

УДК 616-091.18-008.9:661.177

*О.В. Сіренко**Харківська медична академія післядипломної освіти*

ВПЛИВ СКЛАДНИХ ОРГАНІЧНИХ СУМІШЕЙ НА РІВЕНЬ РЕГУЛЯТОРНИХ ЦИТОКІНІВ ТА ПОКАЗНИКИ КЛІТИННОГО І ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ БІЛИХ ЩУРІВ

Встановлено, що субтоксичні дози складних органічних сумішей на основі поліолів за умов підгострого експерименту пригнічують фагоцитарну активність гранулоцитів білих щурів і мишей, негативно впливають на стан імунної системи, що проявлялося зменшенням пулу як Т-, так і В-лімфоцитів та їх популяцій, викликають дисбаланс регуляторних міжклітинних взаємодій унаслідок зменшення рівнів ІЛ-1 β , ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-8 і TNF- α і імуноглобулінів у сироватці крові щурів, що свідчить про порушення регуляторних механізмів формування імунної складової адаптації до навантаження органічними хімічними речовинами.

Ключові слова: цитокіни, клітинний і гуморальний імунітет, медіаторна регуляція.

Сьогодні в побуті та промисловості використовується багато хімічних речовин, деякі з яких негативно впливають на здоров'я людини навіть при надходженні в організм у незначних дозах, що може бути зумовлено виснаженням імунної системи, яка першою реагує на багатофакторні шкідливі чинники навколишнього середовища [1, 2]. Відомо, що порушення нейроімунної взаємодії є пусковим механізмом виникнення дисфункції імунної системи внаслідок зворотного зв'язку між нервовою та стимульованою імунною системами за умов навантаження хімічними сполуками [2]. Наявність у клітинах головного мозку рецепторів до великої кількості імуномодуючих біорегуляторів — цитокінів, які синтезуються як нейронами, так і імунокомпетентними клітинами, зумовлює взаємодію нервової та імунної систем, наприклад, встановлено єдність сфінгомієлінового шляху трансдукції сигналу ІЛ-1 для клітин нервової та імунної систем, а зміни інтенсивності цього сигналу відображають наявність і ступінь порушень гомеостазу організму [3].

Відомо, що ІЛ-6 є одним з регуляторів ліпідного та білкового обміну, він активує вивільнення ліпідів і глюкози в клітинах печінки та жирової тканини шляхом безпосереднього впливу цитокіну на внутрішньоклітинні ензими [4]. Біологічна роль ІЛ-6 — індукція відновлювальних механізмів,

до яких належать імунний захист, гальмування запальної реакції шляхом пригнічення синтезу фактора некрозу пухлин- α (TNF- α), стимуляція диференціювання Т- і В-лімфоцитів, проліферативних процесів у кістковому мозку. Зниження рівня даного цитокіну призводить до розвитку таких поширених хвороб сучасності, як цукровий діабет другого типу, ожиріння, атеросклероз, при цьому деякі патологічні стани (запалення, травма, інтоксикація різного генезу) стимулюють синтез ІЛ-6 активованими макрофагами, моноцитами та клітинами ендотелію [5].

Встановлено, що механізми індукованої клітинної цитотоксичності полягають у клональній експансії Т-індукторів цитотоксичних лімфоцитів шляхом презентації їм антигену і виділення ІЛ-1, після чого Т-індуктори починають виділяти ІЛ-2 та ІЛ-6, під впливом антигену на поверхні макрофага та даних інтерлейкінів попередники цитотоксичних лімфоцитів активуються, проліферують та диференціюють в ефектори цитотоксичності [6]. Автори відмічають, що провідним механізмом виникнення вторинного імунодефіциту при дії ксенобіотиків є пошкодження імунної системи у вигляді її виснаження, наприклад, хімічна імунодепресія внаслідок вживання фармацевтичних препаратів.

Оцінювання стану клітинного і гуморального імунітету і медіаторів нейроімун-

© О.В. Сіренко, 2011

них взаємодій (інтерлейкінів) важливе для визначення впливу ксенобіотиків на ліганд-рецепторні сигнальні механізми й уточнення стану гомеостазу організму за умов навантаження хімічними речовинами. Імунна система відіграє провідну роль у процесах своєчасного та адекватного формування реакцій адаптації до впливу хімічних патогенів. У зв'язку з цим метою роботи було дослідження стану клітинної та гуморальної ланок імунітету і динаміки регуляторних цитокінів у сироватці крові білих щурів, які отримували субтоксичні дози нових складних органічних сумішей на основі поліолів, що широко використовуються в народному господарстві.

Матеріал і методи. Підгострий експеримент тривалістю 60 діб проведено на 84 щурах популяції Вістар (самці і самиці) і 48 мишах гібридної лінії (СВА×С57ВL)×F1; BALB/С; СВА/Лас), які щоденно отримували внутрішньошлунково 1/100 DL₅₀ охолоджувальної рідини 40 (ОР-40) і охолоджувальної рідини 65 (ОР-65), що дорівнює 0,184 та 0,191 г/кг маси тіла відповідно. Контрольна група складалася з 12 інтактних щурів, які отримували по 2 мл водопровідної води. Дослідження виконували відповідно до загальних етичних вимог до експериментів, що проводять на тваринах [7]. Медіаторну функцію цитокінів оцінювали за допомогою

твердофазного імуноферментного аналізатора та діагностичної тест-системи фірми «Протеїновий контур» (СПб., Росія). Визначали вміст інтерлейкінів (ІЛ-1β, ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-8) і TNF-α. Регуляторний цитокін ІЛ-8 досліджували методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням тест-системи фірми «Diacclone» (Франція). Стан імунної системи оцінювали з використанням наборів моноклональних антитіл (CD3, CD4, CD8, CD19) методом імунофлюоресценції. Вміст ІgЕ, ІgD, ІgА, ІgМ, ІgG у сироватці крові визначали за допомогою імуноферментного аналізатора за інструкцією до приладу. Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням програми Statistica 4.5, результати визначали у вигляді середніх арифметичних та їхніх стандартних похибок, вірогідність різниці між величинами, що порівнювали, визначали за t-критерієм Стьюдента.

Результати та їх обговорення. Встановлено посилення фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів як щурів, так і мишей на 10-ту добу експерименту та зниження — на 60-ту, що може непрямо свідчити про зміну фази адаптивного напруження клітинної ланки імунітету на її виснаження. Дані щодо динаміки показників гуморальної ланки імунітету та цитокінів наприкінці експерименту наведені в таблиці.

Вплив 1/100 DL₅₀ охолоджувальних рідин на показники регуляторних цитокінів, клітинного і гуморального імунітету у сироватці і цільній крові білих щурів, (M±m) пкг/мл

Показник	Контроль	ОР-40	ОР-65
TNF-α	121,3±6,3	81,3±4,9*	77,9±5,3*
ІЛ-1β	49,3±2,5	20,9±1,3*	25,4±2,2*
ІЛ-2	63,7±4,7	32,6±1,9*	41,5±3,1*
ІЛ-4	45,2±2,7	28,6±1,7*	30,9±1,8*
ІЛ-6	36,2±1,7	20,9±1,4*	18,5±1,3*
ІЛ-8	46,5±2,1	22,4±1,8*	25,3±2,2*
IgA	55,3±2,8	30,3±2,4*	36,5±2,5*
IgM	43,1±1,8	29,8±1,9*	31,1±1,5*
IgG	57,8±2,9	33,2±1,8*	42,2±2,6*
IgE	23,8±1,5	15,7±1,3*	13,5±1,2*
IgD	23,3±1,5	11,6±1,3*	16,1±1,7*
T-лімфоцити (CD3)	895,0±13,1	612,3±9,6*	583,7±14,1*
T-хелпери (CD4)	365,9±8,4	237,5±8,4*	271,7±7,8*
T-супресори (CD8)	325,7±9,3	226,3±7,2*	198,2±6,4*
B-лімфоцити (CD19)	258,4±8,2	246,2±9,3	235,7±8,1*

* p<0,05; різниця показників при порівнянні з контролем достовірна.

В усіх випадках встановлено тенденцію до зниження рівнів регуляторних цитокінів, Т-лімфоцитів і показників гуморального імунітету в сироватці крові щурів. Різні цитокіни можуть діяти як синергісти або антагоністи, стимулювати або пригнічувати міжклітинні взаємозв'язки, змінювати функціональну активність імунної системи [5]. Зменшення пулу як Т-, так і В-лімфоцитів, імуноглобулінів усіх класів співвідноситься зі зниженням рівнів ІЛ-2, ІЛ-4 і ІЛ-6, які є позитивними регуляторами проліферації та диференціації імунокомпетентних клітин. Уведення субтоксичних доз охолоджувальних рідин призводило до зменшення вмісту ІЛ-1 β , TNF- α , ІЛ-6, ІЛ-2 і ІЛ-8 у сироватці крові щурів, що може бути наслідком інгібіції міжклітинних медіаторних зв'язків і гальмування цитокінсинтетичної функції мононуклеарів (моноцитів, макрофагів).

Цитокіни, які досліджували в експерименті, належать до позитивних регуляторів гемопоезу, що стимулюють відповідні ростки кровотворення [8]. Зменшення концентрації цитокінів узгоджується з визначеним зниженням вмісту Т-лімфоцитів у крові щурів. Так, від рівнів TNF- α , який є негативним регулятором гемопоезу, та ІЛ-4, що належить до антагоністів негативних регуляторів, залежить активність продукції Т-хелперів, показники яких у крові експериментальних тварин були вірогідно нижчими, ніж у контрольній групі. Інгібіція цитотоксичної активності непрямо підтверджувалася також зменшенням рівнів Т-супресорів, які активуються ІЛ-6 та ІЛ-8. Зниження концентрації саме цих інтерлейкінів, що є активаторами більшості імунних реакцій, може зумовлювати пригнічення як клітинної, так і гуморальної ланок імунної системи експериментальних тварин. Зменшення вмісту ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-2 і TNF- α в сироватці крові щурів опосередковано дозволяє припустити гальмування активності великих гранулярних лімфоцитів і Т-кілерів, які відіграють провідну цитотоксичну роль в організмі та безпосередньо руйнують чужинні, інфіковані та пухлинні клітини [8, 9].

Зареєстроване зниження концентрації імуноглобулінів усіх класів може бути наслідком порушення складними органічними сумішами проліферації і функціональної активності В-лімфоцитів. Відомо, що рівні імуноглобулінів, особливо класу G, є ко-

ректним показником адаптивних здатностей організму, а зниження їх вмісту в сироватці крові корелює з іншими проявами дезадаптації, наприклад, виникненням хронічних захворювань [8, 10]. Імуноглобуліни синтезуються у відповідь на надходження в організм чужорідного чинника та беруть участь у його нейтралізації, отже, зниження їх рівнів у сироватці крові щурів безпосередньо свідчить про порушення антитілозалежної клітинної цитотоксичності та виснаження функціональної активності В-лімфоцитів і плазмоцитів.

Таким чином, вплив складних органічних сумішей призводив до інгібіції проліферативної та функціональної активності обох ланцюгів імунної системи, порушував міжклітинну медіаторну взаємодію, що зумовлює зниження адаптивних можливостей імунітету. Через експериментально встановлене пригнічення клітинної та гуморальної ланок імунної системи і суттєве зменшення концентрації цитокінів у сироватці крові щурів ми припускаємо здатність субтоксичних доз ОР-40 і ОР-65 негативно впливати також на проліферацію і диференціацію клітин інших кровотворних ростків.

Висновки

1. Уведення 1/100 DL₅₀ охолоджувальної рідини 40 і охолоджувальної рідини 65 експериментальним тваринам призводить до пригнічення проліферації та диференціації Т-лімфоцитів та їх популяцій, що негативно впливає на клітинну складову адаптивного імунітету.

2. Зниження концентрації імуноглобулінів усіх класів у сироватці крові та В-лімфоцитів у крові щурів під впливом 1/100 DL₅₀ органічних сумішей свідчить про інгібіцію антитілопродукуючої функції гуморальної ланки імунітету.

3. Уведення субтоксичних доз охолоджувальних рідин призводить до зменшення рівнів ІЛ-1 β , ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-8 і TNF- α в сироватці крові щурів, що свідчить про порушення медіаторного міжклітинного зв'язку та регуляторних механізмів формування імунної складової адаптації до навантаження ксенобіотиками.

Дослідження впливу нових складних органічних сумішей на стан нервової системи є перспективою подальшого пошуку механізмів адаптації та порушень гомеостазу за умов дії агресивних хімічних речовин.

Список літератури

1. Дослідження імунотоксичної дії потенційно небезпечних хімічних речовин при їх гігієнічній регламентації : метод. рекомендації / Ін-т екологієни і токсикології ім. Л. І. Медведя МОЗ України // Зб. нормативних документів з охорони здоров'я. — 2003. — № 8 (31). — С. 149–168.
2. Болтіна І. В. Використання методу культивування лімфоцитів периферичної крові людини *in vitro* для вивчення токсичних ефектів об'єктів навколишнього середовища / І. В. Болтіна // Проблеми діагностики, профілактики та лікування екзогенних та ендогенних інтоксикацій : наук.-практ. конф., м. Чернівці, 13–14 жовтня 2009 р. : матеріали конф. — Чернівці, 2009. — С. 110.
3. Дем'янов А. В. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике / А. В. Дем'янов, А. Ю. Котов, А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. — 2003. — № 2 (3). — С. 20–35.
4. Імунна система та адаптаційні механізми в захисті організму людини від агресивних екологічних факторів навколишнього середовища / Е. М. Солошенко, Ю. Д. Войчук, І. О. Ключкова, Л. М. Потапова // Сучасні проблеми медичної науки та освіти. — 2004. — № 3. — С. 60–63.
5. Шварц В. Регуляция метаболических процессов интерлейкином-6 / В. Шварц // Цитокины и воспаление. — 2009. — Т. 8, № 3. — С. 3–10.
6. Физиология иммунной системы и экология / В. А. Черешнев, Н. Н. Кеворкян, Б. А. Бахметьев [и др.] // Иммунология. — 2001. — № 3. — С. 12–16.
7. Руднева Е. Хельсинская декларация этических принципов: версия 2008 г. / Е. Руднева // Український медичний часопис. — 2009. — № 1 (69), ч. I/II. — С. 107–112.
8. Human intestinal epithelial cells secrete interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-8 but not interleukin-1 or interleukin-6 / R. Daig, G. Pogler, E. Aschenbrenner [et al.] // Amer. J. Gastroenterol., Gut. — 2000. — V. 46 (3). — P. 350–358.
9. Багмут І. Ю. Вплив поліоксипропіленполіолу М. М. 500 на клітинний і гуморальний імунітет у підгострому догляді / І. Ю. Багмут // Одеський медичний журнал. — 2010. — № 1 (117). — С. 16–19.
10. Arginine metabolic pathways determine its therapeutic benefit in experimental heatstroke: role of Th1/Th2 cytokine balance / S. Chatterjee, S. Premachandran, R. S. Bagewadkar [et al.] // Nitric Oxide. — 2006. — V. 15. — P. 408–416.

Е.В. Сиренко

ВЛИЯНИЕ СЛОЖНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ СМЕСЕЙ НА УРОВЕНЬ РЕГУЛЯТОРНЫХ ЦИТОКИНОВ И ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО И ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА БЕЛЫХ КРЫС

Установлено, что субтоксические дозы сложных органических смесей на основе полиолов в условиях подострого эксперимента угнетают фагоцитарную активность гранулоцитов белых мышей и крыс, негативно влияют на состояние иммунной системы, что проявлялось уменьшением пула как Т-, так и В-лимфоцитов и их популяций, вызывают дисбаланс регуляторных межклеточных взаимодействий в результате уменьшения концентрации IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8 и TNF- α и иммуноглобулинов в сыворотке крови крыс, что свидетельствует о нарушении регуляторных механизмов формирования иммунной составляющей адаптации к нагрузке органическими химическими веществами.

Ключевые слова: цитокины, клеточный и гуморальный иммунитет, медиаторная регуляция.

Е.V. Sirenko

INFLUENCE OF DIFFICULT ORGANIC MIXTURES ON REGULATOR CITOKINES LEVEL AND INDEXES OF CELLULAR AND GUMORAL IMMUNITY OF WHITE RATS

It is determined, that the subtoxic doses of difficult organic mixtures based on polyols in the conditions of subsharp experiment oppress fagocitation activity of granulocytes of white mice and rats, negatively influence on the immune system, that showed up diminishing of pool T-, so B-limphocytes and their populations, does cause the disbalance of regulatory intercellular co-operations as a result of diminishing of concentration IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8 and TNF- α and immunoproteins in the blood serum of rats, that testifies to violation of regulatory mechanisms of forming of immune making adaptation to loading organic chemical matters.

Key words: citokines, cellular and gumoral immunity, mediator regulation.

Поступила 26.09.11