in SSE ChNPP Shelter construction, were evaluated depending of absorbed radiation doses. The BAL fluid cell count was examined in 218 men, who were registered at State Institute "Research centre for radiation medicine". It was established the correlation between increasing number of macrophages with high coloration, decreasing number of neutrophils and irradiation dose. At early stages of influence of ionizing radiation on lung (probably, mainly inhalation exposure) an activation of phagocyte link (aimed on elimination of inhaled particles) was observed.