

С.И. Курчевенко, Г.М. Бодиенкова

# СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ (ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

ФГБУ «Восточно-Сибирский научный центр экологии человека» СО РАМН (Иркутск)

В статье представлены результаты исследования продукции цитокинов в сыворотке крови экспериментальных животных, подвергавшихся воздействию общей вибрации и шума производственной частоты. Целью настоящей работы явилось сравнительное исследование про- и противовоспалительных цитокинов у животных, подвергающихся воздействию физических факторов. Всего было проведено 2 эксперимента по 4 серии исследований в течение 15, 30, 60 и 120 дней. В качестве контроля использовали интактных белых крыс-самцов. У всех животных оценивались показатели сывороточного уровня цитокинов: IL-1 $\beta$ , IL-10, TNF- $\alpha$  (видоспецифичные диагностические наборы Bender MedSystems (Austria)) методом твердофазного иммуноферментного анализа. Математическую обработку результатов проводили методами непараметрической статистики. В опытах на беспородных белых крысах установлены как общие закономерности, так и особенности изменений цитокинового баланса в зависимости от характера воздействующего физического фактора в динамике развития нарушений в иммунной системе. Наблюдается снижение уровня IL-10 при воздействии вибрации через 15 дней и при воздействии шума – через 60 дней. Снижение содержания IL-1 $\beta$  у крыс характерно только при воздействии шума через 30 дней и не изменяется при воздействии вибрации. Сделан вывод о том, что изменения в содержании цитокинов у опытных животных при воздействии общей вибрации и шума производственной частоты свидетельствуют о различных механизмах, лежащих в основе регуляции иммунного ответа.

**Ключевые слова:** вибрация, шум, цитокины, экспериментальные животные (крысы)

## COMPARATIVE EVALUATION OF CYTOKINE PROFILE IN EXPERIMENTAL ANIMALS UNDER THE EFFECT OF PHYSICAL FACTORS (PRELIMINARY STUDY)

S.I. Kurchevenko, G.M. Bodienkova

Eastern Siberian Scientific Center of Human Ecology SB RAMS, Irkutsk

The results of studies of cytokine production in the serum of experimental animals exposed by general vibration and noise of industrial frequency. The aim of the work was comparative research of pro- and anti-inflammatory cytokines in animals under the effect of physical factors. 2 experiments of 4 series of studies within 15, 30, 60 and 120 days were conducted. Intact male albino rats were used as a control group. In all animals serum levels of cytokines IL-1 $\beta$ , IL-10, TNF- $\alpha$  (species-specific diagnostic kits Bender MedSystems (Austria)) were evaluated by ELISA. Mathematical processing of the results was carried out by methods of nonparametric statistics. Experiments on outbred albino rats determined both general patterns and features of the cytokine balance changes depending on the nature of the influence of physical factors in the dynamics of development of disorders in immune system. The decrease of IL-10 level under the influence of vibration is observed in 15 days and the one under the influence of noise is observed in 60 days. The decrease of IL-1 $\beta$  in rats is typical only at the effects of noise in 30 days and doesn't change at the effect of vibration. It was concluded that changes in the contents of cytokines in experimental animals under the effect of general vibration and noise production rate shows different mechanisms basic for the regulation of immune response.

**Key words:** vibration, noise, cytokines, experimental animals (rats)

### ВВЕДЕНИЕ

Продолжающееся на современном этапе воздействие неблагоприятных физических факторов производственной среды на работающих диктует необходимость углубленного изучения механизмов формирования естественной резистентности организма в условиях воздействия различных физических факторов.

Все большую актуальность приобретают исследования, посвященные выяснению роли цитокинов в патогенезе заболеваний, обусловленных профессией. Известно, что цитокины регулируют развитие адекватного ответа на повреждение, обеспечивают его локализацию, удаление и восстановление поврежденных тканей. При массивном повреждении и несостоятельности местных защитных реакций синтез цитокинов резко возрастает [2, 7].

Имеются единичные данные по изучению изменений цитокинового статуса у пациентов с вибрационной

болезнью, индуцированной воздействием физических факторов [1, 4]. Между тем, крайне недостаточно исследований, касающихся изучения механизмов цитокиновой регуляции иммунного ответа при воздействии различных физических факторов на организм в зависимости от стадии формирования патологии.

В связи с вышеизложенным целью работы явилось выявление особенностей изменений цитокинового профиля у экспериментальных животных при воздействии общей вибрации и шума производственной частоты.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на беспородных белых крысах-самцах массой 160–200 г. Экспериментальные исследования выполнены на базе института АФ ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН в лаборатории токсикологии (к.м.н. А.В. Лизарев). Схема эксперимента была раз-

работана член-корр. РАМН, д.м.н., профессором В.С. Рукавишниковым, д.м.н. В.А. Панковым. Источником вибрации служил вибростенд ВЭДС–10а в модификации А.В. Громышева, В.А. Панкова (рацпредложение № 577 от 20.04.2011). Животные непрерывно, в течение 4 часов, 5 дней в неделю подвергались вибрационному воздействию с уровнем вибрации на основной частоте 40 Гц, составлявшем 138 дБ по виброускорению. Воздействие шумом проводили в экспериментальной камере, в которую подавали «белый шум» интенсивностью 100 дБА. Всего проведено по 4 серии исследований в течение 15, 30, 60 и 120 дней воздействия вибрации и шума. В качестве контроля использовали intactных крыс. Экспериментальных животных содержали в стандартных условиях вивария при естественном освещении в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей (Страсбург, 1986). Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществлялось в соответствии с требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к Приказу Минздрава СССР от 12.08.77 № 755). У всех животных определяли содержание цитокинов: интерлейкина-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), интерлейкина-10 (IL-10), фактора некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) в сыворотке крови с помощью тест-систем Bender MedSystems (Austria) методом ИФА. Статистическую обработку результатов осуществляли при помощи пакета прикладных программ Statistica 6.0. После проверки гипотезы о нормальности распределения (тест Шапиро – Уилка) для попарного сравнения количественных показателей был использован U-критерий Манна – Уитни. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Результаты исследований представлены в виде значения медианы (Me), верхнего и нижнего квартилей (Q25–Q75).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

IL-1 $\beta$  – многофункциональный цитокин с широким спектром действия, играющий ключевую роль в развитии и регуляции неспецифической защиты и специфического иммунитета. Он одним из первых включается в ответную защитную реакцию организма при действии патогенных факторов. Синтезируется и выделяется преимущественно макрофагами и моноцитами. В его продукции могут принимать участие лимфоциты, фибробласты [8]. Анализ содержания цитокинов в сыворотке крови у экспериментальных животных, под-

вергавшихся воздействию общей вибрации, позволил установить, что уровень IL-1 $\beta$  во все сроки наблюдения достоверно не превышал контрольных значений (табл. 1). Разброс значений показателя IL-1 $\beta$  (min–max) в 1-й срок воздействия вибрацией составил 1,71–28,85 пг/мл, во 2-й срок – 2,47–60,62 пг/мл, в 3-й срок – 4,74–30,86 пг/мл, в 4-й срок – 2,48–28,15 пг/мл. Вместе с тем на 15-й и 30-й дни после воздействия общей вибрации содержание сывороточной концентрации TNF- $\alpha$  у экспериментальных животных достоверно снижалось до 0,31 и 0,32 пг/мл соответственно, по сравнению с intactными животными. Диапазон разброса значений указанного показателя (min–max) в выборке обследованных животных составил 0,19–0,37 и 0,26–0,34 пг/мл соответственно. При продолжающемся воздействии вибрации в течение 60 дней концентрация указанного цитокина снижалась до 0,17 пг/мл, по сравнению с предшествующими сроками воздействия (размах значений – от 0,1 до 0,37 пг/мл). Следует отметить, что основными продуцентами TNF- $\alpha$  являются активированные липополисахаридами мононуклеарные фагоциты и антигенстимулированные Т-клетки. Появление этого цитокина в крови отмечается на самых ранних этапах развития патологического процесса, поскольку он обладает широким спектром регуляторной активности [3]. TNF- $\alpha$  обладает ярко выраженной плейотропией действия, вовлечен как в эффекторное, так и в регуляторное звено иммунологической реактивности организма человека.

IL-10 является важнейшим регулятором цитокинов, во многом определяющим направленность иммунной реакции: под действием IL-10 угнетается клеточный ответ (регулируется Т-хелперами 1-го типа) и усиливается гуморальный ответ (Т-хелперы 2-го типа) [6]. Исследование уровня противовоспалительного IL-10 в сыворотке крови животных показало снижение его через 15 дней воздействия в 2,4 раза ( $p < 0,05$ ), через 30 дней – в 5,9 раз ( $p < 0,05$ ), через 60 дней – в 3,2 раза ( $p < 0,05$ ) и через 120 дней – в 4,1 раза ( $p < 0,05$ ) относительно группы контроля. Наибольший размах значений IL-10 наблюдали в 1-й и 2-й сроки наблюдения (0,1–80,85 и 0,1–89,31 пг/мл соответственно). Полученные результаты согласуются с рядом исследований [1, 4], в которых у пациентов с вибрационной болезнью отмечали снижение активности IL-10. У грызунов IL-10 в большей степени отвечает за иммуносупрессивную роль при гиперактивности воспалительных реакций и синтезируется активированными Th2 [5].

При определении уровня TNF- $\alpha$  в сыворотке крови крыс, подвергавшихся воздействию шума, не было вы-

**Таблица 1**  
**Сравнительная оценка изменения цитокинового статуса у экспериментальных животных, подвергавшихся воздействию вибрации Me (Q25–Q75)**

| Показатели (пг/мл) | Контроль (n = 8)    | Группа 1, 15 дней (n = 8) | Группа 2, 30 дней (n = 8) | Группа 3, 60 дней (n = 8) | Группа 4, 120 дней (n = 6) |
|--------------------|---------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| IL-1 $\beta$       | 10,19 (0,3–14,08)   | 16,08 (8,5–24,07)         | 13,68 (7,37–26,78)        | 18,44 (8,62–24,87)        | 14,05 (7,25–24,76)         |
| IL-10              | 53,17 (36,43–70,94) | 28,71 (12,71–51,87)*      | 8,92 (2,99–35,22)*        | 16,68 (10,43–23,39)*      | 12,92 (7,55–25,01)*        |
| TNF- $\alpha$      | 0,65 (0,32–0,68)    | 0,31 (0,24–0,35)*         | 0,32 (0,26–0,34)*         | 0,17 (0,14–0,23)          | 0,39 (0,32–0,41)           |

**Примечание:** \* – различия достоверны относительно группы контроля при  $p < 0,05$ .

Таблица 2

Сравнительная оценка изменения цитокинового статуса у экспериментальных животных, подвергавшихся воздействию шума Me (Q25–Q75)

| Показатели (пг/мл) | Контроль (n = 8)    | Группа 1, 15 дней (n = 9) | Группа 2, 30 дней (n = 9) | Группа 3, 60 дней (n = 9) | Группа 4, 120 дней (n = 10) |
|--------------------|---------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| IL-1β              | 10,19 (0,3–14,08)   | 0,79 (0,4–2,94)*          | 1,26 (1,12–2,03)*         | 3,2 (1,6–3,6)*            | 2,37 (1,8–4,81)             |
| IL-10              | 53,17 (36,43–70,94) | 20,72 (16,18–60,95)       | 41,59 (31,19–59,67)       | 30,99 (27,22–41,92)*      | 48,51 (0,17–43,72)          |
| TNF-α              | 0,65 (0,32–0,68)    | 0,58 (0,22–0,93)          | 0,42 (0,27–0,45)          | 0,81 (0,3–1,79)           | 0,48 (0,16–1,01)            |

Примечание: \* – различия достоверны относительно группы контроля при  $p < 0,05$ .

явлено достоверных различий относительно группы контроля (0,58 пг/мл, 0,42 пг/мл, 0,81 пг/мл и 0,48 пг/мл через 15, 30, 60 и 120 дней обследования соответственно) (табл. 2). Диапазон разброса значений указанного показателя (min–max) в выборке обследованных животных составил 0,12–1,18 пг/мл, 0,1–3,42 пг/мл, 0,19–2,18 пг/мл и 0,08–3,32 пг/мл соответственно. Вместе с тем отмечено снижение содержания IL-1β у крыс, индуцированных воздействием шума, в 1-й срок воздействия до 0,79 пг/мл, во 2-й срок воздействия – до 1,26 пг/мл, в 3-й срок воздействия – до 3,2 пг/мл, по сравнению с группой контроля. Что касается противовоспалительного IL-10, то после 60 дней воздействия шумового раздражителя зарегистрировано достоверное снижение его концентрации в сыворотке крови животных до 30,99 пг/мл (в контроле – 53,17 пг/мл).

Результаты сравнительной оценки изменений цитокинового баланса у экспериментальных животных при воздействии общей вибрации и шума производственной частоты позволили выявить различия в изменении показателей иммунореактивности. А именно при воздействии шума на экспериментальных животных через 30 дней наблюдалось достоверное снижение сывороточного уровня IL-1β, по сравнению с группой животных, подвергающихся воздействию вибрации. Характер изменений провоспалительного цитокина TNF-α в группах обследованных животных не позволил выявить статистически значимых различий на протяжении всего срока наблюдения за экспериментальными животными. В то же время снижение содержания IL-10 наблюдалось у животных, подвергавшихся воздействию вибрации, через 15 дней и в группе животных, индуцированных воздействием шума, через 60 дней.

Таким образом, результаты экспериментального исследования позволили выявить как общие закономерности изменений сывороточных концентраций отдельных цитокинов, так и некоторые особенности. Так, при воздействии общей вибрации и шума наблюдается снижение уровня IL-10 через 15 дней при воздействии вибрации и через 60 дней при воздействии шума. Отличительные особенности характерны для IL-1β, среднее значение которого снижается при

воздействии шума через 30 дней и не изменяется при воздействии вибрации. Выявленные изменения в содержании цитокинов в сыворотке крови экспериментальных животных при воздействии общей вибрации и шума производственной частоты подтверждают результаты ранее выполненных клинических исследований, свидетельствующих о различных механизмах, лежащих в основе цитокиновой регуляции иммунного ответа. У работающих в контакте с шумом, локальной вибрацией и электромагнитными полями промышленной частоты наблюдались разнонаправленные изменения иммунологических показателей, свидетельствующих о различном участии иммунных реакций в ответ на действие физических факторов [4].

#### ЛИТЕРАТУРА

- Капустник В.А., Архипкина О.Л. Иммунные изменения у больных с вибрационной болезнью // Международный медицинский журнал. – 2010. – Т. 16, № 3. – С. 53–55.
- Кашаева Л.Н., Карзакова Л.М., Саперов В.Н., Орешников Е.В. Изучение цитокинового статуса при церебральном инсульте // Иммунология. – 2005. – № 3. – С. 161–164.
- Кубанова А.А., Маркушева Л.И., Фомина Е.Е. Уровень сывороточного фактора некроза опухоли при различных дерматозах // Иммунология. – 1998. – № 2. – С. 47–49.
- Рукавишников В.С., Бодиевкова Г.М., Боклаженко Е.В., Кротова О.Н. Сравнительная оценка иммунореактивности организма работающих при воздействии физических факторов различного этиогенеза // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2010. – № 4. – С. 51–53.
- Ярилин А.А. Иммунология. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2010. – 752 с.
- Asadullah K., Sterry W., Volk H.D. Interleukin-10 therapy – review of a new approach // Pharmacol. Rev. – 2003. – Vol. 55 (2). – P. 241–269.
- Bozz F.A., Salluh J.I., Japiassu A.M., Soares M. et al. Cytokine profiles as markers of disease severity in sepsis: a multiplex analysis // Crit. Care. – 2007. – Vol. 11. – P. 49.
- Dinarelli C.A. Biologic basis for interleukin-1 in disease // Blood. – 1996. – Vol. 87, N 6. – P. 2095–2140.

#### Сведения об авторах

**Курчевенко Светлана Ивановна** – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории иммунологии Ангарского филиала ФГБУ «Восточно-Сибирский научный центр экологии человека» СО РАМН (665827, г. Ангарск, 12а мкр., д. 3, а/я 1170; тел.: 8 (3955) 55-75-66; e-mail: svetlanakurchevenko@mail.ru)

**Бодиевкова Галина Михайловна** – доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией иммунологии Ангарского филиала ФГБУ «Восточно-Сибирский научный центр экологии человека» СО РАМН (тел.: 8 (3955) 55-75-66, 8 (3955) 55-40-92; e-mail: immunit1@yandex.ru)