

меры, препятствующие возникновению и распространению аллергического ринита среди городского населения, что приведет к адекватному контролю за состоянием окружающей среды и её влиянием на здоровье горожан.

## **ВЛИЯНИЕ ОСТРОГО СТРЕССА РАЗЛИЧНОЙ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ НА КОНЦЕНТРАЦИЮ ПРОВСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ**

*Н.М. Яцковская, А.П. Солодков  
Витебск, УО «ВГУ им. П.М. Машерова»*

Эксперименты, выполненные на животных, клинические и эпидемиологические исследования убедительно свидетельствуют о причастности психэмоционального стресса к этиологии сердечно-сосудистых заболеваний [5]. Показано, что провоспалительные цитокины участвуют в возникновении дисфункции эндотелия сосудов на ранних стадиях развития атеросклероза коронарных артерий, а также в регулировании липидного и углеводного обмена [3, 6]. Было высказано предположение, что провоспалительные цитокины, такие как фактор некроза опухоли (ФНО- $\alpha$ ) и интерлейкин-1 (ИЛ-1) опосредуют некоторые эффекты стресса и играют важную роль в возникновении риска заболеваний сердца и сосудов у человека [9].

Исследования на грызунах показали, что различные стрессорные воздействия, такие как ограничение физической активности и экспозиция в «открытом поле» стимулируют увеличение в плазме концентрации ИЛ-6 [6]. Имобилизационный стресс приводит к образованию в гипоталамусе мРНК ИЛ-1 [8]. У человека, хронический стресс, такой как ожидание экзаменов и уход за больными родственниками, сопровождается увеличением уровня циркулирующего в крови ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  и рецепторов к ИЛ-1 (ИЛ-1Ra) [7]. Повышение в сыворотке крови концентраций ИЛ-6, ИЛ-1 и ИЛ-1Ra также были зарегистрированы при депрессии [1, 2]. Тем не менее, данные о влиянии острого стресса на уровень провоспалительных цитокинов в сыворотке крови лабораторных крыс при моделировании у них острого эмоционального стресса (имобилизация в пластиковых пеналах и на спине) остаются противоречивыми.

Другим важным фактором является сопоставление интенсивности стресс-реакции при иммобилизации различной продолжительности и изменения уровня цитокинов в крови. В связи с этим в данной работе была поставлена цель определить содержание провоспалительных интерлейкинов (ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ ), в крови при остром иммобилизационном стрессе различной продолжительности и сопоставить их значения с выраженностью стресс-реакции.

**Материал и методы:** Опыты были выполнены на 32 самках белых крыс Вистар- массой 250-360 г.

Эксперименты проведены в соответствии с этическими нормами, и рекомендациями по гуманизации работы с лабораторными животными, принятыми в Витебском государственном университете им. П.М.Машерова.

В работе проводилось экспериментальное моделирование режимов иммобилизационного стресса различной продолжительности. Острый стресс воспроизводился иммобилизацией, которая осуществлялась путем фиксации животного в пластиковом пенале в течение 5 мин, 60 мин и 90 мин. Кроме того, острый стресс создавали путем фиксации крыс в положении на спине в течение 60 минут.

Концентрацию ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа, используя тест-системы и реагенты ТОО "Цитокин" (С-Петербург), ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирская область, п. Кольцово), с помощью фотометра универсального Ф-300 ТП (Беларусь). Чувствительность наборов для определения ФНО- $\alpha$  была 2 пг/мл, ИЛ-1 $\beta$  - 1 пг/мл.

После извлечения надпочечников, селезенки и тимуса их аккуратно высушивали фильтровальной бумагой, для того чтобы удалить избыток крови. Определение их относительной массы проводили путем взвешивания на торсионных весах с последующим пересчетом на 100 г массы тела животного.

Обработка полученных результатов проводилась с применением пакета статистических программ Microsoft Excel 2000, STATISTICA 6.0 и при помощи программы GraphPad Prism 4.0.

**Результаты и их обсуждение.** В сыворотке крови контрольных животных обнаруживался только ИЛ-1 $\beta$  (таблица).

Таблица

Концентрация провоспалительных цитокинов в сыворотке крови крыс при действии острого стресса различной продолжительности

Продолжительность стресса	ИЛ-1 $\beta$ (пкг/мл)	ФНО- $\alpha$ (пг/мл)
Контроль n=7	19,17 $\pm$ 2,58	0
Острый стресс (5 минут иммобилизация в пластиковом пенале) n=6	12,17 $\pm$ 2,27*	0
Острый стресс (60-минутная иммобилизация в пластиковом пенале) n=7	38,29 $\pm$ 3,46*	5,09 $\pm$ 1,31
Острый стресс (90 минутная иммобилизация в пластиковом пенале) n=6	36,25 $\pm$ 1,8*	5,42 $\pm$ 0,75
Острый стресс (60 минутная иммобилизация жесткой фиксацией на спине) n=6	28,72 $\pm$ 1,29*	5,45 $\pm$ 0,56

Примечание - \* - $p$ <0,05 по сравнению с контролем.

После 5 мин иммобилизации в пластиковых пеналах в сыворотке крови крыс уровень ИЛ-1 $\beta$  уменьшался на 36,5%. ФНО- $\alpha$  не определялся. Увеличение продолжительности пребывания крыс в пластиковых пеналах до 60 и 90 минут сопровождалось возрастанием концентрации в сыворотке крови ИЛ-1 $\beta$  почти в 2 раза. При этом разница в продолжительности иммобилизации существенного влияния не оказала. Следует отметить, что после 60 мин и 90 мин иммобилизации у всех крыс в сыворотке крови появлялся ФНО- $\alpha$ . Более жесткая иммобилизация животных на спине в течение 60 мин, также, как и их пребывание в пластиковых пеналах в течение 60 и 90 мин, приводила к увеличению в крови ИЛ-1 $\beta$ , но в меньшей степени – на 45,6%. Подобно последствиям иммобилизации крыс в пеналах, после 60 мин жесткой фиксации на спине обнаруживался ФНО- $\alpha$ .

При определении выраженности изменений относительной массы стрессоинтересованных органов было обнаружено, что после 5 мин фиксации животных в пластиковых пеналах относительная масса надпочечников увеличилась на 10% ( $p$ <0,05, по сравнению с контролем), а селезенки и тимуса не изменилась. Подобный тип реакции свидетельствует о том, что 5 мин пребывания крыс в пластиковом пенале является мягким стрессорным воздействием.

После 60 мин фиксации животных в пластиковых пеналах относительная масса надпочечников увеличилась в большей степени - на 19,5% ( $p$ <0,05, по срав-

нению с контролем), а относительная масса селезенки и тимуса так же, как и при 5 мин фиксации не отличались от контроля.

Пребывание крыс в пластиковых пеналах в течение 90 мин приводило к увеличению относительной массы надпочечников на 20% ( $p < 0,05$ , по сравнению с контролем) и достоверному уменьшению массы селезенки на 14%. Относительная масса тимуса при этом не изменялась.

Фиксация крыс на спине в течение 60 мин, подобно 90 мин пребыванию крыс в пластиковых пеналах сопровождалась достоверным увеличением относительной массы надпочечников на 10% ( $p < 0,05$ , по сравнению с контролем), уменьшением массы селезенки на 17,4% ( $p < 0,05$ , по сравнению с контролем), и неизменной относительной массой тимуса.

Таким образом, (1) По степени выраженности стресс-реакции, используемые модели можно ранжировать следующим образом: 5 мин фиксация в пластиковых пеналах является самым слабым воздействием. 60 мин более сильным, а 90 мин фиксация в пенале и 60 мин жесткая фиксация на спине мало отличаются друг от друга.

(2) Цитокиновый ответ у крыс, подвергнутых иммобилизации различной продолжительности, был быстрым и нарастал в пределах 90- мин.

(3) Только мягкая 5 мин фиксация крыс в пластиковых пеналах сопровождалась уменьшением в крови ИЛ-1 $\beta$ , а 60 мин, 90 мин пребывание в пеналах и 60 мин жесткая фиксация на спине вызывали увеличение концентрации в сыворотке крови ИЛ-1 $\beta$  и появление детектируемого количества ФНО- $\alpha$ .

#### Список литературы

1. Connor, T. J. and Leonard, B. E. (1998) Depression, stress and immunological activation : the role of cytokines in depressive disorders. *Life Sci.* **62**, 583-606.
2. Deinzer, R., Forster, P., Fuck, L., Herforth, A., Stiller-Winkler, R. and Idel, H. (1999) Increase of crevicular interleukin 1 beta under academic stress at experimental gingivitis sites and at sites of perfect oral hygiene. *J. Clin. Periodontol.* 26-28.
3. Ghiadoni, L., Donald, A., Cropley, M. et al. (2000) Mental stress induces transient endothelial dysfunction in humans. *Circulation* **102**, 2473-2478.
4. Grunfeld, C. and Feingold, K. R. (1991) The metabolic effects of tumor necrosis factor and other cytokines. *Biotherapy* **3**, 143-158.
5. Hemingway, H. and Marmot, M. (1999) Evidence based cardiology: psychosocial factors in the aetiology and prognosis of coronary heart disease : systematic review of prospective cohort studies. *Br. Med. J.* **318**, 1460-1467.
6. LeMay, L. G., Vander, A. J. and Kluger, M. J. (1990) The effects of psychological stress on plasma interleukin-6 activity in rats. *Physiol. Behav.* 45-49.
7. Maes, M., Vandoolaeghe, E., Ranjan, R., Bosmans, E., Bergmans, R. and Desnyder, R. (1995) Increased serum interleukin-1-receptor-antagonist concentrations in major depression. *J. Affective Disord.* **36**, 29-36.
8. Minami, M., Kuraishi, Y., Yamaguchi, T., Nakai, S., Hirai, Y. and Satoh, M. (1991) Immobilization stress induces interleukin-1 beta mRNA in the rat hypothalamus. *Neurosci. Lett.* **123**, 254-256.
9. Yudkin, J. S., Kumari, M., Humphries, S. E. and Mohamed-Ali, V. (2000) Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease : is interleukin-6 the link? *Atherosclerosis* **148**, 209-214.