

ОЦЕНКА ЦИТОКИНОВ И БЕЛКА ТЕПЛООВОГО ШОКА ПРИ ВИБРАЦИОННОЙ БОЛЕЗНИ

Бодиенкова Г.М., Курчевенко С.И.

ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», г. Ангарск, Россия

Резюме. Длительное воздействие производственной вибрации на рабочих приводит к развитию вибрационной болезни (ВБ), которая занимает лидирующие позиции в структуре профессиональной патологии. ВБ от воздействия локальной вибрации представляет собой хроническое профессиональное заболевание с преимущественным поражением нервной, сосудистой системы и опорно-двигательного аппарата верхних и нижних конечностей. Одним из реальных путей снижения заболеваемости является раннее выявление негативного воздействия вибрации на организм работников. В связи с этим цитокины и белки теплового шока (БТШ) могут быть ранними и чувствительными показателями, отражающими степень выраженности нарушений здоровья от воздействия вибрации. Целью исследования явилось изучение изменений в содержании про- и противовоспалительных цитокинов, внеклеточного БТШ70 и их взаимосвязь у пациентов с ВБ. В иммунологическое исследование включено 43 пациента мужского пола с диагнозом ВБ. Критериями включения в данную группу были: верифицированный диагноз, письменное информированное согласие на участие в исследовании, вредное воздействие локальной вибрации на производстве. По данным гигиенического контроля, условия труда рабочих виброопасных профессий относятся к 4 (опасному) классу за счет интенсивной локальной вибрации. Содержание цитокинов IL-1 β , IL-8, IL-10, TNF α и БТШ70 в сыворотке крови пациентов определяли иммуноферментным анализом. Забор крови для исследования у пациентов брали однократно при поступлении в стационар до проведения лечения. Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакетов прикладных программ Statistica for Windows 6.0 и Microsoft Excel. Установлено, что развитие заболевания ВБ сопровождается дисбалансом цитокинового профиля, характеризующимся снижением уровней IL-1 β , IL-10 и повышением IL-8. Угнетение продукции IL-1 β и IL-10 является следствием сформировавшегося хронического процесса в организме обследованных пациентов. А выявленное снижение внеклеточной концентрации БТШ70 по сравнению с практически здоровыми людьми может быть обусловлено накоплением его внутри клетки или на ее поверхности. Корреляционный анализ позволил выявить зависимость между снижением содержания БТШ70 и возрастом уровня IL-1 β , и снижением уровня IL-10. Синтез БТШ является внутриклеточным защитным механизмом, предотвращающим повреждение клеток, путем активации синтеза и секреции провоспалительных цитокинов. Полученные взаимоотношения между цитокинами и БТШ70 свидетельствуют о вовлеченности БТШ70 в иммуновоспалительные процессы при ВБ. Выявленные изменения способствуют хронизации воспалительного процесса и обосновывают прогрессирующее течение ВБ.

Ключевые слова: цитокины, белок теплового шока 70, пациенты с ВБ, иммунореактивность

EVALUATION OF CYTOKINES AND HEAT SHOCK PROTEIN IN VIBRATION DISEASE

Bodienkova G.M., Kurchevenko S.I.

East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, Russian Federation

Abstract. The prolonged impact of industrial vibration on workers leads to the development of a vibrational disease (VB), which occupies a leading position in the structure of occupational pathology. VB from the impact of local vibration is a chronic occupational disease characterized by a predominant lesion of the nervous,

Адрес для переписки:

Бодиенкова Галина Михайловна
ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований»
665827, Россия, Иркутская область, г. Ангарск, 12а микрорайон, 3.
Тел.: 8 (3955) 55-75-66.
E-mail: immun11@yandex.ru

Address for correspondence:

Bodienkova Galina M.
East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research
665827, Russian Federation, Irkutsk Region, Angarsk,
Quarter 12a, 3.
Phone: 7 (3955) 55-75-66.
E-mail: immun11@yandex.ru

Образец цитирования:

Г.М. Бодиенкова, С.И. Курчевенко «Оценка цитокинов и белка теплового шока при вибрационной болезни» // Медицинская иммунология, 2018. Т. 20, № 6. С. 895-898.
doi: 10.15789/1563-0625-2018-6-895-898
© Бодиенкова Г.М., Курчевенко С.И., 2018

For citation:

G.M. Bodienkova, S.I. Kurchevenko "Evaluation of cytokines and heat shock protein in vibration disease", *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2018, Vol. 20, no. 6, pp. 895-898.
doi: 10.15789/1563-0625-2018-6-895-898
DOI: 10.15789/1563-0625-2018-6-895-898

vascular system and musculoskeletal system of the upper and lower extremities. One of the real ways to reduce the incidence is the early detection of the negative impact of vibration on the body of workers. In this regard, cytokines and heat shock proteins (HSP70) can be early and sensitive indicators that reflect the severity of health disorders from exposure to vibration. The aim of the study was to study changes in the content of pro- and antiinflammatory cytokines, extracellular HSP70 and their relationship in patients with VB. In the immunological study included 43 male patients with a diagnosis of VB. The criteria for inclusion in this group were: a verified diagnosis, written informed consent to participate in the study, the harmful effects of local vibration in the workplace. According to the data of hygienic control, the working conditions of workers in dangerous occupations by vibration belong to the 4 (dangerous) class due to intensive local vibration. The content of cytokines: IL-1 β , IL-8, IL-10, TNF α and HSP70 in the serum of patients was determined by enzyme immunoassay. The blood sampling for the study was taken from patients only once on admission to the hospital before the treatment. Statistical processing of data was carried out with the help of packages of application programs Statistica for Windows 6.0 and Microsoft Excel. It was established that the development of VB disease is accompanied by imbalance of the cytokine profile, characterized by a decrease in the levels of IL-1 β , IL-10 and an increase in IL-8. The inhibition of production of IL-1 β and IL-10 is a consequence of the chronic process that has developed in the body of the patients examined. And the revealed decrease in extracellular concentration of HSP70 in comparison with practically healthy people can be caused by the accumulation of it inside the cell or on its surface. Correlation analysis revealed the relationship between a decrease in HSP70 and an increase in IL-1 β , and a decrease in IL-10 levels. Synthesis of HSP is an intracellular defense mechanism that prevents cell damage by activating the synthesis and secretion of pro-inflammatory cytokines. The obtained relationships between cytokines and HSP70 testify to the involvement of HSP70 in immunoinflammatory processes in VB. The revealed changes contribute to the chronic inflammatory process and justify the progressive course of the VB.

Keywords: cytokines, heat shock protein 70, vibration disease, immune response

Введение

Комплекс физических факторов обуславливает развитие ряда профессиональных заболеваний, в том числе вибрационную болезнь (ВБ), которая занимает лидирующие позиции в структуре профессиональной патологии. Одним из реальных путей снижения заболеваемости является раннее выявление негативного воздействия вибрации на организм работников [2]. Известно, что уже у практически здоровых рабочих при воздействии вибрации отмечаются изменения на молекулярном, клеточном и субклеточном уровнях [4]. В связи с этим цитокины и БТШ могут быть ранними и чувствительными показателями, отражающими степень выраженности нарушений здоровья от воздействия вибрации [1, 7].

Открытие цитокинов и изучение их роли в патогенезе широкого круга заболеваний определили приоритеты их исследования при различной патологии, в том числе при профессиональных заболеваниях. Известно, что многие органы в норме находятся в состоянии «контролируемого воспаления», которое регулируется балансом провоспалительных и противовоспалительных цитокинов [10]. При нарушении цитокинового баланса развивается состояние хронического воспаления. В последние годы экспериментальными и клиническими исследованиями установлено, что один из механизмов выживания клетки в экстремальных условиях связан с БТШ, которые играют важную роль в регуляции внутриклеточной сигнализации, организации межклеточных взаимодействий при воспалении, развитии патофизиологических феноменов окислительного стресса при действии различных ксенобиотиков и др. [6, 9]. Повышение экспрессии БТШ внутри клетки обеспечивает стабилизацию и восстановление поврежденных белковых молекул,

оптимальный баланс между синтезом и деградацией белков. Это приводит к повышению резистентности клеток к стрессу. Вместе с тем БТШ могут высвобождаться во внеклеточную среду или экспрессироваться на поверхности клеток, и в этом случае их особая протективная роль заключается в контроле воспалительного иммунного ответа [11]. Появление в организме внеклеточных БТШ рассматривается многими авторами как сигнал тревоги для иммунной системы [13].

Цель работы – оценить изменения в содержании про- и противовоспалительных цитокинов, внеклеточного БТШ70 и их взаимосвязь у пациентов с вибрационной болезнью.

Материалы и методы

В иммунологическое исследование включено 43 пациента мужского пола с диагнозом ВБ. Клиническая верификация диагнозов осуществлялась врачами клиники института в соответствии с Международной классификацией болезней 10-го пересмотра (МКБ-10). Стаж работы обследованных пациентов в условиях воздействия локальной вибрации составил $29,1 \pm 0,21$ года, средний возраст – $51,9 \pm 1,6$ года. Контрольную группу составили 19 условно здоровых мужчин, сопоставимых по возрасту ($50,0 \pm 1,83$ лет) и общему трудовому стажу ($26,06 \pm 0,8$ лет), не имеющих в профессиональном маршруте контакта с производственной вибрацией.

Кровь для исследования у пациентов брали однократно при поступлении в стационар, натощак до проведения лечения, используя пробирки Vacutainer, которые центрифугировали при 1500 оборотов в минуту в течение 15 минут для получения сыворотки. Сыворотку отбирали в отдельные пробирки Эппендорф (Eppendorf). Содержание цитокинов (IL-1 β , IL-8, IL-10, TNF α) определяли на высокоскоростном автоматиче-

ском иммуноферментном анализаторе третьего поколения Alisei Q.S. (SEAC, Италия) с использованием стандартных тест-систем производства АО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Концентрацию БТШ70 в сыворотке крови определяли методом ИФА с использованием ELISA kits HSP70 Assay Design (Enzo LifeScience, США) в соответствии с прилагаемой к набору методикой.

Статистический анализ данных проведен с помощью Statistica 6.0. Проверку на нормальность распределения фактических данных проводили с использованием критерия Шапиро–Уилка. Оценка значимости различий между группами проводили с помощью непараметрических критериев (Манна–Уитни). Данные представлены в виде $Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})$, где Me – медиана, $Q_{0,25}-Q_{0,75}$ – интерквартильный интервал 25 и 75. Для определения взаимного влияния показателей использовали корреляционный анализ Спирмена r . Рассчитывали показатель достоверности (p), который определяли как статистически значимый при значениях $p < 0,05$.

Работа не ущемляет права и не подвергает опасности благополучия обследованных пациентов в соответствии с требованиями биомедицинской этики, утвержденными Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации. Протокол исследований согласован с этическим комитетом (протокол № 6 от 15.11.2012 г.). Исследования выполнены с согласия пациентов в клинике института.

Результаты и обсуждение

Результаты изменений в содержании цитокинов представлены в таблице 1.

В результате анализа исследуемых показателей установлено, что содержание провоспалительного ИЛ-1 β в сыворотке крови у пациентов с ВБ снижалось в 162 раза по сравнению с контрольной группой ($p = 0,04$). Вместе с тем наблюдалось повышение (в 4,45 раза) другого провоспалительного ИЛ-8 относительно контроля ($p = 0,02$). Исследователями показано [8], что быстрый выброс ИЛ-8 нейтрофильными гранулоцитами может вести к запуску нового синтеза ИЛ-8, замыкая петлю положительной обратной связи в регуляции синтеза ИЛ-8, активации его функциональных свойств и блокирования апоптоза гранулоцитов. Этот механизм может иметь значение в поддержании хронического воспаления в тканях при целом ряде заболеваний у человека, в том числе и при ВБ.

При анализе изменения сывороточной концентрации ИЛ-10, имеющего противовоспалительную направленность, у пациентов с ВБ выявлено достоверное снижение его в 645 раз относительно контроля ($p = 0,001$). Следует отметить, что противовоспалительный ИЛ-10 одним из первых выделяется регуляторными клетками в очаге воспаления и является основным стрессорным цитокином, опосредующим многие иммунорегуляторные эффекты БТШ [3].

Что касается БТШ70, то в наших исследованиях у пациентов с ВБ установлено достоверное снижение внеклеточной концентрации его до 0,07 (0,04-0,07) нг/мл против 0,12 (0,09-0,13) нг/мл в контроле ($p = 0,001$).

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ВБ ($Me, Q_{0,25}-Q_{0,75}$)

TABLE 1. CONTENTS CYTOKINES IN THE BLOOD IN PATIENTS WITH VB ($Me, Q_{0,25}-Q_{0,75}$)

Показатели Indicators	Пациенты с ВБ Patients with VB n = 43	Контрольная группа Control group n = 18
ИЛ-1 β , пг/мл IL-1 β , pg/ml	0,01 (0,01-3,35)*	1,62 (0,65-3,8)
ИЛ-8, пг/мл IL-8, pg/ml	7,04 (1,34-13,25)*	1,58 (0,68-2,9)
ИЛ-10, пг/мл IL-10, pg/ml	0,01 (0,01-3,18)*	6,40 (0,39-13,7)
ТНФа, пг/мл TNF α , pg/ml	0,01 (0,01-1,39)	0,01 (0,01-0,11)

Примечание. * – различия по сравнению с контрольной группой статистически значимы при $p < 0,05$.

Note. *, differences compared to the control group are statistically significant at $p < 0.05$.

В связи с этим представляло определенный интерес на следующем этапе исследований выявить взаимосвязь между содержанием БТШ70 и уровнем цитокинов у пациентов с ВБ. Корреляционный анализ позволил выявить зависимость между снижением внеклеточной концентрации БТШ70 и возрастанием уровня ИЛ-1 β ($r = -0,44$; $p = 0,008$), снижением уровня ИЛ-10 ($r = 0,39$; $p = 0,017$). Синтез БТШ в ответ на различные повреждающие факторы, в т. ч. воспалительные, является внутриклеточным защитным механизмом, предотвращающим повреждение клеток [9], путем активации синтеза и секреции провоспалительных цитокинов [14].

Анализ изменений цитокинового профиля у пациентов с ВБ позволил выявить его дисбаланс, характеризующийся снижением уровней ИЛ-1 β , ИЛ-10 и повышением ИЛ-8. Угнетение продукции ИЛ-1 β и ИЛ-10, возможно, является следствием сформировавшегося хронического процесса в организме обследованных пациентов. В то же время у пациентов выявлено снижение внеклеточного БТШ70, которое может быть обусловлено накоплением его внутри клетки или на ее поверхности [5]. Выявленные взаимоотношения между цитокинами и БТШ70 свидетельствуют о вовлеченности БТШ70 в иммуновоспалительные процессы при ВБ. Установленный факт подтверждается Евдоным А.Л. [5], который отмечал, что увеличение концентраций БТШ70 внутри клетки воздействует на продукцию цитокинов, которые в свою очередь вызывают неспецифическую активацию системы врожденного иммунитета.

При этом под воздействием БТШ увеличивается продукция противовоспалительных цитокинов не только в Т-лимфоцитах, но и в мононуклеарных клетках-моноцитах и дендритных клетках [12].

Выявленные изменения способствуют хронизации воспалительного процесса и обосновывают прогрессивное течение ВБ.

Список литературы / References

1. Антошина Л.И., Сааркопель Л.М., Павловская Н.А. Действие вибрации на биохимические показатели, характеризующие окислительный метаболизм, иммунитет, обмен мышечной и соединительной ткани (Обзор литературы) // Медицина труда и промышленная экология, 2009. № 2. С. 33-37. [Antoshina L.I., Saarkoppel L.M., Pavlovskaya N.A. Influence of vibration on biochemical values characterizing oxidative metabolism, immunity, metabolism in muscular and connective tissues (Review of literature). *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya = Occupational Medicine and Industrial Ecology*, 2009, no. 2, pp. 33-37. (In Russ.)]
2. Антошина Л.И., Павловская Н.А., Яцына И.В. Информативные лабораторные биомаркеры для выявления негативного воздействия вибрации на организм рабочих // Клиническая лабораторная диагностика, 2015. № 1. С. 19-23. [Antoshina L.I., Pavlovskaya N.A., Yatsina I.V. The informative laboratory biomarkers for detection of negative impact of vibration on organism of workers. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2015, no. 1, pp. 19-23. (In Russ.)]
3. Бобкова И.Н., Чеботарева Н.В., Козловская Л.В., Непринцева Н.В. Защитное действие белков теплового шока при заболеваниях почек // Клиническая нефрология, 2011. № 6. С. 59-66. [Bobkova I.N., Chebotareva N.V., Kozlovskaya L.V., Nieprintseva N.V. Protective effect of heat shock proteins in kidney diseases. *Klinicheskaya nefrologiya = Clinic of Nephrology*, 2011, no. 6, pp. 59-66. (In Russ.)]
4. Бодиенкова Г.М., Курчевенко С.И., Русанова Д.В. Роль цитокинов в развитии нарушений периферической нервной системы при вибрационной болезни // Российский иммунологический журнал, 2017. Т. 11, № 1. С. 58-63. [Bodienkova G.M., Kurchevenko S.I., Rusanova D.V. Role of cytokines in developmental disorders peripheral nervous system in vibration induced diseases. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Immunological Journal*, 2017, Vol. 11, no. 1, pp. 58-63. (In Russ.)]
5. Евдонин А.Л., Медведева Н.Д. Внеклеточный белок теплового шока 70 и его функции // Цитология, 2009. Т. 51, № 2. С. 130-137. [Evdonin A.L., Medvedeva N.D. The extracellular heat shock protein 70 and its functions. *Tsitologiya = Cytology*, 2009, Vol. 51, no. 2, pp. 130-137. (In Russ.)]
6. Кабалык М.А., Гельцер Б.И., Осипов А.Л., Фадеев М.Ф. Белки теплового шока – участники патогенеза остеоартроза // Казанский медицинский журнал, 2016. № 5. С. 624-630. [Kabalyk M.A., Geltser B.I., Osipov A.L., Fadeev M.F. Heat shock proteins – participants in osteoarthritis pathogenesis. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal = Kazan Medical Journal*, 2016, no. 5, pp. 624-630. (In Russ.)]
7. Курчевенко С.И., Бодиенкова Г.М. Донозологическая диагностика вибрационной болезни // Клиническая лабораторная диагностика, 2017. Т. 62, № 8. С. 482-485. [Kurchevenko S.I., Bodienkova G.M. The pre-nosologic diagnostic of vibration disease. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2017, Vol. 62, no. 8, pp. 482-485. (In Russ.)]
8. Минаихметова Р.Р., Симбирцев А.С., Аникин И.А., Котов А.Ю., Тырнова Е.В. Интерлейкин 1 и интерлейкин 8 при хроническом среднем отите с тимпаносклерозом // Цитокины и воспаление, 2010. Т. 9, № 4. С. 35-40. [Miniakhmetova R.R., Simbirtsev A.S., Anikin I.A., Kotov A.Yu., Tyrnova E.V. Interleukin 1 and interleukin 8 in chronic otitis media with tympanosclerosis. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2010, Vol. 9, no. 4, pp. 35-40. (In Russ.)]
9. Михайлова Н.Н., Сазонтова Т.Г., Алехина Д.А., Казицкая А.С., Жданова Н.Н., Прокопьев Ю.А., Жукова А.Г. Особенности внутриклеточных защитных механизмов при действии на организм различных ксенобиотиков // Цитокины и воспаление, 2013. Т. 12, № 4. С. 71-75. [Mikhaylova N.N., Sazonova T.G., Alekhina D.A., Kazitskaya A.S., Zhdanova N.N., Prokopyev Yu.A., Zhukova A.G. Features of intracellular protective mechanisms under the action of various xenobiotics on the body. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2013, Vol. 12, no. 4, pp. 71-75. (In Russ.)]
10. Секачева М.И., Буверов А.О. Терапевтические возможности влияния на баланс цитокинов при заболеваниях кишечника и печени // Русский медицинский журнал, 2010. № 5. С. 40. [Sekacheva M.I., Bueverov A.O. Therapeutic possibilities of influencing the balance of cytokines in diseases of the intestine and liver. *Russkiy meditsinskiy zhurnal = Medical Journal of the Russian Federation*, 2010, no. 5, p. 40. (In Russ.)]
11. Basu S., Binder R., Suto R., Anderson K.M., Srivastava P.K. Necrotic but not apoptotic cell death releases heat shock proteins, with deliver a partial maturation signal to dendritic cells and activate the NFκB pathway. *Int. Immunol.*, 2000, Vol. 12, no 7, pp. 1539-1546.
12. Detanico T., Rodrigues L., Sabritto A.C., Keisermann M., Bauer M.E., Zwickey H., Bonorino C. Mycobacterial heat shock protein 70 induces interleukin-10 production: immunomodulation of synovial cell cytokine profile and dendritic cell maturation. *Clin. Exp. Immunol.*, 2004, Vol. 135, no. 6, pp. 336-342.
13. Matzinger P. The danger model: a renewed sense of self. *Science*, 2002, Vol. 296, no. 4, pp. 301-305.
14. Wang Y., Kelly C.C., Singh M., McGowan E.A., Carrara A.S., Bergmeier L.A., Lehner T. Stimulation of Th1-polarizing cytokines, C-C chemokines, maturation of dendritic cells, and adjuvant function by the peptide binding fragment of heat shock protein 70. *J. Immunol.*, 2002, Vol. 169, no. 5, pp. 2422-2429.

Авторы:

Бодиенкова Г.М. — д.м.н., профессор, заведующая лабораторией иммуно-биохимических и молекулярно-генетических исследований в гигиене ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», г. Ангарск, Россия
Курчевенко С.И. — к.м.н., научный сотрудник лаборатории иммуно-биохимических и молекулярно-генетических исследований в гигиене ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», г. Ангарск, Россия

Authors:

Bodienkova G.M., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Laboratory of Immunobiochemical and Molecular Genetic Studies in Hygiene, East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, Russian Federation
Kurchevenko S.I., PhD (Medicine), Research Associate, Laboratory of Immunobiochemical and Molecular Genetic Studies in Hygiene, East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, Russian Federation

Поступила 09.02.2018
Принята к печати 16.02.2018

Received 09.02.2018
Accepted 16.02.2018