

МЕХАНИЗМ ИЗМЕНЕНИЯ ИММУННОГО СТАТУСА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ДЕСИНХРОНОЗЕ В УСЛОВИЯХ СВЕТОДИОДНОГО ОСВЕЩЕНИЯ

Огнева О.И., Осиков М.В., Гизингер О.А., Федосов А.А.

ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (454092, Челябинск, ул. Воровского, 64, e-mail: prof.osikov@yandex.ru)

Изменение образа жизни и искусственное увеличение продолжительности светового дня, увеличение количества людей, проживающих в мегаполисах и крупных городах, а также переход на энергосберегающие источники света приводит к высокому риску возникновения десинхроноза в условиях светодиодного освещения. Десинхроноз рассматривается как инициирующий фактор развития патологии сердечно-сосудистой, центральной нервной систем, желудочно-кишечного тракта и др., в том числе в связи с изменением иммунного статуса. Для разработки патогенетически обоснованных методов и средств коррекции и профилактики последствий десинхроноза необходимо понимание механизма изменения иммунного статуса при десинхронозе. Цель работы – исследовать механизм изменения адаптивного иммунитета при экспериментальном десинхронозе в условиях светодиодного искусственного освещения. Исследование выполнено на 130 нелинейных половозрелых морских свинок, разделенных на 2 группы. Группа 1 – животные в условиях стандартного фиксированного освещения, генерируемого светодиодными носителями с цветовой температурой 4500 К (белый свет). Группа 2 – десинхроноз в условиях светодиодного освещения. Световой десинхроноз создавали путём содержания лабораторных животных при круглосуточном светодиодном освещении в течение 30 суток. В периферической крови на 10, 20 и 30 сутки оценивали количество лейкоцитов, концентрацию интерлейкина – 4, интерферона-гамма, мелатонина, кортизола. Оценку Th1-зависимого иммунного ответа проводили по количеству антителообразующих клеток (АОК) в селезенке крыс, иммунизированных аллогенными эритроцитами, Th1-зависимого иммунного ответа – по реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) у крыс, иммунизированных аллогенными эритроцитами. Установлено, что при экспериментальном десинхронозе в условиях светодиодного освещения установлена лимфоцитопения, депрессия Th1- и Th2-зависимого адаптивного иммунитета, снижение концентрации интерлейкина-4, интерферона-гамма на 20 и 30 сутки наблюдения. Экспериментальный десинхроноз в условиях светодиодного освещения сопровождается снижением концентрации мелатонина и повышением концентрации кортизола в периферической крови на 10, 20 и 30 сутки наблюдения. Угнетение Th1- и Th2-зависимого адаптивного иммунитета происходит по мере снижения количества лимфоцитов в периферической крови, снижения концентрации интерлейкина-4, интерферона-гамма, мелатонина в крови и повышения концентрации кортизола в крови.

Ключевые слова: иммунитет, иммунный статус, десинхроноз, мелатонин, светодиодные источники освещения.

MECHANISM OF IMMUNE STATUS CHANGES IN EXPERIMENTAL DESYNCHRONOSIS INDUCED BY LED LIGHTING

Ogneva O.I., Osikov M.V., Gizinger O.A., Fedosov A.A.

South Ural State Medical University of Health Ministry of Russia, Chelyabinsk, Russia (454092, Chelyabinsk, Vorovskogo str., 64), e-mail: prof.osikov@yandex.ru)

Lifestyle changes and artificial prolongation of daylight hours, population growth in megalopolises and large cities, as well as the transition to energy-saving light sources lead to a high risk of desynchronosis induced by LED lighting. Desynchronosis is considered both as the initiation factor in the development of cardiovascular, central nervous system, gastrointestinal tract diseases and to be due to immune status changes. To develop pathogenetic valid methods and means of the correction and prevention of desynchronosis effects, the mechanism of changes in the immune status in case of desynchronosis must be thoroughly understood. The aim of the study is to explore the mechanism of adaptive immunity change in experimental desynchronosis induced by LED lighting. Two groups of 130 nonlinear adult guinea pigs were under experiment. Group 1 – animals were exposed to a standard fixed lighting generated by the LED light sources with a color temperature of 4500 K (white light). Group 2 - animals with desynchronosis induced by LED lighting. Laboratory animals were exposed to day and night LED lighting for 30 days to induce light desynchronosis. The number of leukocytes, concentration of interleukin-4, interferon-gamma, melatonin cortisol were evaluated in 10, 20, 30 days. Th1-

dependent immune response was assessed by the number of antibody producing cells in the rats' spleen immunized with allogeneic erythrocytes, Th1-dependent immune response – by delayed-type hypersensitivity (DTH) in rats immunized with allogeneic erythrocytes. Lymphocytopenia, depression of Th1- and Th2-dependent adaptive immunity, decrease of concentration of IL-4, interferon-gamma in 20 and 30 days were noted in experimental desynchronization induced by LED lighting. LED lighting induced experimental desynchronization is accompanied by the reduction of concentrations of melatonin and increase of cortisol levels in peripheral blood on 10, 20 and 30 days. Inhibition of Th1- and Th2-dependent adaptive immunity occurs when the number of lymphocytes in the peripheral blood and the concentration of IL-4, interferon-gamma, melatonin in the blood are reduced and concentration of cortisol in blood is increased.

Keywords: immunity, immune status, desynchronization, melatonin, LED light sources.

Изучение механизма нарушений гомеостаза, поиск и апробация патогенетически обоснованных средств и методов его коррекции является актуальной проблемой современной медицины [3, 5]. Коррекция нарушений гомеостаза с использованием эндогенных биорегуляторов предполагает воздействие на ключевые этапы патогенеза и минимальный набор побочных эффектов [2, 4, 6, 7]. Особое значение в патофизиологии имеют пограничные, переходные между здоровьем и болезнью состояния, которые можно рассматривать как предшествующие развитию серьезной патологии сердечно-сосудистой, центральной нервной и др. систем. В настоящее время все большее число людей находится в ситуациях, когда их привычный жизненный уклад полностью или частично перестраивается: перемещения через несколько часовых поясов с большими скоростями, работа в условиях вахтовой организации труда в приполярных областях и на Крайнем Севере, работа в ночные смены или по «скользящему» графику и другие обстоятельства, частично или полностью ломающие привычный уклад жизни. Использование искусственного освещения в ночное время удлиняет световой период и может приводить к возникновению десинхроноза, развитие которого связывают с изменением синтеза мелатонина [1, 8]. Показано, что изменение цикличности синтеза и секреции мелатонина нарушает процессы пролиферации, дифференцировки, миграции, кооперации иммунокомпетентных клеток [9]. Цель работы – исследовать механизм изменения адаптивного иммунитета при экспериментальном десинхронозе в условиях светодиодного искусственного освещения.

Материалы и методы исследования. Исследование выполнено на 130 нелинейных половозрелых морских свинок массой 300 ± 50 г, которых содержали в стандартных условиях вивария, в соответствии с правилами гуманного отношения к животным, методическими рекомендациями по их выведению из опыта и эвтаназии. Морская свинка в отличие от других экспериментальных животных (крысы, мыши) по образу жизни и световосприятию является наиболее адекватным объектом для изучения свет-ассоциированных измененных состояний гомеостаза с экстраполированием на организм человека. Животные случайным образом были распределены на 2 группы. Группа 1 (n=66) – животные, находящиеся в условиях стандартного фиксированного (12 ч свет/12 ч темнота)

освещения (СФО), генерируемого светодиодами носителями («Открытые инженерные системы», Россия), цветовая температура 4500 К (белый свет), мощность светового потока 0,03 Вт/м² при длине волны 360 нм, коэффициент пульсации светового потока 1 %, освещенность 400 лк. Группа 2 (n=64) – десинхроноз в условиях светодиодного освещения. Световой десинхроноз создавали искусственно путём содержания лабораторных животных при круглосуточном освещении [1]. Кровь у животных забирали путем пункции левого желудочка сердца на 10 сутки, 20 сутки, 30 сутки эксперимента. Количество лейкоцитов в крови определяли общепринятым меланжерным методом в камере Горяева. Лейкоцитарную формулу подсчитывали в мазках крови, окрашенных по Романовскому – Гимзе, количество клеток выражали в относительных (%) и в абсолютных ($\cdot 10^9$ /л) величинах. Оценку гуморального иммунного ответа проводили по количеству антителообразующих клеток (АОК) в селезенке крыс, иммунизированных аллогенными эритроцитами, в абсолютных величинах и в пересчете на ядросодержащие клетки (ЯСК) селезенки. Реакцию гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) у крыс, иммунизированных аллогенными эритроцитами, оценивали по выраженности воспалительного отека стопы. Методом иммуноферментного анализа на аппарате «Иммулайт 2000» (США) определяли в сыворотке концентрацию интерлейкина – 4 (ИЛ-4), интерферона-гамма (ИФН-гамма) с помощью специфичных для морских свинок тест-систем «USCN Life Science Inc.» (Китай), концентрацию мелатонина, кортизола – с помощью тест-систем «Cusabio» (Китай). Статистический анализ проведен с использованием пакета прикладных программ Statistica for Windows v.10.0. Проверку статистических гипотез проводили с использованием критериев Краскела – Уоллиса, Манна – Уитни, Вальда – Вольфовитца, наличие связи между показателями исследовали с помощью коэффициента корреляции Спирмена.

Результаты исследования и их обсуждение. При экспериментальном десинхронозе в условиях светодиодного освещения отмечено снижение интенсивности реакции ГЗТ на 20 и 30 сутки эксперимента по сравнению с данными группы стандартного фиксированного светодиодного освещения (табл. 1). Кроме этого, наблюдается уменьшение абсолютного количества АОК в селезенке на 20 и 30 сутки. Снижение количества АОК в селезенке на 20 и 30 сутки сохраняется при пересчете на ядросодержащие клетки селезенки. Данные изменения косвенно указывают на угнетение Th1- и Th2-зависимого иммунного ответа морских свинок при экспериментальном десинхронозе. При исследовании концентрации в периферической крови ИЛ-4 и ИФН- γ установлено, что у лабораторных животных при десинхронозе значимо при сравнении с группой стандартного фиксированного светодиодного освещения снижается концентрация ИЛ-4 на 20 сутки и 30 сутки

эксперимента (табл. 2). Концентрация ИФН- γ снижается на 30 сутки по сравнению с группой контроля.

Установлено, что при десинхронозе в условиях светодиодного освещения концентрация мелатонина в крови снижается во все сроки наблюдения - на 10 сутки, 20 сутки и 30 сутки (табл. 2). Концентрация кортизола в периферической крови повышается на 10 сутки, 20 сутки и 30 сутки.

Итак, при экспериментальном десинхронозе в условиях светодиодного освещения наблюдается угнетение Th1- и Th2-зависимого иммунного ответа, снижение концентрации в периферической крови ИЛ-4 и ИФН- γ , мелатонина, повышение концентрации в периферической крови кортизола.

Механизм депрессии адаптивного иммунитета при десинхронозе является многофакторным. Во-первых, для реализации полноценного иммунного ответа необходимо достаточное количество в периферической крови его эффекторов – лимфоцитов. Нами при экспериментальном десинхронозе установлена лимфоцитопения. Количество лимфоцитов в периферической крови значительно снижается на 30 сутки наблюдения ($3,46 \cdot 10^9/\text{л} \pm 0,25 \cdot 10^9/\text{л}$; в контрольной группе $4,09 \cdot 10^9/\text{л} \pm 0,16 \cdot 10^9/\text{л}$; $p < 0,05$). С использованием корреляционного анализа на 30 сутки эксперимента установлено наличие прямой слабой связи между количеством лимфоцитов в периферической крови и показателями интенсивности реакции ГЗТ (коэффициент корреляции Спирмена $R=0,98$; $p < 0,05$) и абсолютным количеством АОК в селезенке ($R=0,96$; $p < 0,05$).

Во-вторых, при экспериментальном десинхронозе зафиксирована дисрегуляция иммунного ответа в связи с уменьшением концентрации в крови ИЛ-4 и ИФН-гамма. Снижение концентрации цитокинов в крови, с одной стороны, может быть связано угнетением их продукции лимфоцитами вследствие уменьшения их количества. С другой стороны, снижение концентрации мелатонина в крови приводит к снижению продукции цитокинов иммунокомпетентными клетками, т.к. мелатонин, связываясь со специфичными к нему рецепторами на иммунокомпетентных клетках, участвует в регуляции продукции цитокинов [10]. Снижение концентрации в крови ИЛ-4 и ИФН-гамма имеет значение не только в угнетении адаптивного иммунитета, но и в снижении количества лимфоцитов. Снижение концентрации ИФН- γ и ИЛ-4 ассоциировано со снижением концентрации мелатонина, а угнетение Th1- и Th2-зависимого иммунного ответа прогрессирует по мере снижения уровня ИФН- γ и ИЛ-4 соответственно. Нами обнаружена обратная слабая связь между концентрацией мелатонина и концентрацией ИФН- γ в плазме ($R=0,42$; $p < 0,05$). Зафиксированная при экспериментальном десинхронозе депрессия адаптивного иммунитета ассоциирована с изменением концентрации ИЛ-4 и ИФН- γ . При проведении

корреляционного анализа на 30 сутки десинхроноза установлена прямая сильная связь между интенсивностью реакции ГЗТ и концентрацией ИФН- γ ($R=0,93$; $p<0,05$), прямая сильная связь между количеством АОК в селезенке и концентрацией ИЛ-4 ($R=0,97$; $p<0,05$).

В-третьих, изменения адаптивного иммунитета при десинхронозе обусловлены дефицитом эндогенного мелатонина в условиях функциональной пинеалэктомии. Имеются данные о наличии на лимфоцитах рецепторов к мелатонину, связываясь с которыми, мелатонин оказывает влияние на их функциональную активность [8]. Известно, что сами лимфоциты способны вырабатывать мелатонин, имеющий значение в ауто- и паракринной регуляции функциональной активности клеток. В связи со снижением количества лимфоцитов при десинхронозе, можно предположить, что участие экстрапинеального мелатонина в регуляции функции лимфоцитов ограничено и вносит вклад в формирование дисфункции лимфоцитов. Нами на 20 и 30 сутки эксперимента установлена прямая средней силы связь между концентрацией мелатонина в крови и показателями интенсивности реакции ГЗТ (на 20 сутки $R=0,75$; $p<0,05$; на 30 сутки $R=0,95$; $p<0,05$) и абсолютным количеством АОК в селезенке (на 20 сутки $R=0,50$; $p<0,05$; на 30 сутки $R=0,97$; $p<0,05$).

В-четвертых, если десинхроноз рассматривается как стресс-реакция, то сопровождающее ее повышение концентрации катехоламинов и кортизола в крови приводит к угнетению пролиферации и дифференцировки клеток лимфоидного ряда в тимусе и в селезенке. Как было указано выше, одним из проявлений экспериментального десинхроноза выступает повышение концентрации кортизола в крови – неременный атрибут стресс-реакции. С использованием корреляционного анализа на 30 сутки эксперимента установлено наличие обратной слабой связи между концентрацией кортизола в периферической крови и показателями интенсивности реакции ГЗТ ($R=-0,23$; $p<0,05$) и абсолютным количеством АОК в селезенке ($R=-0,26$; $p<0,05$).

Выводы

1. При экспериментальном десинхронозе в условиях светодиодного освещения установлена лимфоцитопения, депрессия Th1- и Th2-зависимого адаптивного иммунитета, снижение концентрации интерлейкина-4, интерферона-гамма на 20 и 30 сутки наблюдения.
2. Экспериментальный десинхроноз в условиях светодиодного освещения сопровождается снижением концентрации мелатонина и повышением концентрации кортизола в периферической крови на 10, 20 и 30 сутки наблюдения.
3. Угнетение Th1- и Th2-зависимого адаптивного иммунитета происходит по мере снижения количества лимфоцитов в периферической крови, снижения концентрации интерлейкина-4, интерферона-гамма, мелатонина в крови и повышения концентрации кортизола в крови.

Таблица 1

Показатели адаптивного иммунитета при экспериментальном десинхронозе в условиях светодиодного освещения ($M \pm m$)

Показатели	10 сутки эксперимента		20 сутки эксперимента		30 сутки эксперимента	
	Группа 1 (n=16)	Группа 2 (n=14)	Группа 1 (n=14)	Группа 2 (n=14)	Группа 1 (n=16)	Группа 2 (n=16)
ГЗТ, мл	0,44±0,02	0,39±0,01	0,41±0,02	0,30±0,03 *	0,42±0,03	0,34±0,03 *
АОК в селезенке, • 10 ⁴ ед.	33,48±2,20	30,71±5,93	31,16±2,83	25,79±1,36 *	31,29±2,42	22,61±2,02 *
АОК в селезенке, • 10 ⁶ ЯСК	346,6±36,4	360,0±42,8	323,0±23,1	281,9±38,2 *	319,1±33,1	244,2±34,7 *

Примечание. Здесь и в табл. 2 * – статистически значимые ($p < 0,05$) различия с группой 1.

Таблица 2

Концентрация цитокинов и гормонов в крови при экспериментальном десинхронозе в условиях светодиодного освещения ($M \pm m$)

Показатели	СДО 10 сутки		СДО 20 сутки		СДО 30 сутки	
	Группа 1 (n=6)	Группа 2 (n=6)	Группа 1 (n=6)	Группа 2 (n=6)	Группа 1 (n=8)	Группа 2 (n=8)
ИФН-гамма, пг/мл	10,46±2,31	8,77±1,82	8,30±3,75	7,32±0,77	6,38±1,70	3,47±0,37 *
ИЛ-4, пг/мл	23,20±5,98	20,58±4,60	21,63±3,52	15,77±2,02 *	16,57±3,72	12,22±1,62 *
Мелатонин, нг/мл	5,10±0,10	4,31±0,11 *	4,45±0,17	3,75±0,24 *	4,71±0,12	3,12±0,11 *
Кортизол, нг/мл	178,89±2,43	186,35±1,87 *	181,81±2,62	187,60±2,59 *	183,29±1,12	188,58±2,42 *

Список литературы

1. Анисимов, В.Н. Мелатонин, роль в организме, применение в клинике / В.Н. Анисимов. – СПб.: Изд-во «Система», 2007. – 40 с.
2. Осиков, М.В. Влияние альфа-1-кислого гликопротеина на процессы свободнорадикального окисления при экспериментальной печеночной недостаточности / М.В. Осиков // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2007. – Т. 144, № 7. –

С. 29-31.

3. Осиков, М.В. Влияние гемодиализа на процессы свободно-радикального окисления у больных хронической почечной недостаточностью / М.В. Осиков, В.Ю. Ахматов, Л.В. Кривохижина // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Образование, здравоохранение, физическая культура. – 2007. – № 16 (71). – С. 95-97.
4. Осиков, М.В. Гемостазиологические эффекты альфа-1-кислого гликопротеина при экспериментальном септическом перитоните / М.В. Осиков, Е.В. Макаров, Л.В. Кривохижина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2007. – Т. 144, № 8. – С. 143-145.
5. Осиков, М.В. Реактивные изменения клеточно-гуморальной системы организма как типовой патологический процесс и его регуляция реактантами острой фазы: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Челябинск, 2008. – 44 с.
6. Осиков, М.В. Эритропоэтин как регулятор экспрессии тромбоцитарных гликопротеинов / М.В. Осиков, Т.А. Григорьев, А.А. Федосов, Д.А. Козочкин, М.А. Ильиных // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 1. – URL: www.science-education.ru/107-7731 (дата обращения: 25.05.2015).
7. Осиков, М.В. Современные представления о гемостазиологических эффектах эритропоэтина / М.В. Осиков, Т.А. Григорьев, А.А. Федосов // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 5-1. – С. 196-200.
8. Cernysiov V. The expression of MTNR3 and nuclear receptors in murine leucocytes / V. Cernysiov, R. Bozaite, M. Mauricas et al. // *In Vivo*. – 2014. – Vol. – 24 (5). – P. 827-830.
9. Claustrat A. The basic physiology and pathophysiology of melatonin / A. Claustrat, J. Brunand, G. Chazot // *Sleep Medicine Reviews*. – 2005. – Vol. 9. – P.11-24.
10. Zlotos D.P. MT1 and MT2 melatonin receptors: ligands, models, oligomers, and therapeutic potential / D.P. Zlotos, R. Jockers, E. Cecon et al. // *J. Med. Chem.* – 2014. – Vol. – 57 (8). – P. 3161-3185.

Рецензенты:

Куренков Е.Л., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой анатомии человека ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г.Челябинск;

Савочкина А.Ю., д.м.н., профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г.Челябинск.