

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦИТОКИНОВ, КАК МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ

(краткий обзор литературы 2015–2017 гг.)

И.В. ТЕРЕХОВ, О.А. БОРИСОВА, Е.А. БЕЛЯЕВА, Д.В. ИВАНОВ

Тульский государственный университет, медицинский институт, Тула

Исследование цитокинового профиля является актуальным не только с позиций научных исследований, но и в прикладном аспекте — для реальной клинической практики.

В обзоре представлена информация об изменениях цитокинового профиля у новорожденных с задержкой внутриутробного развития, у пациентов с бронхо-легочными заболеваниями в зависимости от фазы патологического процесса и под влиянием воздействия терапевтических физических факторов и у лиц, страдающих ишемической болезнью сердца.

Ключевые слова: цитокиновый статус, интерлейкины, фактор некроза опухоли, респираторные инфекции, ишемическая болезнь сердца, электромагнитные воздействия.

Исследование цитокинового профиля является актуальным не только с позиций научных исследований, но и в прикладном аспекте — для реальной клинической практики.

Важным информативным показателем состояния иммунной системы новорожденного в периоде адаптации является уровень продукции цитокинов. Изучалась продукция про- и провоспалительных цитокинов и их связи с течением постнатальной адаптации у новорожденных с задержкой внутриутробного развития. Оценивались следующие показатели: противовоспалительный цитокин ИЛ-4, провоспалительный цитокин ИЛ-6, фактор некроза опухоли в периферической крови новорожденных. Обследованы следующие группы детей: всего 76 доношенных новорожденных с задержкой внутриутробного развития (ЗВУР). У 45 новорожденных с гипотрофическим вариантом, у 31 — с гипопластическим вариантом ЗВУР и 20 здоровых доношенных новорожденных определены ИЛ-4, ИЛ-6, фактор некроза опухоли в периферической крови методом иммуноферментного анализа с использованием тест-системы фирмы «Вектор-Бест». Результаты и обсуждение. Изучены концентрации цитокинов: ИЛ-4,6 и фактора некроза опухоли в периферической крови доношенных новорожденных с задержкой внутриутробного развития в зависимости от ее варианта, течения антенатального периода и постнатальной адаптации. Выявлено повышенное содержание ИЛ-6 и фактора некроза опухоли у новорожденных с гипотрофическим вариантом, при многоводии, инфекционно-воспалительных заболева-

ниях и анемии у матери, снижение концентрации при преэклампсии. ИЛ-4 не имел значимой связи с патологическими состояниями матери и ребенка. Оценка иммунологического статуса может иметь прогностическое значение в плане развития инфекционно-воспалительных заболеваний у новорожденных с задержкой внутриутробного развития. Изучение цитокинов про- и провоспалительного профиля у доношенных новорожденных показало низкую информативность противовоспалительного цитокина ИЛ-4 и высокую информативность ИЛ-6 и фактора некроза опухоли, как при различных вариантах задержки внутриутробного развития, выявило зависимость от течения антенатального периода и постнатальной адаптации данной категории детей [1].

Представляет интерес исследование цитокинового профиля и его изменений под воздействием физических факторов у пациентов с бронхолегочными заболеваниями.

Было выполнено исследование цитокинового статуса часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой, а также клинических проявлений инфекционно-аллергической патологии до и после лечения. Обследовано 215 детей, которые были разделены на 3 группы: 58 здоровых детей (1 группа — контрольная), 74 ребенка (группа 2) — часто болеющие дети, 83 ребенка (группа 3) — дети с бронхиальной астмой. Детям групп 2 и 3 проводили базисную терапию, которую дополняли иммунокорректирующей терапией. После проведенного лечения установлено снижение частоты жалоб и симптомов заболеваний: двукратное уменьшение обострений брон-

химальной астмой и частоты острых респираторных вирусных инфекций у часто болеющих детей, что сопровождалось изменениями показателей иммунной системы. Выявлено снижение уровней иммуноглобулина Е, уменьшение концентраций интерлейкина 4 и фактора некроза опухоли- α , более выраженное у детей с бронхиальной астмой. Сделано заключение, что изменения состояния иммунной системы детей обеих групп имеют одну направленность и сходную динамику, но более выраженной является их динамика после лечения у больных с бронхиальной астмой. Необходимо совершенствование диагностики и ведения детей с бронхиальной астмой и часто болеющих детей с учетом патогенетической роли изменений гуморального иммунитета и цитокинового статуса [8].

В исследовании на модели взаимодействий клеток цельной крови находящихся в условиях естественного микроокружения изучалось состояние *MAPK/SAPK*-сигнального пути в агранулоцитах и влияние на него низкоинтенсивного СВЧ-излучения частотой 1000 МГц, была выявлена активация *MAPK/SAPK*-сигнального пути в постклиническую фазу инфекционно-воспалительного процесса у реконвалесцентов внебольничной бактериальной пневмонии, проявлявшаяся повышением в агранулоцитах цельной крови фосфорилированной формы протеинкиназы *MEK1* на 90,5 % ($p=0,06$), *JNK1/2* на 7,0 % ($p=0,8$), *p38MAPK* на 2,6 % ($p=0,6$). Кроме того в клетках отмечено снижение уровня фосфорилирования терминальной протеинкиназы *ERK1/2* на 11,5 % ($p=0,012$). Спустя 24 часа после однократного облучения клеток цельной крови пациентов с субклиническим воспалительным процессом, в агранулоцитах выявлено статистически значимое повышение уровня фосфорилирования протеинкиназы *MEK1* на 41,6 %, *p38MAPK* на 128,2 %, *JNK1/2* на 29,6 % и *ERK1/2* на 48,8 %. Выявленные эффекты развиваются уже спустя 3 часа после однократного воздействия на клетки излучением плотностью потока мощности 100 нВт/см². В облученных агранулоцитах здоровых лиц уровень фосфорилированной формы *MEK1* статистически значимо возрос на 152,0 %, *p38MAPK* на 213,3 %, *JNK1/2* на 46,2 %, *ERK1/2* на 28,5 % [3].

Интересен характер взаимосвязей экспрессии паттерн-распознающих рецепторов и содержания в мононуклеарных лейкоцитах терминальных протеинкиназ *MAPK/SAPK*-сигнального пути (*ERK1/2*, *JNK1/2*, *p38*) в постклиническую фазу острого инфекционно-воспалительного процесса у больных с пневмонией. Методом канонического анализа оценена взаимосвязь уровня фосфорилирования протеинкиназ *ERK1/2*, *JNK1/2*, *p38*

и экспрессии *TLR2*, *TLR4*, *NOD2*, *NLRX1*, *NLRP3*, *NLRP10*, характеризующих состояние неспецифической противоинойфекционной защиты. Результаты анализа выявили взаимосвязь уровня фосфорилирования протеинкиназ с экспрессией *TLR2*, *NOD2*, *NLRX1* и *NLRP3*, свидетельствуя о важной роли сигнального пути в регуляции неспецифической резистентности и защиты от бактериальных и вирусных инвазий [10].

Проведено изучение содержания в мононуклеарных клетках цельной крови у больных пневмонией и практически здоровых лиц компонентов, определяющих активность перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантной защиты под влиянием низкоинтенсивного микроволнового излучения частотой 1 ГГц. Обследовано 30 больных с внебольничной пневмонией и 15 практически здоровых лиц в возрасте 20–35 лет. Методом иммуноферментного анализа в клеточных супернатантах и лизатах мононуклеарных клеток цельной крови определяли уровень антиоксидантов, тиоловых соединений, компонентов *MAPK/SAPK*-сигнального пути, *I κ B α* , а также ферментов (тиоредоксинредуктазы, глутатионпероксидазы, супероксиддисмутазы — СОД). Результаты исследования показали, что у лиц, перенесших ВП, имеет место снижение уровня антиоксидантов на 6,9%, концентрации тиоловых соединений — на 13,9%, содержания СОД — на 17,3%, определяющее дефицит у таких больных антиоксидантной защиты. Однократное воздействие на культуру клеток цельной крови электромагнитным излучением нетепловой мощности частотой 1 ГГц (спустя 24 часа после облучения) — проявляется статистически значимым повышением уровня антиоксидантов на 2,9%, тиолов — на 1,8%, СОД — на 3,4%, глутатионпероксидазы — на 1,3%. Установлено, что облучение крови способствует сокращению различий между практически здоровыми лицами и реконвалесцентами внебольничной пневмонией по содержанию в клеточных супернатантах антиоксидантов, СОД и тиолов. Полученные результаты позволяют полагать, что биологические эффекты низкоинтенсивных микроволн частотой 1 ГГц опосредованы изменением степени фосфорилирования терминальных протеинкиназ *MAPK/SAPK*-сигнального пути и *I κ B α* [12].

При исследовании цитокинового профиля у лиц с субклиническим иммуновоспалительным процессом на примере фазы реконвалесценции внебольничной пневмонии с изучением биологического эффекта облучения клеток цельной крови низкоинтенсивным микроволновым излучением частотой 1 ГГц с помощью аппарата физио-

терапии «Акватон» методом иммуноферментного анализа в супернатантах культуры клеток цельной крови пациентов с внебольничной бактериальной пневмонией на 14–20 сутки заболевания определяли концентрацию интерлейкинов (ИЛ): ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-11, ИЛ-12 (*p40* и *p70*), ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17А, ИЛ-18, ИЛ-19, ИЛ-21, ИЛ-22, ИЛ-23, ИЛ-24, ИЛ-28А, факторов роста — *G-CSF*, *TGF-β*, *FGF-β*, *VEGF-A*, *VEGF-C*, а так же концентрацию растворимых форм рецепторов цитокинов — ИЛ-2, ИЛ-4 и *VEGF*. Проведенный анализ показал сохранение у пациентов, перенесших внебольничную пневмонию статистически значимого повышения продукции ИЛ-2, -13, -18, -19, -21, -23, -24, *FGF-β*, а так же растворимой формы рецептора I-типа к *VEGF* и ИЛ-4. Установлено активирующее действие низкоинтенсивной микроволновой терапии, реализуемой с помощью аппарата «Акватон», на продукцию клетками цельной крови факторов роста (*VEGF-A*, *VEGF-C*, *TGF-β*) и цитокинов (ИЛ-21, ИЛ-22, ИЛ-15, ИЛ-12, ИЛ-28А). Спустя 3 часа после воздействия отмечено угнетение продукции ИЛ-2, ИЛ-19 и ИЛ-13. Показано, что эффекты облучения проявляются спустя 3 часа и регистрируются в течение суток после прекращения облучения [4].

В исследовании терминальных компонентов *il1/toll* и *nf-κb* сигнальных путей в мононуклеарах цельной крови у реконвалесцентов пневмонии обсуждается содержание в мононуклеарных лейкоцитах (МНК) ключевых компонентов *IL1/TOLL*-сигнального пути, включая фактор транскрипции *AP-1*, субъединицы *p50* фактора транскрипции *NF-κB*, киназы *TBK1*, каспазы-1 а так же проинтерлейкина-1, ИЛ-4, -10, -12, -17 А. Показано, что у пациентов, перенесших инфекционно-воспалительный процесс наблюдается дефицит *p50*, снижение активности ингибитора ядерного фактора *NF-κB* (*IκB*), повышенный уровень *AP-1*, снижение продукции ИЛ-4, ИЛ-17А, проИЛ-1, на фоне повышения в клетке уровня каспазы-1 и содержания *TBK1*. На фоне облучения цельной крови низкоинтенсивным микроволновым излучением частотой 1 ГГц наблюдается тенденция к нормализации уровня *IκB*, *AP-1*, *TBK1*, каспазы-1 [7].

Также рассматривается влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения частотой 1 ГГц на состояние неспецифической противовирусной защиты организма человека и животных. Исследовано влияние микроволн частотой 1 ГГц на экспрессию клетками цельной крови рецепторов паттернов патогенности, в частности, *TLR4*, *NLRP10*, *NLRP12*, *NLRP3*, *NLRX1*, а так же *RIG-I*-зависимой хеликазы *LGP2*. Проведенный

анализ показал, что микроволны частотой 1 ГГц в большей степени стимулирует повышение экспрессии *TLR4* и *NLRX1*. Кроме того в облученных клетках снижается уровень белков *RNF125* и *OTUD5*, что определяет ускорение процессов биодegradации внутриклеточных пептидов, в том числе, вирусной природы. Показана возможность стимуляции микроволнами продукции интерферона и содержания в мононуклеарных лейкоцитах цельной крови регуляторов противовирусной защиты, в частности хеликазы *LGP2* при 20-ти минутной экспозиции облучения [11].

Обсуждается содержание в мононуклеарных лейкоцитах (МНК) отдельных нерцепторных тирозиновых протеинкиназ семейства *src* (*FRK*, *FYN*, *LYN*, *LCK*) и влияние на их уровень низкоинтенсивного излучения частотой 1 ГГц. У пациентов в постклиническую фазу инфекционно-воспалительного процесса, а так же у здоровых лиц, показана чувствительность внутриклеточных сигнальных систем, регулируемых протеинкиназами семейства *src* к воздействию низкоинтенсивных микроволн. Показана потенциальная способность микроволн модулировать разнообразные процессы, за счет изменения содержания в клетках исследованных протеинкиназ. При этом облучение выступает в роли антионкогена, способствуя повышению содержания в МНК факторов, являющихся негативными регуляторами клеточной пролиферации. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о перспективности дальнейших исследований биологических эффектов низкоинтенсивного излучения частотой 1 ГГц с точки зрения их применения в комплексном лечении и реабилитации пациентов с соматической патологией, в том числе опухолевого генеза [5].

У больных с внебольничной пневмонией и у практически здоровых лиц в мононуклеарных клетках периферической крови методом иммуноферментного анализа исследовано содержание компонентов сигнальной системы *G*-белков, а также влияние на их содержание низкоинтенсивного электромагнитного излучения частотой 1 ГГц. Результаты проведенного анализа показали, что постклиническая фаза внебольничной пневмонии протекает на фоне повышенного уровня в МНК субъединицы $\alpha 1$ *G*-белка и $\gamma 12$. При этом уровень белков *RGS1* и *RGS2* у больных с пневмонией был ниже показателей практически здоровых лиц. Анализ последствий однократного кратковременного воздействия на клетки цельной крови микроволн частотой 1 ГГц выявил повышение в МНК уже спустя 3 часа после воздействия содержания субъединиц *G*-белков

и $\gamma 12$, протекавшее на фоне снижения уровня протеинов *RGS1* и *RGS2*. Указанные обстоятельства свидетельствуют об активирующем влиянии электромагнитных излучений нетепловой мощности на метаболические процессы в клетках, за счет изменения активности системы вторичных посредников, ассоциированных с G-белками [6].

У пациентов с ишемической болезнью сердца в межклеточной жидкости исследована концентрация цитокинов семейства ИЛ-10 (ИЛ-10, ИЛ-22, ИЛ-24), ИФН- γ , растворимых форм ко-стимуляторных молекул CD28, CD80, CD152, а так же NO. Кроме того, в агранулоцитах обследованных больных исследован уровень каспазы-1, индуцибельной и эндотелиальной форм синтаз NO (eNOS, iNOS), протеинкиназы АКТ1 и АМРК, так же оценена общая антиоксидантная активность клеточного супернатанта. В проведенном исследовании (in vitro) оценено влияние на продукцию указанных медиаторов низкоинтенсивного микроволнового излучения частотой 1000 МГц, генерируемого аппаратом низкоинтенсивной физиотерапии «Акватон». Материалом исследования служила цельная венозная кровь пациентов со стенокардией напряжения и острым коронарным синдромом. Проведенный анализ результатов показал, что в сравнении с практически здоровыми лицами у пациентов с ишемической болезнью сердца в межклеточной жидкости имеется снижение уровня NO, ИЛ-24, а так же повышение продукции ИЛ-10, ИЛ-22 и концентрации растворимых форм CD28, CD80, CD152. На фоне однократного облучения культуры клеток цельной крови низкоинтенсивным микроволновым излучением частотой 1000 МГц у пациентов со стенокардией напряжения и острым коронарным синдромом отмечено повышение продукции NO на 20,6 и 25,5%, ИЛ-24 на 18,6 и 33,6%, снижение внутриклеточного содержания каспазы-1 на 25,8 и 32,5%, повышение уровня ИЛ-10 на 3,5 и 3,1%, ИЛ-22 на 28,7 и 26,5%, увеличение уровня CD28 на 3,6 и 3,9%, CD80 на 6,8 и 5,7%, CD152 на 9,4 и 11,3% соответственно. Кроме того, под влиянием облучения отмечается повышение в межклеточной жидкости уровня антиоксидантов на 49,2 и 37,1% [9].

Исследованы молекулярные показатели, отражающие состояние стресс-лимитирующих систем мононуклеарных лейкоцитов цельной крови, а так же влияние на эти системы низкоинтенсивного СВЧ-излучения у пациентов с ишемической болезнью сердца. В работе оценивалась концентрация в клетках компонентов PI3P/АКТ/*mTOR/p70S6K1*- сигнального пути, белков теплового шока (БТШ27, БТШ70, БТШ90), концен-

трация антиоксидантов и перекисей в зависимости от уровня фосфорилирования терминальной протеинкиназы MAPK/SAPK-сигнального пути — p38. В результате исследования у пациентов с ишемической болезнью сердца установлена зависимость уровня исследованных факторов от степени фосфорилирования p38. Показана чувствительность p38 к воздействию низкоинтенсивного СВЧ-излучения, проявляющаяся повышением уровня ее фосфорилирования в облученных культурах. Кроме того, в исследовании выявлена чувствительность к низкоинтенсивному СВЧ-облучению содержания в мононуклеарах фосфорилированных форм протеинкиназ АМРК, АКТ1, p70S6K1, а так же антиоксидантного статуса и протеина p53, зависящая от исходного содержания в клетке фосфорилированной формы p38. Выявлена способность микроволнового излучения снижать содержание в клетках протеинкиназы АКТ и p70 более выраженная при высоком уровне фосфорилирования p38 [2].

ЛИТЕРАТУРА

1. Бахмутова Л.А., Штепо М.В., Палкина Е.В., Шустова С.С., Лапекко С.В. Клиническое значение показателей цитокинового статуса в оценке течения постнатальной адаптации детей с задержкой внутриутробного развития // Вестник новых медицинских технологий. 2016. №4. С. 183–187.
2. Бондарь С.С., Логаткина А.В., Терехов И.В. Зависимость содержания отдельных молекул в агранулоцитах цельной крови при ишемической болезни сердца от уровня фосфорилирования протеинкиназы p38 на фоне низкоинтенсивного СВЧ-облучения // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2016. №1. Публикация 2-6. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2016-1/2-6.pdf> (дата обращения: 10.02.2016). DOI: 10.12737/18561.
3. Бондарь С.С., Логаткина А.В., Терехов И.В. Состояние mapk/sapk-сигнального пути в агранулоцитах цельной крови в постклиническом периоде инфекционно-воспалительного процесса под влиянием низкоинтенсивного электромагнитного излучения частотой 1000 МГц // Вестник новых медицинских технологий. 2016. №1. С. 142–151. DOI: 10.12737/18500
4. Бондарь С.С., Терехов И.В., Воеводин А.А. Продукция цитокинов клетками цельной крови в постклиническую фазу внебольничной пневмонии под влиянием низкоинтенсивного микроволнового излучения частотой 1 ГГц // Вестник новых медицинских технологий. 2016. Т. 23, № 3. С. 112–121. DOI:10.12737/21756.
5. Бондарь С.С., Терехов И.В., Воеводин А.А. Содержание в мононуклеарных клетках цельной крови нерецепторных src-киназ при субклиническом иммунно-воспалительном процессе под влиянием микроволн частотой 1 ГГц // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2016. №3.

- Публикация 2-23. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2016-3/2-23.pdf> (дата обращения: 17.09.2016). DOI: 12737/21558.
6. Бондарь С.С., Терехов И.В., Парфенюк В.К. Содержание в мононуклеарных клетках периферической крови у больных внебольничной пневмонией компонентов g-белков под влиянием низкоинтенсивных микроволн частотой 1 ГГц // Вестник новых медицинских технологий. 2017. №2. С. 2–23.
7. Воеводин А.А., Бондарь С.С., Терехов И.В. Терминальные компоненты il1/toll и nf- κ b сигнальных путей в мононуклеарах цельной крови у реконвалесцентов пневмонии и возможность их коррекции низкоинтенсивным излучением частотой 1 гцц // Вестник новых медицинских технологий. 2016. Т. 23, № 3. С. 122–129. DOI:10.12737/21757
8. Калматов Р.К. Цитокиновый статус часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой до и после лечения // Вестник новых медицинских технологий. 2016. №4. С. 112–118
9. Логаткина А.В., Бондарь С.С., Аржников В.В., Терехов И.В. Продукция цитокинов, растворимых форм костимуля- торных молекул и окиси азота у пациентов с ишемической болезнью сердца на фоне низкоинтенсивной микроволновой терапии // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2016. №1. Публикация 2-5. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2016-1/2-5.pdf> (дата обращения: 10.02.2016). DOI: 10.12737/18560.
10. Терехов И.В., Гук О.В., Бондарь С.С. Факторный анализ экспрессии паттерн-распознающих рецепторов и терминальных протеинкиназ тарк/sарк сигнального пути у реконвалесцентов внебольничной пневмонии // Вестник новых медицинских технологий. 2017. №3. С. 156–162.
11. Терехов И.В., Хадарцев А.А., Бондарь С.С., Воеводин А.А. Экспрессия toll- и pod-подобных рецепторов, уровень в мононуклеарных клетках цельной крови регуляторных факторов противовирусной защиты и продукция интерферо- на под влиянием низкоинтенсивного микроволнового излучения частотой 1 ГГц // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2016. №3. Публикация 2-22. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2016-3/2-22.pdf> (дата обращения: 17.09.2016). DOI: 12737/21557.
12. Хадарцев А.А., Терехов И.В., Бондарь С.С., Парфенюк В.К., Бондарь Н.В. Состояние антиоксидантной защиты в постклиническую фазу внебольничной пневмонии под влиянием низкоинтенсивного микроволнового излучения частотой 1 ГГц // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2017. №2. Публикация 2-14. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2017-2/2-14.pdf> (дата обращения: 19.05.2017). DOI: 10.12737/article_5922bc38b22895.03383980.

DETERMINATION OF CYTOKINES AS MARKERS OF INFLAMMATION

(short review of the literature 2015–2017)

I.V. TEREKHOV, O.A. BORISOV, E.A. BELYAEVA, D.V. IVANOV

The study of the cytokine profile is relevant not only from the positions of scientific research, but also in the applied aspect — for real clinical practice.

The review presents information on changes in the cytokine profile in newborns with a delay in intrauterine development, in patients with bronchopulmonary diseases, depending on the phase of the pathological process and under the influence of therapeutic physical factors and in persons suffering from coronary heart disease.

Keywords: cytokine status, interleukins, tumor necrosis factor, respiratory infections, ischemic heart disease, electromagnetic effects.