

## ИЗМЕНЕНИЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИХ И АТТРАКТИВНЫХ СВОЙСТВ ЛЕТУЧИХ ВЫДЕЛЕНИЙ МЫШЕЙ ПОСЛЕ РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ИЛИ ИНДУКЦИИ “ЭФФЕКТА СВИДЕТЕЛЯ”

© 2021 г. Б. П. Суринов<sup>1,\*</sup>, В. Г. Исаева<sup>1</sup>, Н. Н. Духова<sup>1</sup>, А. Н. Шарецкий<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Медицинский радиологический научный центр им. А. Ф. Цыба – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Обнинск, Россия

\*E-mail: surinovboris@rambler.ru

Поступила в редакцию 02.12.2019 г.

После доработки 03.09.2020 г.

Принята к публикации 11.11.2020 г.

Проанализирована роль хемосигнализации в межорганизменном эффекте свидетеля в группах животных. Исследована иммунная реактивность лабораторных мышей, подвергшихся воздействию ионизирующей радиации в дозах 1 или 4 Гр, а также мышей-свидетелей, т.е. животных, экспонированных с летучими компонентами мочи облученных в указанных дозах особей. Показано, что способность к антителогенезу у мышей-свидетелей снижена в меньшей степени, чем у особей, подвергшихся радиационному воздействию. Продуцируемые мышами-свидетелями летучие компоненты обладают меньшей аттрактивностью для интактных реципиентов и меньшим иммуносупрессивным эффектом, чем летучие компоненты облученных мышей. Иммуностимулирующее действие летучих компонентов интактных особей на мышей, подвергшихся воздействию радиации, проявляется только при дозе 1 Гр и отсутствует при дозе 4 Гр. У мышей-свидетелей (результат экспонирования животных с летучими компонентами мочи облученных особей) под влиянием естественных летучих компонентов интактных мышей, независимо от исходного состояния иммунной реактивности, способность к иммунному ответу примерно в 1.5–1.6 раза выше, чем у интактных мышей. Обнаружено, что летучие компоненты мышей-свидетелей проявляют, в зависимости от состояния реципиентов, разнонаправленные иммуномодулирующие свойства. Они угнетают иммунную реактивность у интактных особей, но стимулируют ее у облученных в дозе 1 Гр мышей. Обсуждается многообразие и роль механизмов хемосигнализации в развитии эффекта свидетеля при взаимодействии облученных и интактных животных. Обосновывается представление о “санитарном эффекте” механизмов хемосигнализации у животных.

**Ключевые слова:** ионизирующая радиация, мышцы, естественные и пострadiационные летучие выделения, иммуномодулирующие свойства, межорганизменная хемосигнализация, эффект свидетеля, иммунная реактивность, поведенческие реакции

**DOI:** 10.31857/S0869803121010100

Среди немишеных эффектов ионизирующей радиации особое внимание привлекает так называемый “эффект свидетеля (bystander effect)”, который проявляется в виде тех или иных нарушений в интактных клетках, опосредованных влиянием облученных клеток или культуральной их среды [1–4]. Позднее было обнаружено, что аналогичное явление имеет место и на межорганизменном уровне *in vivo* у лабораторных животных [5–7] или у рыб [8–10] в виде влияния облученных особей на интактных. Считается, что на клеточном уровне он обусловлен индуцированными радиацией межклеточными метаболитами [1–4], а у животных – феромоноподобными летучими компонентами (ЛК) мочи [6, 7].

У пострadiационных ЛК, содержащихся в образцах мочи облученных мышей, или у естественных ЛК интактных животных были установлены перекрестные аттрактивные и иммуномодулирующие свойства [11–14]. Аналогичные сведения в отношении мышей-свидетелей, полученных воздействием пострadiационных ЛК, отсутствовали.

В представленной работе изложены результаты сравнительного исследования аттрактивных свойств ЛК, продуцируемых интактными, облученными или мышами-свидетелями, а также иммуномодулирующее влияние на этих животных ЛК интактных особей.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Работа выполнена с помощью методик, применяемых в предыдущих работах [11–14], на мышах-самцах СВА массой тела 25–30 г, содержащихся на стандартном пищевом рационе при естественном световом режиме. Тотальное облучение мышей в дозах 1 и 4 Гр (мощность дозы 33.26 сГр/мин) проводили на установке “Луч-1” ( $\gamma$ -излучение  $^{60}\text{Co}$ ). Источником изучаемых ЛК служили образцы мочи перечисленных ниже групп мышей, которые получали на фильтровальной бумаге, помещаемой на сутки под дополнительное сетчатое дно боксов, где находились животные соответствующих групп.

Обследованы следующие группы мышей (по 7 особей в группе): интактные (контроль); облученные в дозах 1 или 4 Гр; мыши-свидетели, обозначенные как ЛК 1 Гр или ЛК 4 Гр, полученные экспонированием интактных особей в течение суток с летучими выделениями 3-х суток мышей, подвергшихся радиационному воздействию в указанных дозах; облученные в дозах 1 или 4 Гр и через 3 сут экспонированные в течение суток с ЛК интактных особей или с ЛК мышей-свидетелей ЛК 4 Гр; мыши-свидетели ЛК 1 Гр или ЛК 4 Гр, экспонированные в течение суток с ЛК интактных особей.

Для получения мышей-свидетелей ЛК 1 Гр и ЛК 4 Гр в бокс с интактными особями под дополнительное сетчатое дно на сутки помещали лист фильтровальной бумаги, который до этого находился под сетчатым дном бокса с мышами в течение 3-х сут после их облучения в дозах 1 или 4 Гр. Аналогичным образом получали на фильтровальной бумаге образцы мочи, содержащие исследуемые ЛК от разных групп мышей.

Иммунную реактивность мышей оценивали по количеству антителообразующих клеток (АОК) селезенки, индуцированных внутрибрюшинной иммунизацией эритроцитами барана в дозе  $1 \times 10^8$ . Облученных (1 или 4 Гр) мышей иммунизировали через 3 сут после воздействия радиации. Облученных или интактных мышей, экспонированных с исследуемыми ЛК, иммунизировали через сутки после завершения необходимых для каждой группы воздействий. Через 4 сут после иммунизации мышей декапитировали под эфирным наркозом, выделяли селезенку, гомогенизировали в 1 мл среды 199 в стеклянном гомогенизаторе с тefлоновым пестиком. Гомогенат профильтровывали через капроновое сито, отделяя лимфоциты от стромы. Количество клеток в 1 мл среды 199 подсчитывали общепринятым методом под микроскопом в камере Горяева, содержание АОК оценивали методом Каннингема.

Статистическую обработку результатов исследований проводили с помощью пакета программ “Statistica 6.0”. Статистически значимыми счита-

ли различия иммунологических показателей при  $p \leq 0.05$  по критерию Стьюдента.

Для исследования аттрактивных свойств выделяемых с мочой ЛК применяли модификацию Т-образного лабиринта [13, 15], в нем имелось “поле выбора”, с противоположных внешних сторон которого находилось два “укрытия”, содержащие образцы мочи на бумажных подстилках. Мыши-тестеры (10 интактных самцов СВА) могли свободно проникать в “укрытия” через отверстия в стенках “поля”. Тестеров индивидуально по 6 раз помещали в центральную часть “поля” и наблюдали, какое из «укрытий» выберет данная особь. Задержка в одном из них более 0.5 мин фиксировалась как предпочтение ЛК, содержащихся в данном образце мочи. Величину относительной аттрактивности сравниваемых образцов вычисляли по формуле  $P = (Y:60) \times 100\%$ , где “Y” – количество предпочтений определенного “укрытия” из 60 возможных тестирований (10 тестеров по шесть наблюдений). Оценку статистической значимости частоты встречаемости предпочтений тестерами ЛК той или иной группы определяли посредством расчета доверительных интервалов [16].

Следует отметить, что “сдвиг” предпочтений в группах тестеров был относительно равномерным и проявлялся у абсолютного большинства из них. Результаты воспроизводились в двух независимых сериях экспериментов и были практически идентичными.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изменения показателей клеточности и содержания АОК в селезенке лабораторных мышей-самцов СВА после тотального воздействия ионизирующей радиации, наблюдаемые в данной работе, соответствуют полученным в ранее проведенных исследованиях [5–7]. Так, воздействие на мышей радиации в дозе 1 Гр через 3 сут статистически значимо ( $p \leq 0.01$ ) снижало относительно контроля (табл. 1) клеточность и количество АОК в селезенке до  $72.1 \pm 7.6\%$  и  $51.5 \pm 3.4\%$  соответственно.

В группе мышей-свидетелей ЛК 1 Гр (экспонирование в течение суток с содержащими пострадиационные ЛК образцами мочи животных, облученных в дозе 1 Гр) не обнаружено существенных отличий от интактных мышей (контроль) по иммунологическим показателям (табл. 1).

К 3-м суткам после облучения мышей в дозе 4 Гр (табл. 2), как и следовало ожидать, развивалась более глубокая иммуносупрессия, чем после радиационного воздействия в дозе 1 Гр. Клеточность и содержание АОК в селезенке снижались ( $p \leq 0.01$ ) до  $42.2 \pm 3.6\%$  и  $20.4 \pm 2.2\%$  соответственно. У мышей-свидетелей ЛК 4 Гр (экспони-

**Таблица 1.** Влияние летучих компонентов (ЛК) интактных мышей на иммунологические показатели ( $M \pm m$ ) селезенки мышей, облученных в дозе 1 Гр, и мышей-свидетелей ЛК 1 Гр

**Table 1.** Effect of volatile components (VC) of intact mice on immunological parameters ( $M \pm m$ ) of spleen from irradiated mice with dose 1 Gy, and bystander mice VC 1 Gy

| Группа животных                              | Клеточность селезенки                    |                    |            |            |            | Количество АОК в селезенке              |                    |            |            |            |
|--|--|--------------------|------------|------------|------------|---|--------------------|------------|------------|------------|
|  | клеточность,<br>$1 \times 10^6$          | min и max значения | <i>p</i> 1 | <i>p</i> 2 | <i>p</i> 3 | количество АОК, $1 \times 10^3$         | min и max значения | <i>p</i> 1 | <i>p</i> 2 | <i>p</i> 3 |
| Контроль                                     | $160.0 \pm 6.2$<br>( $100.0 \pm 3.9$ )   | 153.8<br>166.2     | –          | –          | –          | $178.0 \pm 4.2$<br>( $100.0 \pm 2.4$ )  | 173.8<br>182.2     | –          | –          | –          |
| 1 Гр   | $115.4 \pm 12.2$<br>( $72.1 \pm 7.6$ )   | 108.2<br>122.6     | 0.01       | –          | –          | $91.7 \pm 6.1$<br>( $51.5 \pm 3.4$ )    | 85.6<br>97.8       | 0.01       | –          | –          |
| Мыши-свидетели ЛК 1 Гр                       | $158.8 \pm 6.7$<br>( $99.3 \pm 4.2$ )    | 152.1<br>165.5     | –          | 0.01       | –          | $181.6 \pm 11.9$<br>( $102.0 \pm 6.7$ ) | 169.7<br>193.5     | –          | 0.01       | –          |
| 1 Гр + ЛК интактных особей                   | $184.0 \pm 26.1$<br>( $115.0 \pm 16.3$ ) | 167.9<br>200.1     | –          | 0.01       | –          | $174.6 \pm 21.4$<br>( $98.1 \pm 12.0$ ) | 153.2<br>196.0     | –          | 0.01       | –          |
| Мыши-свидетели ЛК 1 Гр + ЛК интактных особей | $166.4 \pm 20.5$<br>( $104.0 \pm 12.8$ ) | 145.9<br>186.9     | –          | 0.04       | –          | $290.1 \pm 15.1$<br>( $163.0 \pm 8.5$ ) | 275.0<br>305.2     | 0.01       | 0.01       | 0.01       |

Примечание. В группе по семь мышей; в скобках результаты в процентах относительно контрольной группы, %. Приведены только статистически значимые отличия: *p* 1 – при сравнении с контролем, *p* 2 – при сравнении с мышами, облученными в дозе 1 Гр, *p* 3 – при сравнении с мышами-свидетелями ЛК 1 Гр.

**Таблица 2.** Влияние летучих компонентов (ЛК) интактных мышей на иммунологические показатели ( $M \pm m$ ) селезенки мышей, облученных в дозе 4 Гр, и мышей-свидетелей ЛК 4 Гр

**Table 2.** Effect of volatile components (VC) of intact mice on immunological parameters ( $M \pm m$ ) of spleen from irradiated mice with dose 4 Gy, and bystander mice VC 4 Gy

| Группа животных                              | Клеточность селезенки                  |                    |            |            |            | Количество АОК в селезенке             |                    |            |            |            |
|--|--|--------------------|------------|------------|------------|--|--------------------|------------|------------|------------|
|  | клеточность,<br>$1 \times 10^6$        | min и max значения | <i>p</i> 1 | <i>p</i> 2 | <i>p</i> 3 | количество АОК, $1 \times 10^3$        | min и max значения | <i>p</i> 1 | <i>p</i> 2 | <i>p</i> 3 |
| Контроль                                     | $128.0 \pm 5.0$<br>( $100.0 \pm 3.9$ ) | 123.0<br>133.0     | –          | –          | –          | $146.0 \pm 5.3$<br>( $100.0 \pm 3.9$ ) | 140.7<br>151.3     | –          | –          | –          |
| 4 Гр   | $54.0 \pm 4.6$<br>( $42.2 \pm 3.6$ )   | 49.4<br>58.6       | 0.01       | –          | –          | $29.8 \pm 3.2$<br>( $20.4 \pm 2.2$ )   | 26.6<br>33.3       | 0.01       | –          | –          |
| Мыши-свидетели ЛК 4 Гр                       | $135.2 \pm 8.1$<br>( $105.6 \pm 6.3$ ) | 127.1<br>143.3     | –          | 0.01       | –          | $106.0 \pm 4.1$<br>( $72.6 \pm 2.8$ )  | 101.9<br>110.1     | 0.01       | 0.01       | –          |
| 4 Гр + ЛК интактных особей                   | $58.0 \pm 7.6$<br>( $45.3 \pm 5.9$ )   | 50.4<br>65.6       | 0.01       | –          | 0.01       | $33.4 \pm 3.4$<br>( $22.9 \pm 2.3$ )   | 30.0<br>36.8       | 0.01       | –          | 0.01       |
| Мыши-свидетели ЛК 4 Гр + ЛК интактных особей | $122.8 \pm 5.6$<br>( $95.9 \pm 4.4$ )  | 117.2<br>128.4     | –          | 0.01       | –          | $221.9 \pm 7.7$<br>( $152.0 \pm 5.3$ ) | 214.2<br>229.6     | 0.01       | 0.01       | 0.01       |

Примечание. В группе по семь мышей; в скобках результаты в процентах относительно контрольной группы. Приведены только статистически значимые отличия: *p* 1 – при сравнении с контролем, *p* 2 – при сравнении с мышами, облученными в дозе 4 Гр, *p* 3 – при сравнении с мышами-свидетелями ЛК 4 Гр.

рование мышей в течение суток с образцами мочи животных, облученных в дозе 4 Гр) обнаружено статистически значимое ( $p \leq 0.01$ ) понижение содержания АОК до  $72.6 \pm 2.8\%$  относительно контроля. При этом изменений клеточности селезенки не наблюдалось.

Наблюдаемые нарушения иммунной реактивности у мышей после воздействия радиации в дозах 1 и 4 Гр воспроизводят известную закономерность – с повышением дозы радиации увеличиваются и иммунные нарушения в виде снижения клеточности и количества АОК в селезенке. Воз-

растает и иммуносупрессирующая активность выделяемых этими животными пострадиационных ЛК. Так, у мышей-свидетелей (ЛК 1 Гр), которые представляют собой интактных особей, экспонированных с ЛК облученных в дозе 1 Гр мышей, нарушения иммунной реактивности не наблюдаются. Они обнаруживаются только у мышей-свидетелей ЛК 4 Гр, которых получали экспонированием с ЛК мышей, облученных в дозе 4 Гр (табл. 2).

Следовательно, иммуносупрессивная активность летучих веществ, выделяемых в разгар пострадиационных нарушений, ниже, чем непосредственный иммуносупрессивный эффект радиации. Так, после воздействия радиации в дозах 1 и 4 Гр снижается не только количество АОК в селезенке, но и ее клеточность, тогда как у мышей-свидетелей иммунологические нарушения наблюдаются только в группе животных ЛК 4 Гр, в виде пониженного количества АОК в селезенке.

Несомненно, что структура и механизмы развития нарушений у тотально облученных мышей и у мышей-свидетелей, опосредованных пострадиационными ЛК, различаются. Воздействие ионизирующей радиации, как известно, сопровождается повреждением лимфоидных клеток, тогда как влияние пострадиационных ЛК на мышей реализуется с участием системы обоняния, за счет физиологической регуляции функционального показателя — способности к иммунному ответу на тимусзависимый антиген (эритроциты барана).

Предположение о качественном различии между нарушениями у облученных мышей и у мышей-свидетелей более отчетливо подтверждается при сравнительной оценке влияния естественных ЛК интактных животных на облученных в дозах 1 или 4 Гр мышей и на мышей-свидетелей. Так, у мышей, облученных в дозе 1 Гр, после экспонирования в течение 3-х суток пострадиационного периода с естественными ЛК интактных особей восстанавливается практически до уровня контроля клеточность и количество АОК в селезенке (табл. 1). Воздействие естественных ЛК на мышей-свидетелей ЛК 1 Гр увеличивает количество АОК в селезенке значительно выше (до  $163.0 \pm 8.5\%$ ,  $p \leq 0.01$ ) интактного контроля. При этом клеточность селезенки не изменяется (табл. 1).

Экспонирование мышей в 3-и сутки после облучения в дозе 4 Гр с естественными ЛК интактных особей не привело к изменениям показателей иммунной реактивности (табл. 2). Это, вероятно, связано с радиационным повреждением иммунокомпетентных клеток. Напротив, у мышей-свидетелей ЛК 4 Гр эти же ЛК интактных особей вызывали выраженную стимуляцию иммунной реактивности — количество АОК в селезенке превышало уровень контроля (до  $152.0 \pm 5.3\%$ ,

$p \leq 0.01$ ). Показатель клеточности органа не отличался от контроля или от группы мышей-свидетелей ЛК 4 Гр.

Примечательно, что влияние естественных ЛК на мышей-свидетелей сопровождается возрастанием иммунной реактивности до показателей, превышающих таковые в интактном контроле, независимо от того, с помощью каких ЛК был достигнут статус мышей-свидетелей (ЛК 1 Гр или ЛК 4 Гр). Это при том, что способность к иммунному ответу у этих мышей-свидетелей изначально существенно различалась. У мышей-свидетелей ЛК 1 Гр она соответствовала уровню контроля, а у мышей-свидетелей ЛК 4 Гр была снижена на 30%, но при этом естественные ЛК примерно в равной степени повышали (в 1.6 и в 1.5 раза соответственно) иммунную реактивность той и другой групп мышей-свидетелей (табл. 1 и 2). Вероятно, что у мышей-свидетелей, которые получены экспонированием с пострадиационными ЛК, имеют место неспецифические адаптационные реакции, тогда как у облученных особей, особенно после воздействия радиации в дозе 4 Гр, иммунная реактивность понижена в результате непосредственного повреждения иммунокомпетентных клеток.

Межорганизменные иммуномодулирующие эффекты ЛК зависят не только от состояния продуцентов ЛК, но и от состояния реципиентов. Такое суждение вытекает из рассматриваемых выше данных, но более наглядно демонстрируется результатами следующего эксперимента (табл. 3). Сравнительно оценивали влияние ЛК мышей-свидетелей на интактных и облученных особей. Оказалось, что ольфакторное воздействие ЛК мышей-свидетелей ЛК 4 Гр на интактных мышей сопровождается снижением почти на 20% ( $p \leq 0.05$ ) количества АОК в селезенке. Такое же воздействие ЛК мышей-свидетелей ЛК 4 Гр на облученных в дозе 1 Гр мышей сопровождается повышением на 24% ( $p \leq 0.05$ ) количества АОК в селезенке относительно такового показателя у мышей, подвергшихся только радиационному воздействию в дозе 1 Гр. Следовательно, мышши, имеющие пониженную иммунную реактивность, обусловленную ольфакторным эффектом пострадиационных ЛК 4 Гр, сами продуцируют ЛК, иммуносупрессивные в отношении интактных мышей, но иммуностимулирующие в отношении облученных в дозе 1 Гр особей. Полученные данные фактически воспроизводят ранее описанные [12, 14] разнонаправленные эффекты пострадиационных ЛК мочи облученных в дозе 4 Гр мышей, что может рассматриваться как определенное сходство свойств ЛК мышей-свидетелей и пострадиационных ЛК, продуцируемых облученными в дозе 4 Гр мышами.

**Таблица 3.** Влияние летучих компонентов (ЛК) мышей-свидетелей ЛК 4 Гр на иммунологические показатели ( $M \pm m$ ) селезенки интактных или облученных в дозе 1 Гр мышей  
**Table 3.** Effect of volatile components (VC) of bystander mice VC 4 Gy on the immunological parameters ( $M \pm m$ ) of the spleen of intact or irradiated mice at a dose of 1 Gy

| Группа животных                         | Клеточность селезенки                     |                    |            |            | Количество АОК в селезенки                 |                    |            |            |
|---|---|--------------------|------------|------------|--|--------------------|------------|------------|
|   | клеточность, $1 \times 10^6$              | min и max значения | <i>p</i> 1 | <i>p</i> 2 | количество АОК, $1 \times 10^3$            | min и max значения | <i>p</i> 1 | <i>p</i> 2 |
| Контроль                                | $128 \pm 3.8$<br>( $100 \pm 2.9$ )        | 124.2<br>131.8     | –          | –          | $102 \pm 6.1$<br>( $100 \pm 6.0$ )         | 95.9<br>108.1      | –          | –          |
| Интактные + ЛК мышей-свидетелей ЛК 4 Гр | $116 \pm 12.1$<br>( $90.6 \pm 9.5$ )      | 103.9<br>128.1     | –          | –          | $84.1 \pm 5.4^*$<br>( $82.5 \pm 5.2$ )     | 78.7<br>89.5       | 0.05       | –          |
| 1 Гр                                    | $88.0 \pm 9.7^*$<br>( $68.8 \pm 7.6$ )    | 78.3<br>97.7       | 0.01       | –          | $34.5 \pm 3.8^*$<br>( $33.8 \pm 3.7$ )     | 30.7<br>38.3       | 0.01       | –          |
| 1 Гр + ЛК мышей-свидетелей ЛК 4 Гр      | $126 \pm 11.2^{**}$<br>( $98.4 \pm 8.7$ ) | 114.8<br>137.2     | –          | 0.05       | $58.7 \pm 7.6^{***}$<br>( $57.5 \pm 7.5$ ) | 51.1<br>66.3       | 0.01       | 0.05       |

Примечание. В группе по семь мышей; в скобках результаты в процентах относительно контрольной группы. Приведены только статистически значимые отличия: *p* 1 – при сравнении с контролем, *p* 2 – при сравнении с мышами, облученными в дозе 1 Гр.

Наряду с влиянием исследуемых ЛК на иммунную реактивность мышей рассматриваемых здесь подопытных групп были оценены и аттрактивные их свойства, т.е. способность ольфакторно привлекать или отталкивать других особей. Воспроизведены ранее полученные данные [13, 15], свидетельствующие о том, что мыши на протяжении 7 сут после радиационного воздействия в дозе 4 Гр выделяют с мочой ЛК с повышенной относительно контроля привлекательностью для интактных особей (табл. 4). В настоящем исследовании показано, что мыши-свидетели ЛК 4 Гр также продуцируют привлекающие ЛК, но только в 5-е, 10-е и 12-е сутки наблюдения. При непосредственном сравнении аттрактивности ЛК мочи облученных в дозе 4 Гр мышей и мышей-свидетелей ЛК 4 Гр было установлено, что интактные мыши-тестеры предпочитают (статистически значимо в 3–5-е и 10-е сутки) исключительно образцы мочи особей, подвергшихся радиационному воздействию в дозе 4 Гр. Следовательно, после тотального действия на мышей ионизирующей радиации в дозе 4 Гр выделяемые с мочой ЛК обладают более высокой привлекательностью, чем ЛК мышей-свидетелей ЛК 4 Гр, опосредованных экспонированием с пострadiационными (4 Гр) ЛК.

Можно предполагать, что наблюдаемые в этом случае особенности сравнительной аттрактивности рассматриваемых ЛК обусловлены качественным различием состава летучих веществ, продуцируемых с мочой мышами в разные сроки после облучения в дозе 4 Гр и мышами-свидетелями ЛК 4 Гр. По нашим данным [15], в разгар пострadiационных нарушений в 3-и сутки после

воздействия радиации в дозе 4 Гр спектр определяемых газомасс-хроматографией летучих химических веществ мочи мышей количественно, а в определенной степени и качественно, отличается от интактных мышей. Многообразие таких отличий не позволяет достоверно идентифицировать пострadiационные летучие вещества, специфически влияющие на других особей. Проблематичность такой задачи обусловлена еще и тем, что специфичность реакции реципиентов может определяться не только составом, но и соотношением концентраций хемосигналов, как, например, при обонятельной демонстрации генотипа мышей [17, 18].

Изложенные данные подтверждают представление о биологической целесообразности эффектов хемосигнализации в группах животных в условиях воздействия ионизирующей радиации [12, 14]. Это суждение сформулировано на основе ряда фактов. Первые наблюдения повышенной аттрактивности интактных животных к ЛК облученных не находили рационального объяснения, так как пострadiационные ЛК снижали у первых иммунную реактивность. В дальнейшем оказалось, что и облученные особи имеют высокую аттрактивность к ЛК интактных животных [19]. Предположение об участии хемокоммуникаций в повышении жизнеспособности особей в группе нашло подтверждение в стимулирующем воздействии естественных ЛК, выделяемых интактными особями, на иммунную реактивность облученных. При определенных условиях такое воздействие сопровождается не только нормализацией, но и значительным повышением их иммунной реактивности [12, 14].

**Таблица 4.** Относительная частота предпочтений интактными самцами-тестерами летучих компонентов (ЛК) мочи интактных мышей, облученных в дозе 4 Гр мышей и мышей-свидетелей (ЛК 4 Гр)

**Table 4.** Relative frequency of preference of intact male testers for urine volatile components (VC) from intact mice, 4 Gy irradiated mice, and bystander mice (VC 4 Gy)

| Срок после облучения в дозе 4 Гр | Интактные/ 4 Гр            | Интактные/ свидетели       | Свидетели/ 4 Гр           |
|----------------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|
| 3-е сутки                        | 26.0/34.0*<br>(43.3/56.7)  | 29.0/31.0<br>(48.3/51.7)   | 25.0/35.0*<br>(41.7/58.3) |
| 4-е сутки                        | 25.0/45.0*<br>(41.7/58.3)  | 29.0/31.0<br>(48.3/51.7)   | 26.0/34.0*<br>(43.3/56.7) |
| 5-е сутки                        | 25.0/35.0*<br>(41.7/58.3)  | 25.0/35.0*<br>(41.7/58.3)  | 23.0/37.0*<br>(38.3/61.7) |
| 6-е сутки                        | 24.0/36.0*<br>(40.0/60.0)  | 29.0/31.0<br>(48.3/51.7)   | 28.0/32.0<br>(46.7/53.3)  |
| 7-е сутки                        | 27.0/33.0**<br>(45.0/55.0) | 29.0/31.0<br>(48.3/51.7)   | 30.0/30.0<br>(50.0/50.0)  |
| 10-е сутки                       | 29.0/31.0<br>(48.3/51.7)   | 27.0/33.0**<br>(45.0/55.0) | 26.0/34.0*<br>(43.3/56.7) |
| 12-е сутки                       | 28.0/32.0<br>(46.7/53.3)   | 27.0/33.0**<br>(45.0/55.0) | 30.0/30.0<br>(50.0/50.0)  |
| 14-е сутки                       | 27.0/33.0**<br>(45.0/55.0) | 29.0/31.0<br>(48.3/51.7)   | 32.0/28.0<br>(53.3/46.7)  |

Примечания. 10 тестерам предъявляли по шесть попыток выбора из двух укрытий с разными образцами мочи; в скобках результаты представлены в процентах.

\* Статистически значимые ( $p \leq 0.05$ ) различия; \*\* – тенденция ( $0.1 > p > 0.05$ ).

Следовательно, перекрестная аттрактивность ЛК облученных, интактных особей и мышей-свидетелей обеспечивает повышение их обонятельных коммуникаций, которое восстанавливает иммунную реактивность облученных мышей воздействием естественных ЛК интактных особей или ЛК мышей-свидетелей. Снижение иммунной реактивности интактных животных под влиянием пострадиационных ЛК, т.е. при ольфакторных коммуникациях с облученными особями в разгар пострадиационных нарушений, объясняется адаптивной реакцией ольфакторной и иммунной систем.

Смена статуса мышей от интактных к мышам-свидетелям сопровождается выделением аттрактивных ЛК и повышением чувствительности к влиянию на них естественных ЛК интактных особей, что и проявляется в значительной стимуляции иммунной реактивности. Именно такая последовательность развития поведенческих и иммунных реакций в группах животных, содержащих как ин-

тактных, так и облученных особей, логически вытекает из рассматриваемых здесь данных.

Ранее наблюдали способность облученных мышей или продуцируемых ими ЛК вызывать цепную реакцию, когда даже отдельные облученные особи, особи-свидетели или ЛК образцов мочи, помещаемые в бокс к интактным мышам, снижают иммунную реактивность всех особей группы, распространяя таким образом эффект свидетеля [20]. Представленные здесь данные предполагают более сложную картину, наличие своего рода сетевых взаимодействий, когда вовлекаемые в пострадиационный процесс интактные мыши за счет повышенной аттрактивности их ЛК восстанавливают иммунную реактивность не только у облученных особей, но и у мышей-свидетелей. Ольфакторное взаимодействие интактных и облученных особей изменяет их состояние – под влиянием пострадиационных ЛК интактные особи переходят в статус мышей-свидетелей. Это проявляется в снижении иммунной реактивности и появлению в моче ЛК с аттрактивными для интактных особей свойствами. Соответственно изменяется и ольфакторная коммуникативная роль – доноры ЛК (интактные особи) после перехода в статус мышей-свидетелей становятся реципиентами естественных ЛК. В свою очередь, ЛК мышей-свидетелей, обладая привлекательностью для интактных особей, ольфакторно снижают у них иммунную реактивность. Такое же воздействие ЛК мышей-свидетелей на привлекательных для них облученных в дозе 1 Гр особей, повышает их иммунную реактивность.

Необходимо отметить, что представленные выше взаимодействия облученных и интактных особей наблюдались только при воздействии радиации в сублетальных дозах. После облучения в летальных дозах, особенно в терминальный период, в моче появляются пострадиационные ЛК с аверсивными свойствами, отталкивающими интактных мышей [21]. Этот факт наиболее убедителен в обосновании биологической целесообразности ольфакторных поведенческих и иммунных реакций в условиях воздействия радиации. Дело в том, что относительно давно описано значение ольфакторных коммуникаций животных при инфекциях [22]. Зараженные инфекционными агентами животные продуцируют аверсивные (отталкивающие) хемосигналы, что объясняется социально значимой необходимостью ограничения коммуникаций здоровых особей с больными для предупреждения распространения инфекций. Мы предполагаем, что такая способность неспецифична, т.е. независима от особенностей патогена или повреждающего фактора, включая ионизирующую радиацию и токсические вещества.

Совокупность обусловленных хемосигнализацией поведенческих и иммуномодулирующих

межорганизменных реакций была обозначена как “госпитальный эффект” [12, 14]. Возможно, будет точнее – “санитарный эффект” хемосигнализации, направленный на повышение выживаемости особой группы, так как в нем присутствуют и ольфакторная диагностика патологического состояния, и ольфакторная стимуляция иммунитета. Представляется, что в группах животных механизмы хемосигнализации выполняют, по крайней мере, две задачи – снижение коммуникаций с особями, имеющими необратимые нарушения и авersive ЛК, и привлечение (аттрактивность) интактных животных к особям с умеренными нарушениями. В результате снижается вероятность распространения инфекций и повышается иммунная реактивность особей, имеющих резервы репарации.

Эффект свидетеля, описанный на клеточном уровне, вероятно, обеспечивает задачу репарации облученных клеток с помощью специальных метаболитов, факторов спасения (rescue factors), выделяемых клетками-свидетелями. Гипотеза о таком механизме, обозначенном как rescue effects (эффекты спасения) [23], предполагает, что клетки, находившиеся вне зоны облучения, оказывают с помощью межклеточных метаболитов репарирующее влияние на облученные клетки. Моделирование эффекта спасения в культуре фибробластов человека добавлением интактных клеток к облученным демонстрировало снижение показателей пострадиационных нарушений [23]. Эти модели подобны описанным здесь экспериментам по восстановлению иммунной реактивности облученных мышей под влиянием ЛК интактных особей или ЛК мышей-свидетелей. Существенным отличием межорганизменного эффекта свидетеля от наблюдаемого на клеточном уровне является важная роль хемосигнализации [24], которая повышает коммуникации интактных и облученных особей, обеспечивая, таким образом, стимуляцию иммунитета у облученных.

Несомненно, что и в межклеточных, и в межорганизменных эффектах спасения участвуют совершенно разные молекулярные механизмы, но их объединяет важная общебиологическая задача – репарация нарушений за счет ресурсов естественно окружающих объектов. Они привлекают внимание и тем, что выраженные последствия воздействия предполагаемых факторов спасения обеспечиваются очень низкими их концентрациями, как, например, летучих хемосигналов при межорганизменных коммуникациях.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ представленных данных свидетельствует о том, что облученные в диапазоне сублетальных доз ионизирующей радиации мыши и мыши-свидетели существенно различаются не

только тем, что у последних менее выражены нарушения иммунной реактивности и ниже аттрактивность выделяемых с мочой ЛК. Наиболее значимое отличие состоит в высокой чувствительности к стимулирующему эффекту естественных ЛК на мышей-свидетелей, который не зависит от величины исходного снижения их иммунной реактивности. Наряду с этим имеется и сходство: ЛК, выделяемые как облученными в дозе 4 Гр животными, так и мышами-свидетелями, обладают способностью угнетать иммунную реактивность интактных особей, но стимулировать ее у облученных (1 Гр) грызунов. Данный факт может свидетельствовать о полипотентности свойств межорганизменного эффекта свидетеля у животных.

Рассматриваемые здесь результаты исследований в совокупности с ранее полученными данными указывают на то, что механизмы хемосигнализации в условиях воздействия ионизирующей радиации обеспечивают у животных биологически целесообразное адаптирующее взаимодействие облученных, интактных особей и особей-свидетелей, направленное на распознавание и восстановление иммунной реактивности членов группы, имеющих резервы репарации. Существенную роль в этих процессах играют и перекрестные коммуникации животных, регулируемые летучими хемосигналами интактных, облученных мышей и мышей-свидетелей.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nagasawa H., Little J.B. Induction of sister chromatid exchanges by extremely low doses of  $\alpha$ -particles. A defining paper of radiation-induced bystander responses in cellular models // *Cancer Res.* 1992. V. 52. P. 6394–6396.
2. Mothersill C., Seymour C. Medium from irradiated human epithelial cells but not human fibroblasts reduces the clonogenic survival of unirradiated cells // *Int. J. Radiat. Biol.* 1997. V. 71. № 4. P. 421–427.
3. Mothersill C., Seymour C. Genomic instability, bystander effects and radiation risk: implication for the environment // *Радиац. биология. Радиоэкология.* 2000. Т. 40. № 5. С. 615–620. [Mothersill C., Seymour C. Genomic instability, bystander effects and radiation risk: implication for the environment // *Radiation biology. Radioecology.* 2000. V. 40. № 5. P. 615–620. (In Russian)]
4. Mothersill C., Seymour C. Radiation-induced bystander effect past history and future directions // *Radiat. Res.* 2001. V. 155. № 6. P. 756–757.
5. Суринов Б.П., Карпова Н.А., Исаева В.Г., Кулиш Ю.С. Естественные выделения пострадиационного периода и контактная индукция иммунодефицитов // *Радиац. биология. Радиоэкология.* 1998. Т. 38. № 1. С. 9–13. [Surinov B.P., Karpova N.A., Isaeva V.G., Kulish Yu.S. The mice natural secrets of postradiation period and contact induction of immunodeficits // *Radiation biology. Radioecology.* 1998. V. 38. № 1. P. 9–13. (In Russian)]

6. Суринов Б.П., Карпова Н.А., Исаева В.Г. Пострадиационная коммуникативная индукция нарушений крови и иммунитета // Патол. физиология и эксперим. терапия. 1998. № 3. С. 7–10. [Surinov B.P., Karpova N.A., Isaeva V.G. Postradiacionnaya kommunikativnaya indukciya narusheniy krovi i immuniteta // Patol. fiziol. i eksp. terapiya. 1998. № 3. P. 7–10. (In Russian)]
7. Суринов Б.П., Исаева В.Г., Токарев О.Ю. Аллелопатическая активность летучих выделений облученных животных // Радиационная биология. Радиоэкология. 2001. Т. 41. № 6. С. 645–649. [Surinov B.P., Isaeva V.G., Tokarev O.Yu. Allelopathic activity of volatile secretion in irradiated animals // Radiation biology. Radioecology. 2001. V. 41. № 6. P. 645–649. (In Russian)]
8. Mothersill C., Bucking C., Smith R.W. et al. Communication of radiation-induced stress or bystander signals between fish in vivo // Environ. Sci. Technol. 2006. V. 40. № 21. P. 6859–6864.
9. Mothersill C., Smith R.W., Hinton T.G. et al. Characterization of a radiation-induced stress response communicated in vivo between zebrafish // Environ. Sci. Technol. 2007. V. 41. № 9. P. 3382–3387.
10. Mothersill C., Seymour C. Changing paradigms in radiobiology // Mutat. Res. 2012. V. 750. № 2. P. 85–95.
11. Суринов Б.П., Исаева В.Г., Духова Н.Н. Пострадиационные иммуносупрессирующие и аттрактивные летучие выделения: “Эффект соседа (bystander effect)” или аллелопатия в группах животных // Докл. РАН. 2005. Т. 400. № 5. С. 711–713. [Surinov B.P., Isaeva V.G., Duhova N.N. Postradiation immunosuppressive and attractive volatile secretions: The “Bystander Effect” or Allelopathy in Groups of Animals // Doklady Biological Sciences. 2005. V. 400. P. 28–30. (In Russian)]
12. Суринов Б.П., Исаева В.Г. Иммуномодулирующие эффекты летучих выделений животных при пострадиационных иммунодефицитных состояниях // Радиационная биология. Радиоэкология. 2008. Т. 48. № 6. С. 665–670. [Surinov B.P., Isaeva V.G. Immunomodulation Effects Volatile Secretion of Animals at Postradiation Immunodeficiency Conditions // Radiation biology. Radioecology. 2008. V. 48. № 6. P. 665–670. (In Russian)]
13. Суринов Б.П., Духова Н.Н. Аттрактивные для интактных особей пострадиационные летучие выделения мышей // Радиационная биология. Радиоэкология. 2004. Т. 44. № 6. С. 662–665. [Surinov B.P., Duhova N.N. Postradiation volatile secretion of mice attractive for intact individuals // Radiation biology. Radioecology. 2004. V. 44. № 6. P. 662–665. (In Russian)]
14. Суринов Б.П., Исаева В.Г., Карпова Н.А. Иммуностимулирующая хемосигнализация у животных при вторичных иммунодефицитных состояниях // Докл. РАН. 2008. Т. 418. № 2. С. 282–285. [Surinov B.P., Isaeva V.G., Karpova N.A. Immunostimulating chemosignaling in animals with secondary immunodeficiency // Doklady Biological Sciences. 2008. V. 418. P. 41–43. (In Russian)]
15. Суринов Б.П., Духова Н.Н., Исаева В.Г. Свойства летучих соединений, выделяемых облученными ионизирующей радиацией животными, и дистанционный “эффект свидетеля (bystander effect)” // Радиация и риск. 2015. Т. 24. № 3. С. 105–111. [Surinov B.P., Duhova N.N., Isaeva V.G. Properties of volatile compounds excreted by animals previously exposed to ionizing radiation and distant bystander effect // Radiaciya i risk. 2015. V. 24. № 3. P. 105–111. (In Russian)]
16. Жаворонков Л.П. Основы прикладной медико-биологической статистики. Обнинск: “ФГБУ МРНЦ Минздравсоцразвития России”, 2012. 60 с. [Zhavoronkov L.P. Foundations of Applied Biomedical Statistics. Obninsk: “FSBI MRRC of the Ministry of Health and Social Development of Russia”, 2012. 60 p. (In Russian)]
17. Beauchamp G.K., Yamazaki K. Chemical signals Mice // Biochem. Soc. Trans. 2003. V. 31. P. 47–151.
18. Novotny M.V., Soini H.A. Analysis of volatile mouse pheromones by gas chromatography mass spectrometry // Meth. Mol. Biol. 2013. V. 1068. P. 29–45.
19. Шпагин Д.В., Суринов Б.П. Влияние ионизирующей радиации на привлечение мышей-самцов к хемосигналам интактных особей // Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. 2007. Т. 57. № 1. С. 97–104. [Shpagin D.V., Surinov B.P. Influence of ionizing radiation on the attractiveness of male mice to chemosignals of intact individuals // Zhurn. vyssh. nervn. deyat. im. I.P. Pavlova. 2007. V. 57. № 1. P. 97–104. (In Russian)]
20. Суринов Б.П., Исаева В.Г., Духова Н.Н. Коммуникативное умножение вторичных нарушений показателей крови и иммунитета в группах интактных мышей, опосредованное летучими выделениями облученных особей // Радиационная биология. Радиоэкология. 2004. Т. 44. № 4. С. 387–391. [Surinov B.P., Isaeva V.G., Duhova N.N. Communicative multiplication of secondary disorders in blood formula and immunity in groups of intact mice caused by volatile compounds excreted by irradiated animals // Radiation biology. Radioecology. 2004. V. 44. № 4. P. 387–391. (In Russian)]
21. Жовтун Л.П., Суринов Б.П., Карпова Н.А. Пострадиационные летучие выделения мышей, облученных в летальной и сверхлетальной дозах // Радиационная биология. Радиоэкология. 2009. Т. 49. № 1. С. 29–33. [Zhovtun L.P., Surinov B.P., Karpova N.A. Postirradiated mice volatile secretion, irradiated in the lethal and superlethal dose // Radiation biology. Radioecology. 2009. V. 49. № 1. P. 29–33. (In Russian)]
22. Мошкин М.П., Герлинская Л.А., Евсиков В.И. Иммунная система и реализация поведенческих стратегий размножения при паразитарных прессах // Журн. общей биологии. 2003. Т. 64. № 1. С. 23–44. [Moshkin M.P., Gerlinskaya L.A., Evsikov V.I. The role of the immune system in behavioural strategies of reproduction under parasitic pressure // Zhurnal obshchey biologii. 2003. V. 64. № 1. P. 23–44. (In Russian)]
23. Chen S., Zhao Y., Han W. et al. Rescue effects in radiobiology: Unirradiated bystander cells assist irradiated cells through intercellular signal feedback // Mutat. Res. 2011. V. 706. P. 59–64.
24. Шарецкий А.Н., Суринов Б.П., Абрамова М.П. Влияние летучих хемосигналов интактных мышей на развитие иммунного ответа у облученных реципиентов. Роль хемосигнализации в “эффекте спасе-



ния (rescue effect)” // Радиация, биология. Радиоэкология. 2016. V. 56. № 6. С. 583–589. [Shareckiy A.N., Surinov B.P., Abramova M.R. Effects of volatile chemical signals of intact mice on the development of an im-

mune response in irradiated recipients. the contribution of chemo signaling to “rescue effect” // Radiation biology. Radioecology. 2016. V. 56. № 6. V. 583–589. (In Russian)]

## The Changes in Immunomodulatory and Attractive Properties of Mice Secretions after Radiation Exposure or Induction of the “Bystander Effect”

**B. P. Surinov<sup>a,#</sup>, A. N. Sharetsky<sup>a</sup>, and N. N. Dukhova<sup>a</sup>**

<sup>a</sup> *A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – Branch of the National Medical Research Centre Radiology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia*

<sup>#</sup> *E-mail: surinovboris@rambler.ru*

The article analyzes the participation of chemosignaling in between the organisms in the “bystander effect” in groups of animals. The immune reactivity of laboratory mice after exposure to ionizing radiation at doses of 1 or 4 Gy and bystander mice exposed with the volatile components of urine irradiated mice at these doses was studied. It is shown that the ability to antibody forming in bystander mice decreases to a lesser extent than in mice exposed to radiation. The volatile components produced by bystander mice are less attractive for intact recipients and are less immunosuppressives than the volatile components of irradiated mice. The immunostimulatory effect of natural volatile components of intact individuals on mice exposed to direct radiation occurs only at a dose of 1 Gy and is absent at a dose of 4 Gy. In bystander mice, under the influence of natural volatile components of intact mice, regardless of the initial state of immune reactivity, the ability to immune response is about 1.5–1.6 times higher than in intact mice. It was found that the bat components of bystander mice exhibit multidirectional immunomodulatory properties depending on the state of the recipients. They inhibit immune reactivity in intact individuals, but stimulate it in mice irradiated at a dose of 1 Gy. The diversity and role of chemosignaling mechanisms in the development of the bystander effect in the interaction of irradiated and intact animals is discussed. Substantiates the idea of “health effect” mechanisms of chemosignaling in animals.

**Keywords:** ionizing radiation, mice, natural and postirradiation volatile emissions, immunomodulatory properties, chemosignaling in between the organisms, bystander effect, immune reactivity, behavioral responses