

ISSN 1680-6387

# ВЕСЦІ

НАЦЫЯНАЛЬнай  
АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ



Серыя  
медыка-біялагічных  
навуk

**NEWS**  
**OF BIOMEDICAL**  
**SCIENCES**

**4**

Мінск  
“Беларуская навука”  
2003

# ВЕСЦІ

НАЦЫЯНАЛЬнай  
АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ МЕДЫКА-БІЯЛАГІЧНЫХ НАВУК 2003 № 4

# ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ  
АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК 2003 № 4

## NEWS

## OF BIOMEDICAL SCIENCES

ЗАСНАВАЛЬНІК — НАЦЫЯНАЛЬНАЯ АКАДЭМІЯ НАВУК БЕЛАРУСІ

Серия издается с января 2001 года

Выходит четыре раза в год

### СОДЕРЖАНИЕ

К 75-летию Национальной академии наук Беларуси.....	5
<b>ФИЗИОЛОГИЯ И ОБЩАЯ ПАТОЛОГИЯ</b>	
Андрянов В. В., Василюк Н. А. Влияние тревожности на вариабельность сердечного ритма испытуемых при решении сенсо-моторных задач при различном информационном восприятии.....	6
Азев О. А., Солтанов В. В. Электрофизиологический анализ путей проведения интероцептивных сигналов к нейронам вестибулярных ядер крысы.....	14
Белосенко Е. Д., Ильясевич И. А., Скакун П. Г., Сошникова Е. В., Кандыбо И. В. Механизмы нервно-мышечных и сосудистых изменений у больных при нарушении движений в плечевом суставе.....	18
Ильясевич И. А., Белосенко Е. Д., Мазуренко А. Н. Нейрофизиологические критерии состояния проводимости спинного мозга при осложненной травме нижнегрудного и поясничного отделов позвоночника....	24
Жукова И. А., Амвросьев А. П. Особенности влияния внешнего длительного гамма-облучения в малой дозе на состояние гемокapилляров семенника плодов белой крысы.....	33
<b>НЕЙРОМОРФОЛОГИЯ И НЕЙРОХИМИЯ</b>	
Тропникова Г. К. Реакции серотонинергических структур мозга на системное введение эндотоксина после унилатерального разрушения рoстральных участков ядра солитарного тракта.....	37
Емельянова А. А., Солтанов В. В. Особенности ультраструктуры дорсального моторного ядра блуждающего нерва продолговатого мозга крыс в условиях эндотоксемии.....	41
<b>БИОХИМИЯ И ЭНДОКРИНОЛОГИЯ</b>	
Логининец И. А., Бекиш О.-Я. Л. Состояние гипофизарно-тиреоидной системы при миграционном аскаридозе у крыс.....	45

Семак И. В., Корик Е. О., Наумова М. В., Сломински А. Взаимодействие продуктов пероксидазного окисления моно-, ди- и тригидроксифлавонов с глутатионом .....	50
Виноградова Т. А., Волосвич В. П., Ковальчук В. Г., Слободская Н. С., Гуринович В. А., Виноградов В. В. Гормональный профиль крови крыс и протекторная роль тиамина при иммобилизационном стрессе .....	57
Корик Е. О., Наумова М. В., Сломински А., Семак И. В. Возможные механизмы образования глутатионовых конъюгатов кверцетина и рутина .....	62
Кириллов В. А., Стебеньева Е. Е., Паплевка А. А., Демидчик Е. П. Диагностика тиреоидного рака с помощью морфометрической оценки изменений популяции лимфоидных клеток ткани щитовидной железы .....	68
Макарчиков А. Ф., Русина И. М. Выделение, очистка, физико-химические и кинетические свойства мнорной формы тиаминтрифосфатазы из почек быка .....	76
Лойко Е. Н., Самаль А. Б. Влияние H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> на АДФ-индуцированную агрегацию и Ca <sup>2+</sup> -ответ тромбоцитов и их дезагрегацию .....	80
Никандров В. Н., Петрусенко Г. П., Гронская Р. И. Состояние АТФ- и Ca <sup>2+</sup> -зависимого протеолиза в клетках феохромоцитомы РС12 при действиях стрептокиназы и фактора роста нервов .....	84
<b>ВИРУСОЛОГИЯ, МИКРОБИОЛОГИЯ И ИММУНОЛОГИЯ</b>	
Щунакова А. Н., Литвяков А. М. Вирус простого герпеса и периферический атеросклероз .....	88
Морозевич Т. А., Семенев И. Н. Влияние тренировочного процесса на содержание иммуноглобулинов в слюне у спортсменов .....	92
Ермолович М. А., Самойлович Е. О., Фельдман Э. В. Молекулярно-биологический анализ полновирусов, изолированных от больных вакцино-ассоциированным полиомиелитом в Беларуси .....	95
<b>БИОФИЗИКА И БИОМЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ</b>	
Тепляков А. И., Прищепова Е. В., Акулич Н. В., Теплякова Д. В., Кручинский Н. Г. О роли цитокинов и молекул клеточной адгезии в патогенезе атеросклероза у людей, подвергшихся радиационному воздействию, которые проживают на территории, загрязненной радионуклидами .....	102
Сергейчик Н. Л., Жаворонок С. В., Тарасюк И. В. Выделение нейроспецифического белка группы S100B и создание иммуноферментного диагностического набора для выявления антител к нему .....	109
Лобко Н. Ф., Гаврилов В. Б., Конев С. В. Тирозинсодержащие пептиды — новый индикатор эндогенной интоксикации организма .....	114
Арчакова Л. И., Гурин В. Н., Емельянова А. А., Сердюченко Н. С., Новаковская С. А. Изменение ультраструктуры поврежденной субхондральной кости при действии низкоинтенсивного лазерного и магнитолазерного облучения .....	120
<b>МЕДИЦИНСКАЯ БИОЛОГИЯ И МЕДИЦИНСКАЯ ГЕНЕТИКА</b>	
Красковский Г. В., Миронова Г. И., Росенка С. Д., Липская М. В. Влияние иммунизации онкотолерогеном и яичным альбумином на рост гомологичных и негомологичных онкотолерогену опухолей .....	125
Огуринова С. Э., Трусова В. Д., Крушова Э. В., Войтович А. М., Афонин В. Ю. Влияние индуктора монооксигеназ 1-бутилгидрохинона на мутагенный эффект ряда противоопухолевых лекарств в клетках костного мозга мышей .....	132
<b>ОБЗОРЫ</b>	
Наумова М. В., Корик Е. О., Семак И. В., Кульчицкий В. А. Роль монооксида азота в механизмах повреждения печени (биохимический аспект) .....	135
Фельдман Э. В., Самойлович Е. О., Вогяков В. И., Титов Л. П. Полиомиелит в Беларуси: достижения и проблемы профилактики заболевания живой оральной вакциной .....	140
<b>ХРОНИКА</b>	
Алдрей Георгиевич Мойсеев (К 60-летию со дня рождения) .....	146

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ 2003 № 4

Серия медико-биологических наук

*на русском, белорусском и английском языках*

Технический редактор Т. В. Лещен

Компьютерная верстка С. М. Касцюк

Задана ў набор 25.09.2003. Падпісана ў друк 03.12.2003. Выхад у свет 15.12.2003. Фармат 60×84<sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Папера афсетная. Афсетны друк. Ум. друк. арк. 17,67. Ум. фярб.-адб. 18,6. Ул.-выд. арк. 19,5. Тыраж 299 экз. Заказ 2794.

Рэспубліканскае ўнітарнае прадпрыемства «Выдавецтва «Беларуская навука». ЛВ № 13 ад 31.12.2002 г. 220141. Мінск, Старабарысаўскі тракт, 40. Пасведчанне 457.

Рэспубліканскае ўнітарнае паліграфічнае прадпрыемства «Баранавіцкая ўзбуйненая друкарня». ЛП № 122 ад 30.12.2002 г. 225409. Баранавічы, Савецкая, 80.

**БИОФИЗИКА И БИМЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ**

УДК 616.13 + 614.876 + 61-018.1

*А. И. ТЕПЛЯКОВ, Е. В. ПРИЩЕПОВА, Н. В. АКУЛИЧ,  
Д. В. ТЕПЛЯКОВА, Н. Г. КРУЧИНСКИЙ*

**О РОЛИ ЦИТОКИНОВ И МОЛЕКУЛ КЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ  
В ПАТОГЕНЕЗЕ АТЕРОСКЛЕРОЗА У ЛЮДЕЙ, ПОДВЕРГШИХСЯ  
РАДИАЦИОННОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ, КОТОРЫЕ ПРОЖИВАЮТ  
НА ТЕРРИТОРИИ, ЗАГРЯЗНЕННОЙ РАДИОНУКЛИДАМИ**

*Научно-исследовательский институт экологической  
и профессиональной патологии, Могилев, Беларусь*

*(Поступила в редакцию 18.12.2002. Принята после рецензирования 02.04.2003)*

Согласно многочисленным исследованиям у различных категорий населения, подвергшихся низкоуровневому радиационному воздействию, отмечено увеличение тромбогенного риска, связанное со смещением гемостазиологического равновесия [13]. В частности, зафиксирована функциональная активация сосудисто-клеточного звена, ухудшение реологических свойств крови [4].

Наблюдаемые дисрегуляторные явления, позволяют сделать предположение о ключевой роли нарушений межклеточных взаимодействий в инициации атерогенеза и тромбоза.

Общеизвестно, что взаимодействие «клетка-клетка» и «клетка-субстрат» обеспечиваются различными семействами молекул клеточной адгезии (селектины, интегрины, суперсемейство иммуноглобулинов). Адгезия клеток к матриксу и межклеточная адгезия индуцирует синтез различных цитокинов и факторов роста [1].

В инициации атерогенеза, согласно гипотезе Р. Росса, важнейшая роль отводится тромбоцитарному фактору роста (PDGF), высвобождающемуся при адгезии тромбоцитов к матриксу поврежденной сосудистой стенки, особенно коллагену [6]. Обнаружена структурная идентичность В-цепи этого цитокина и протоонкогена *c-sis*, который индуцирует сигнальный путь с вовлечением других протоонкогенов и сигнальных молекул [1], что хорошо согласуется с работами [5], в которых показано, что пролиферирующие субинтимальные гладкомышечные элементы, формирующие атерому, имеют моноклоновое происхождение.

Таким образом, целью нашего исследования была экспериментальная проверка гипотезы о том, что в патогенезе атеросклероза у больных, подвергшихся низкоуровневому радиационному воздействию, ключевую роль играют цитокины и молекулы клеточной адгезии.

**Материалы и методы исследования.** Объектом настоящего исследования явились 29 пациентов с атеросклерозом, из которых 10 являлись ликвидаторами аварии на ЧАЭС, 7 постоянно проживают на территории, загрязненность которой по  $^{137}\text{Cs}$  составляет 5–7 Ки/км<sup>2</sup>, 12 пациентов составили контрольную группу.

Диагноз уточнялся с помощью общепринятых клинических, инструментальных (электрокардиография, эхокардиоскопия с доплеровским исследованием, ультразвуковая доплерография магистральных артерий) и лабораторных тестов (липидный и углеводный обмен, маркеры повреждения миокарда, острофазовые реактанты, маркеры гепатитов при необходимости для исключения сопутствующих воспалительных процессов). Клинически пациенты распределялись следующим образом: у 16 пациентов диагностирована ишемическая болезнь сердца — ИБС (у 4 — прогрессирующая стенокардия, у остальных — стабильная стенокардия напряжения II—III функциональных классов), у 13 — дисциркуляторная энцефалопатия (осложненная в 6 случаях ишемическим инсультом). У всех пациентов с ИБС обнаружены гемодинамически незначимые атеросклеротические изменения магистральных артерий головы, что отражает системный характер поражения сосудов при атеросклерозе.



Для изучения регуляции межклеточных взаимодействий нами разработана методика исследования влияния процессов свертывания крови (модель тромбообразования) и вискозиметрического течения с высоким напряжением сдвига (модель постстенотической сепарации кровотока) на секрецию цитокинов и свободных форм молекул клеточной адгезии, которая позволила оценить характер изменений их концентрации в ответ на процессы свертывания крови и фибринолиза (инкубация сгустка в течение 6 ч при 37 °С). Параллельно образцы крови подвергались воздействию стандартизированным вискозиметрическим течением на ротационном вискозиметре АКР-2 («Комед», Москва) при скорости сдвига 100 с<sup>-1</sup> (экспозиция 60 с при 37 °С) с оценкой содержания цитокинов и растворимых форм молекул клеточной адгезии после 6 ч инкубации.

Уровень циркулирующих (растворимых) форм молекул клеточной (МКА) адгезии: Р- (тромбоцитарного) и Е- (эндотелиального) селектинов, а также членов суперсемейства иммуноглобулинов — ICAM-1 и VCAM-1 исходных образцов плазмы крови, сыворотки (после инкубации сгустка) и плазмы (после реологического воздействия) исследован с помощью иммуноферментного (анализатор «Biomek-1000») метода (наборы фирмы R&D, GB). Концентрация интерлейкинов (IL): 1 $\alpha$ , 1 $\beta$ , 6, 8 и 10 определялась иммуноферментным методом ELISA (наборы фирмы «Immunotech», Франция). Концентрация эндотелина-1 (ET-1) оценивалась также методом ELISA (набор фирмы R&D, GB).

Состояние системы гемостаза анализировалось по результатам развернутой гемостазиограммы [4]. Состояние тромбоцитарного звена гемостаза оценивалось по данным серии агрегатограмм, записанных фотометрическим методом на агрегометре «Solar-1210» (Беларусь). В качестве индукторов использованы: АДФ в конечных концентрациях 1 мкМ и 2.5 мкМ, адреналин — 2.5 мкМ концентрации, ристоцетин — 1 мг/дл.

Функциональное состояние тромбоцитов характеризовалось степенью агрегации, временем агрегации и скоростью первой волны агрегации (за 30 с).

Коагуляционный гемостаз исследован с учетом всех фаз свертывания крови: 1-я фаза АЧТВ, активность факторов VIII и X; 2-я фаза — ПТИ, активность II и V факторов коагуляционного каскада (определение активности факторов коагуляционного каскада проводилось по одностадийному тесту с дефицитными плазмами фирмы Stago, Франция), 3-я фаза — концентрация фибриногена, растворимых комплексов мономеров фибрина по  $\beta$ -нафтоловому и этаноловому тестам и тромбиновое время (ТВ).

Определение функциональной активности антитромбина-III (АТ-III) характеризовало антикоагулянтный потенциал крови.

Дополнительно проведено исследование паракоагуляционных дериватов фибриногена — растворимых комплексов мономеров фибрина (РКМФ) — основных показателей тромбинеми. Антитромботический потенциал оценивался с помощью изучения состояния фибринолитической системы по тестам Хагеман- и эуглобулинзависимого фибринолиза.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью Microsoft STATISTICA for Windows 6.0 и включала себя следующие этапы:

1) исследование нормальности распределения генеральной совокупности по каждому числовому ряду по критерию Колмогорова-Смирнова  $\lambda$  с оценкой значимости различий в форме распределений эмпирического и теоретического распределений;

2) достоверность различий выборок устанавливались с помощью *t*-критерия Стьюдента (критерий различий средних величин для связанных и независимых выборок с нормальным распределением);

3) в отдельных случаях были применены методы непараметрической статистики: критерий знаков (критерий различий в средних тенденциях для связанных выборок), критерий Wilcoxon (более мощный критерий различий в средних тенденциях для связанных выборок).

**Результаты и их обсуждение. 1. Данные гемостазиологического исследования.** Результаты агрегации тромбоцитов с использованием разных индукторов у пациентов основной и контрольной групп представлены в таблице 1.

Как следует из представленных данных, отмечено достоверное увеличение степени и скорости адреналин-агрегации в основной группе по сравнению с контролем. Повышение чувствительности тромбоцитов к низким концентрациям АДФ (повышение степени и ускорение первичной агрегации) отмечалось нами и ранее [3].

Выявлена устойчивая тенденция к развитию гиперадгезивного состояния тромбоцитов в обеих группах пациентов, однако, основная группа пациентов характеризуется статистически

Таблица 1. Состояние адгезивной и агрегационной функции тромбоцитов у пациентов основной и контрольной группы ( $M \pm \sigma$ )

Параметр/Индуктор	Контрольная группа, n = 12	Основная группа, n = 17
<b>АДФ 1.0 мкМ</b>		
Степень агрегации (%)	19.48 ± 17.7	49.61 ± 83.36*
Время агрегации (с)	117.7 ± 61.87	195.95 ± 187.0
Скорость первичной агрегации (%/мин за первые 30 с)	15.88 ± 24.38	19.19 ± 17.33
<b>АДФ 2.5 мкМ</b>		
Степень агрегации, %	52.06 ± 36.58	80.85 ± 81.37
Время агрегации, с	236.92 ± 203.40	257.65 ± 179.82
Скорость первичной агрегации, (%/мин за первые 30 с)	21.18 ± 11.0	37.27 ± 36.68*
<b>Адреналин 2.5 мкМ</b>		
Степень агрегации, %	79.73 ± 29.40	138.95 ± 91.05*
Время агрегации, с	419.17 ± 116.46	484.52 ± 65.93
Скорость первичной агрегации, (%/мин за первые 30 с)	17.03 ± 6.87	23.31 ± 14.48*
<b>Ристоцетин 1.0 мг/мл</b>		
Степень агрегации, %	64.98 ± 37.61	63.94 ± 45.49
Время агрегации, с	412.67 ± 127.74	389.65 ± 136.81
Скорость первичной агрегации (%/мин за первые 30 с)	12.88 ± 7.91	17.08 ± 11.25*

\* — достоверные ( $P < 0.05$ ) различия по сравнению с контрольной группой (тест Колмогорова-Смирнова)

значимым увеличением скорости первичной ристоцетин-агглютинации, что соответствует их более выраженному гиперадгезивному состоянию по сравнению с контролем (первая фаза ристоцетин-агглютинации характеризует адгезию, а вторая — фазу секреции).

Таким образом, состояние тромбоцитарного звена гемостаза характеризуется нарушением межклеточных взаимодействий в системах «тромбоцит-тромбоцит» (гомотипическая адгезия) и «тромбоцит-субстрат» (гетеротипическая адгезия типа «клетка-субстрат» — «тромбоцит-фактор

Таблица 2. Параметры коагуляционного гемостаза и антикоагулянтного потенциала у пациентов контрольной и опытной групп ( $M \pm \sigma$ )

Показатель	Контрольная группа, n = 12	Основная группа, n = 17
Тромбоциты, ( $10^9/л$ )	282.81 ± 50.27	276.47 ± 62.85
Каолин-кефалиновое время, с	28.58 ± 11.82	29.64 ± 6.34
ПТИ, у. е.	0.95 ± 0.05	0.94 ± 0.05
Фибриноген, г/л	3.80 ± 0.79	3.95 ± 0.62
РКМФ, мл/л:		
— β-нафтоловая проба	44.75 ± 12.99	53.35 ± 28.33
— этаноловая проба	1.50 ± 0.67	2.41 ± 2.26
Тромбиновое время, с	14.5 ± 9.17	11.4 ± 2.03*
Антитромбин-III, функциональная активность, %	32.36 ± 6.21	39.35 ± 11.71*
Гематокрит, л/л	43.08 ± 3.34	44.64 ± 4.06
Активность II фактора, с	27.66 ± 43.4	14.9 ± 2.62
Активность V, с	28.27 ± 56.43	19.27 ± 6.08*
Активность F VIII, с	96.7 ± 37.75	102.13 ± 50.4
Активность F X, с	34.00 ± 54.76	57.5 ± 75.61

\* — достоверные различия по сравнению с контрольной группой (тест Колмогорова-Смирнова и *t-тест*)

ВиллеБранда») и характеризует смещение гемостазиологического равновесия в ответ на использование всего спектра использованных индукторов.

Основная группа пациентов с атеросклерозом, несмотря на соответствие клинических вариантов течения ишемического поражения сердца и мозга, характеризуется повышением чувствительности тромбоцитов к широкому спектру индукторов агрегации и адгезии.

Как известно, V фактор имеет ключевое значение в развитии острого и хронического диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови. Его активность характеризуется не только количеством синтезируемого в печени фактора, но и является точкой приложения для комплекса антикоагулянтов (протеины С и S) [12–18]. Поэтому полученные данные доказывают не только активацию 2-й фазы свертывания крови, но и свидетельствуют о гемостатическом дисбалансе, связанном со снижением антикоагулянтного потенциала.

Исследование антикоагулянтного потенциала по функциональной активности антитромбина-III подтвердило его снижение в обеих группах пациентов, однако среднее значение функциональной активности этого антикоагулянта в основной группе оказалось достоверно выше. Высокая активность исследованных факторов свертывания крови также подтверждает снижение антикоагулянтного потенциала, но, в тоже время, и активацию компенсаторных антитромботических механизмов в основной группе.

**2. Результаты гемореологического исследования.** Результаты проведенного гемореологического исследования приведены на рисунке и представлены в виде усредненной кривой зависимости «вязкость-скорость сдвига».

Вискозиметрическое исследование показало увеличение вязкости крови во всем диапазоне скоростей сдвига при стандартизованном гематокрите, что отражает особенности текучести крови и структурно-функциональных параметров эритроцитов при изучаемой патологии.

Отмеченное у пациентов, подвергшихся низкоуровневому радиационному воздействию, повышение плато характеризует более высокую суспензионную устойчивость эритроцитов и отсутствие компенсаторной реакции, а, следовательно, высокую тромбогенную опасность.

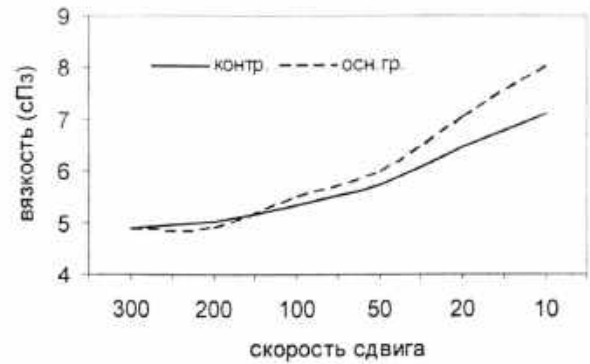
Таким образом, гемореологические исследования подтверждают наличие более высокой суспензионной устойчивости образцов крови, взятых у пациентов основной группы. Это обстоятельство, согласующееся с данными [2], наряду с состоянием гемостаза является еще одним фактором повышенной тромбогенной опасности, которая при сохранении параметров сердечного выброса и центральной гемодинамики характеризует большее напряжение сдвига, необходимое для прохождения эритроцитов по сосудам среднего и мелкого калибра.

**3. Результаты исследования межклеточных взаимодействий.** Уровень цитокинов в ответ на процессы свертывания крови и реологическое воздействие у пациентов с атеросклерозом представлен в таблице 3.

Таблица 3. Уровень цитокинов в ответ на процессы свертывания крови и реологическое воздействие у пациентов с атеросклерозом (M ± σ)

Исследуемый цитокин	Исходная концентрация в плазме	Концентрация в плазме после реологического воздействия	Концентрация в сыворотке после свертывания крови
IL-1α (нг/мл)	12.90 ± 6.72	62.09 ± 51.63*	51.68 ± 48.54*
IL-1β (нг/мл)	55.28 ± 14.09	680.95 ± 589.97*	133.98 ± 132.68*·†
IL-6 (нг/мл)	65.16 ± 55.66	1610.81 ± 650.78*	847.55 ± 676.21*·†
IL-8 (нг/мл)	0	60.25 ± 42.75*	51.98 ± 44.46*
IL-10 (нг/мл)	0.81 ± 0.40	158.14 ± 112.62*	9.72 ± 4.78*·†
ET-1 (пг/мл)	15.88 ± 15.83	35.46 ± 11.49*	17.89 ± 15.16†

Примечания: нормальный уровень содержания цитокинов в крови составляет 0–10 нг/мл; нормальный уровень содержания эндотелина в крови для неэкстрагированных образцов составляет 0–30 пг/мл; \* — достоверные ( $P < 0.05$ ) различия по сравнению с исходными значениями (*t-тест*); † — достоверные различия между экспрессией в ответ на реологическое воздействие и на процессы коагуляции и фибринолиза (*t-тест*).



Реологическая кривая «вязкость-скорость сдвига» у пациентов с атеросклерозом



Исходное содержание цитокинов в плазме пациентов характеризуется повышенным уровнем основных провоспалительных цитокинов (IL): IL-1 (преимущественно IL-1 $\beta$ ) и IL-6 даже без функциональной нагрузки при отсутствии острых и обострения хронических воспалительных процессов.

Процессы свертывания крови и сдвиговая активация значительно повышают уровень секреции всех определяемых цитокинов. Резкий достоверный рост концентрации IL-1 $\alpha$  и IL-8 в обоих тестах не показал статистических различий между ними. В то же время, реологическое воздействие вызвало значительно более выраженное высвобождение IL-1 $\beta$ , IL-6 и IL-10 при сдвиговой активации.

Сравнительный анализ уровня провоспалительных цитокинов у пациентов опытной и контрольной групп представлен в таблице 4.

**Таблица 4. Концентрация растворимых форм молекул клеточной адгезии в ответ на процессы свертывания крови и реологического воздействия у пациентов контрольной и опытной групп (M  $\pm$   $\sigma$ )**

Исследуемый цитокин	Исходная концентрация в плазме		Концентрация в плазме после реологического воздействия		Концентрация в сыворотке после свертывания крови	
	контроль	основная группа	контроль	основная группа	контроль	основная группа
IL-1 $\alpha$ (нг/мл)	5.72 $\pm$ 4.85	19.06 $\pm$ 6.25	42.08 $\pm$ 51.63	74.18 $\pm$ 53.28	60.08 $\pm$ 45.51	45.08 $\pm$ 32.74
IL-6 (нг/мл)	79.27 $\pm$ 52.36	55.20 $\pm$ 41.95	1439.81 $\pm$ 598.78	1717.74 $\pm$ 647.23	1180.88 $\pm$ 686.65	618.38 $\pm$ 357.16
IL-10 (нг/мл)	0.17 $\pm$ 0.08	0.53 $\pm$ 0.07	77.14 $\pm$ 18.62	191.55 $\pm$ 156.47	6.85 $\pm$ 0.78	8.71 $\pm$ 0.98
ET-1 (пг/мл)	2.72 $\pm$ 1.93	22.96 $\pm$ 25.85	2.86 $\pm$ 1.57	50.51 $\pm$ 57.65	2.86 $\pm$ 2.97	26.65 $\pm$ 24.35

Результаты исследования уровня растворимых форм молекул клеточной адгезии представлены в таблице 5.

**Таблица 5. Концентрация растворимых форм молекул клеточной адгезии в ответ на процессы свертывания крови и реологического воздействия при атеросклерозе у пациентов контрольной и опытной групп (M  $\pm$   $\sigma$ )**

Молекулы клеточной адгезии	Исходные значения	Коагуляция	Реологическое воздействие
P-селектин (нг/мл)	168.16 $\pm$ 127.62	589.67 $\pm$ 301.50*	118.54 $\pm$ 72.97*, †
E-селектин (нг/мл)	90.70 $\pm$ 67.93	80.87 $\pm$ 47.93	91.85 $\pm$ 63.39
ICAM-1 (нг/мл)	515.65 $\pm$ 124.49	550.38 $\pm$ 237.83*	700.22 $\pm$ 105.63*, †
VCAM-1 (нг/мл)	1039.74 $\pm$ 528.87	1087.12 $\pm$ 300.13	1263.29 $\pm$ 239.91

**Примечание:** нормальные значения содержания МКА в крови находятся в пределах 0–300 нг/мл для ICAM-1 и VCAM-1 и 0–30 нг/мл для E- и P-селективов; \* – достоверные различия по сравнению с исходными значениями (*t-тест*); † – достоверные различия между изменениями концентраций в пробах (*t-тест*).

Исходный уровень всех растворимых форм молекул клеточной адгезии оказался неожиданно высоким. Уровень E-селектина после свертывания крови достоверно снижается, тогда как после «сдвиговой активации» повышается в 13 и снижается в 16 образцах. Концентрация свободного P-селектина в процессе коагуляции возрастает однонаправленно и резко, и, в то же время, достоверно снижается после реологического воздействия.

Проведенный корреляционный анализ продемонстрировал плеiotропность цитокинов и регуляторный характер изменения в разработанной нами модели. Так, исходный уровень IL-1 $\beta$  оказался тесно связанным с ET-1 в процессах свертывания крови и реологическом тесте:  $r = 0.61$  и  $0.69$  соответственно,  $n = 29$ ,  $P < 0.02$ . Уровень IL-1 (также тесно и положительно коррелировал с остальными провоспалительными цитокинами и оказался тесно связанным с уровнем секреции IL-8 в обоих тестах. В процессах свертывания крови IL-1 (и IL-6 статистически значимо и тесно коррелируют с уровнем IL-8 ( $r = 0.83$  и  $0.63$ , соответственно  $P < 0.001$  и  $P < 0.02$ ).

Однако наибольший интерес представляет анализ зависимостей между секрецией цитокинов и молекул клеточной адгезии. Так, исходный уровень ICAM-1 достоверно отрицательно коррелировал с уровнями секреции IL-1 $\beta$ , IL-8 и IL-10 в реологическом тесте ( $r = -0.76$ ,  $-0.74$  и  $-0.71$ ,  $P < 0.02$ , соответственно), а исходный уровень VCAM-1 оказался отрицатель-



но связанным с секрецией IL-8. Обнаружена достоверная отрицательная связь между исходным уровнем IL-10 и ICAM-1 в процессе свертывания крови ( $r = -0.65$ ,  $n = 29$ ,  $P < 0.05$ ), сильная обратная связь между содержанием исходного E-селектина и ET-1 в реологической и коагуляционной пробах ( $r = -0.9$ ,  $-0.89$   $P < 0.002$ ). Уровень VCAM-1 статистически значимо отрицательно коррелировал со степенью и скоростью адгезии тромбоцитов (первая фаза ристоцетин-агрегации,  $r = -0.85$  и  $r = -0.59$ ,  $n = 29$ ,  $P < 0.05$ ), оказался тесно связанным со временем адреналин-агрегации ( $r = 0.71$ ,  $n = 12$ ,  $P < 0.05$ ), E-селектин оказался отрицательно связанным с активированным частичным тромбопластиновым временем ( $P < 0.05$ ), а уровень P-селектина отрицательно коррелировал с агрегационной активностью тромбоцитов ( $P < 0.05$ ).

Ишемия — мощный фактор активации эритропоэза, является стимулом для увеличения количества эритроцитов и/или среднего объема клетки [11]. В соответствии с более ранними исследованиями [2, 4], деформируемость клетки отрицательно коррелировала с ее объемом ( $r = -0.56$ ,  $P < 0.05$ ) и положительно коррелировала с количеством эритроцитов ( $r = 0.55$ ,  $P < 0.05$ ).

Обнаруженные явления, вероятно, могут быть связаны с повышением концентрации фибриногена и/или других молекул внеклеточного матрикса (фибронектин, фактор Виллебранда), принимающих участие в образовании межклеточных контактов [5–7, 11].

Принято считать, что IL-1 вызывает секрецию многочисленных цитокинов, включая хемокины, факторы роста, IL-6 и IL-1 [1]. В соответствии с различными экспериментальными данными, IL-6 непосредственно не секретируется эндотелиоцитами, однако, его возможная роль в атерогенезе определяется тромбопоэтическими свойствами, поскольку IL-6 ускоряет созревание мегакариоцитов, и вместе с IL-1 активизирует синтез белков острой фазы [1]. Принимая во внимание, что синтез острофазных реагентов инициируется провоспалительными цитокинами (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6), уровень фибриногена (независимый от классических факторов риска) отражает выраженность воспалительной реакции при атеросклерозе.

Примечательно, что и в ответ на процессы коагуляции, и в ответ на реологический стресс отмечен высокий уровень IL-6 (по сравнению с контролем). Однако тот факт, что исходный уровень — IL-1 (и IL-6 повышен, и, во-вторых, поскольку возможно более быстрое связывание IL-6 с рецептором на клеточной поверхности (активация процессами свертывания крови), все это вместе говорит о различных механизмах активации и трансклеточного метаболизма [15].

Рецептор для IL-6 состоит из двух мембранных белков: лиганд-связывающей субъединицы и несвязывающего трансдуктора gp 130. Показано, что при связывании IL-6 с рецептором обе субъединицы ассоциируются с высокой аффинностью в течение 5 мин при 37 °C и сохраняют ее, по крайней мере, более 40 мин. Выдвинута гипотеза, что gp130 необходим для трансдукции сигнала при связывании с рецептором и других цитокинов [1, 6].

Показано [14], что IL-8 стимулирует миграцию гранулоцитов, моноцитов, Т-лимфоцитов и фибробластов в ответ на активацию. Один из путей активации — объект нашего интереса: он связан с моноцитами и тромбоцитами, которые посредством молекул клеточной адгезии активируют эндотелий [4]. Напротив, IL-10 ингибирует синтез цитокинов, вызванный Т-лимфоцитами, блокируя НАД-окислительный (и окислительный метаболизм), уменьшая адгезию моноцитов [15].

Наличие различий в уровне провоспалительных цитокинов у пациентов основной и контрольных групп, объясняется тем, что ионизирующая радиация может являться причиной повреждения генетического аппарата отдельных клеток. Подтверждением этого предположения являются данные, полученные нами совместно с коллегами из университета г. Лестера (Великобритания) и Института общей генетики РАН. В проведенном экспериментальном исследовании, проанализированном тремя независимыми экспертами, установлен достоверный рост частоты мутаций в мини-сателлитной фракции ДНК у детей, подвергшихся низкоуровневому радиационному воздействию [9].

В заключение хочется обратить внимание на то, что образцы крови у группы пациентов, подвергшихся низкоуровневому радиационному воздействию, характеризуются более высоким уровнем E-селектина и IL-6 при реологическом воздействии по сравнению с посткоагуляционным, тогда как в контрольной группе их содержание в обоих тестах не различалось. Необходимо дополнительное исследование роли ET-1, E-селектина и IL-6 как возможных маркеров радиационного воздействия.

У пациентов основной группы реологическое воздействие вызывало рост концентрации IL-10 и снижение содержания этого цитокина после инкубации сгустка крови, тогда как в

контрольной группе этой разницы не обнаружено. Учитывая синхронный характер изменения содержания Е-селектина, IL-6 и IL-10 в результате свертывания, а также возможный общий путь трансдукции сигнала, реализуемый через субъединицу gp130, следует предположить, что у пациентов, подвергающихся низкоуровневому радиационному воздействию, имеет место регуляторный дисбаланс цитокинов, связанный с увеличением (по сравнению с нормой) секреции и/или шеддинга в ответ на активационный сигнал, что может вносить существенный вклад в развитие атеросклероза.

### Литература

1. Пальцев М. А., Иванов А. А. Межклеточные взаимодействия. М., 1995.
2. Семенюк Я. П. // Воен. мед. ж. 1995. № 9. С. 61—63.
3. Тепляков А. И., Кручинский Н. Г., Климов В. Т. и др. // Инженерно-физический журнал. 1996. Т. 69, № 3. С. 451—455.
4. Тепляков А. И., Кручинский Н. Г., Прищепова Е. В. и др. // Ангиология и сосудистая хирургия. Т. 5, № 3. С. 11—15.
5. Akira S., Taga T., Kishimoto T. // *Adv. Immunol.* 1993. Vol. 54. P. 1—78.
6. Bevilacqua M. P., Nelson R. M. // *Thromb. Haemost.* 1993. Vol. 70, 1. P. 152—154.
7. Carlos T. M., Harlan J. M. // *Blood.* 1994. Vol. 84, N 7. P. 2068—2101.
8. Dinarello C. A. // *Adv. Immunol.* 1989. Vol. 44. P. 153—205.
9. Dubrova Y. E., Nesterov V. N., Krouchinsky N. G. et al. // *Nature.* 1996. Vol. 380. P. 683—686.
10. Isshiki H., Tanabe O., Akira S. et al. // *Mol. Cell. Biol.* 1990. Vol. 10. P. 2757—2764.
11. Kishimoto T. // *Blood.* 1989. Vol. 74. P. 110.
12. Koch A. E., Polverini P. J., Kunkel S. L. et al. // *Science.* 1992. Vol. 258. P. 1798—1801.
13. Krouchinsky N. G., Teplyakov A. I., Ostapenko V. A., Kurilenko E. G. // *Thromb. Haemost.* 1993. Vol. 69, N 6. P. 1131.
14. Nicola N. A. *Guidebook to Cytokines and Their Receptors.* Oxford: A Sambrook and Tooze Publication and Oxford University Press. 1994.
15. O'Brien J. R. // *Lancet.* 1990. Vol. 335, N 8691. P. 711—713.
16. Rennick D., Berg D., Holland J. // *Progr. Growth Factors Res.* 1992. Vol. 4. P. 207—227.
17. Ugarova T., Agbanyo F., Plow E. F. // *Thromb. Haemost.* 1995. Vol. 74. P. 253—257.
18. Verstraete M., Vermilen J. *Thrombosis.* Belgium, 1984.

A. I. TEPLYAKOV, E. V. PRISCHEPOVA, N. V. AKULICH,  
D. V. TEPLYAKOVA, N. G. KRUCHINSKY

#### ROLE OF CYTOKINES AND CELL ADHESION MOLECULES IN PATHOGENESIS OF THE ATHEROSCLEROSIS IN PATIENTS EXPOSED TO LOW-LEVEL IONIZING IRRADIATION AND LIVING IN AREAS EXPOSED TO RADIONUCLIDE CONTAMINATION

*Research Institute of Ecological and Professional Pathology, Mogilev, Belarus*

### Summary

Mechanisms of intercellular communication disturbances during atherogenesis studies were investigated in 29 patients with atherosclerotic lesions. The research of the initial cytokines (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, endothelin-1) and soluble cell adhesion molecules (P-, E-selectins, ICAM-1, VCAM-1) levels and changes in their concentrations in response to coagulation and high shear stress using developed technique are presented.

Atherosclerotic lesions of vascular walls were shown to correlate with increased levels of all intercellular adhesion molecules and inflammatory cytokines (IL-1 $\beta$  and IL-6). Distinct elevation of cytokines and bidirectional concentration changes of intercellular adhesion molecules was demonstrated. Soluble cell adhesion molecules were proposed to play pathophysiological role in downregulation of cytokines secretion. Thus, proposed interdisciplinary approaches are adequate for research of molecular and cell mechanisms of atherogenesis and worth further development.