

ИММУНОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ НЕЙРОСЕНСОРНОЙ ТУГОУХОСТИ

© 2021 г. Г. М. Бодиенкова¹, *, Е. В. Боклаженко¹

¹ФГБНУ “Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований”, Ангарск, Россия

Поступила в редакцию 10.06.2020 г.

После доработки 04.07.2020 г.

Принята к публикации 06.07.2020 г.

Цель исследования заключалась в выявлении изменений сыровоточных концентраций цитокинов, белков теплового шока (БТШ 27, БТШ 70), АТ к белкам нервной ткани и оценки их информативной значимости у пациентов с нейросенсорной тугоухостью (НСТ). Под наблюдением находились 38 мужчин, представляющих персонал летного состава (пилоты-инструкторы, командиры воздушного судна, бортмеханики), и 21 — “условно” здоровых мужчин, сопоставимых по возрасту. Установлены отдельные цитокины, вовлеченные в иммунновоспалительный процесс при НСТ. Выявленный дисбаланс цитокинов у обследованных пациентов характеризовался чрезмерной активацией основных воспалительных цитокинов (IL-1 β , TNF- α), противовоспалительного IL-4 на фоне снижения IL-2. Нарушение цитокиновой регуляции сопровождалось снижением концентрации одного из белков теплового шока, обладающего иммуномодулирующим действием, — БТШ 70. Показано, что нейроиммунная перестройка проявлялась усилением продукции аутоантител к белкам нервной ткани: S-100 и В-зав. Са-каналу, которые можно рассматривать в качестве маркеров аутоиммунного процесса при НСТ. Совокупность полученных результатов позволила обосновать отдельные наиболее информативные показатели, которые можно рекомендовать в качестве дополнительных критериев в диагностике нейросенсорной тугоухости.

Ключевые слова: нейросенсорная тугоухость, цитокины, белки теплового шока, антитела к нервной ткани, диагностика

DOI: 10.31857/S1027813321010039

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время нейросенсорная тугоухость (НСТ) во всех высокоразвитых странах занимает значительное место среди других форм сенсоневральной патологии. В структуре профессиональных заболеваний потеря слуха, вызванная шумом, составляет от 7 до 12% всех выявляемых случаев тугоухости различного генеза [1]. НСТ развивается в самом трудоспособном возрасте, имеет тенденцию к росту, что определяет медико-социальную значимость проблемы [2]. Для гражданской авиации особенно важна проблема нарушения слуха у лиц летного состава [3]. Изменения в организме, происходящие под влиянием шума, достаточно сложны и до конца не изучены. Нейросенсорная тугоухость относится к проблемным заболеваниям в плане диагностики и лечения. В основе его развития лежит нарушение чувствительных нервных волокон внутреннего уха, слухового нерва и центральных образований слухо-

вой системы. Вместе с тем, в свете современных представлений важную роль в механизмах развития и течения НСТ играет нейроиммунноэндокринная регуляция [4]. Благодаря взаимоотношениям нервной и иммунной систем, патология последних приобретает свои особенности, обусловленные не только прямым воздействием патогенного агента на ту или иную систему, но и опосредованно через изменения другой интегративной системы [5]. Кроме того, течение НСТ довольно часто сочетается с общесоматической патологией, в том числе с сердечно-сосудистой, что создает дополнительные сложности в ее выявлении и диктует необходимость разработки и совершенствования новых патогенетически обоснованных подходов к разработке иммунохимических маркеров и оценке их диагностической значимости.

Цель исследования — выявить изменения сыровоточных концентраций цитокинов, белков теплового шока (БТШ 27 и БТШ 70), АТ к белкам нервной ткани и оценить их информативную значимость у пациентов с профессиональной нейросенсорной тугоухостью.

* Адресат для корреспонденции: 665827, Россия, Иркутская область, г. Ангарск, 12а м-н, д. 3, а/я 1170; тел.: +7(3955)58-69-10 (доб. 1411); e-mail: immun11@ya.ru.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В клинике института проведено обследование 38 мужчин, представляющих персонал летного состава (пилоты-инструкторы, командиры воздушного судна, бортмеханики) с установленным диагнозом нейросенсорной тугоухости (НСТ). Средний возраст обследованных пациентов составил 52.0 ± 1.36 г. Клиническая верификация диагнозов осуществлялась врачами клиники в соответствии с Международной классификацией болезней 10-го пересмотра (МКБ-10). Критерием включения в основную группу было наличие установленного во время работы в контакте с вредным производственным фактором диагноза НСТ, отсутствие коморбидной патологии, которая могла бы повлиять на обмен цитокинов (ожирение, сахарный диабет, артериальная гипертензия и т.д.). Все обследования выполнены при поступлении в клинику, до проведения лечения.

Группа сравнения представлена 21 “условно” здоровыми лицами, которые по специфике профессиональной деятельности не подвергались хроническому воздействию шума (средний возраст — 50.35 ± 1.69 лет) и не имели на момент исследования острых и хронических (в стадии обострения) заболеваний. Кровь для исследования у пациентов брали однократно при поступлении в стационар, натощак, до проведения лечения, используя пробирки Vacutainer, которые центрифугировали при 1500 об./мин в течение 15 мин для получения сыворотки. Сыворотку отбирали в отдельные пробирки Эппендорф (Eppendorf). Содержание цитокинов (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-8, TNF- α , INF- γ) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем производства “Вектор-Бест” (г. Новосибирск). Концентрацию БТШ 70 и БТШ 27 в сыворотке крови определяли методом ИФА с использованием ELISA kits HSP 70 Assay Design (Enzo LifeScience, США) в соответствии с прилагаемой к набору инструкцией. С помощью стандартных тест-систем ЭЛИ-Нейро-Тест (МИЦ “Иммункулус” г. Москва) оценивали сывороточные концентрации АТ класса IgG к антигенам нервной ткани: нейрофиламентному протеину-200 (NF-200), глиальному фибриллярному кислому белку (GFAP), S-100, основному белку миелина (ОБМ), вольтажзависимому Са-каналу (В-зав. Са-канал), глутаматным рецепторам (Глу-Р), дофаминовым рецепторам (DA-Р), ГАМК-рецепторам (ГАМК-Р), серотониновым рецепторам (Сер-Р), холинорецепторам (Хол-Р), ДНК, β 2 гликопротеину (Б2ГП).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета прикладных программ “STATISTICA 6.0” (StatSoft, США). Возраст и стаж работы обследованных пациентов представлены в виде средней (М) и ее ошибки (m). Про-

верку нормальности распределения выполняли с использованием критерия Шапиро–Уилкса. Результаты представлены в виде медианы (Ме), нижнего (Q25) и верхнего (Q75) квартилей. Для определения значимости между независимыми выборками при ненормальном распределении использовали критерий Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$. Обследование пациентов проходило в соответствии с этическим стандартом Хельсинской декларации всемирной ассоциации “Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека” с поправками 2000 г. и “Правилами клинической практики в Российской Федерации”, утвержденными Приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003 г., с информированного согласия пациентов и по заключению местного этического комитета (протокол № 5 от 14.11.12 г.).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Активное участие цитокинов во многих жизненно важных процессах организма способствует развитию широкого спектра как функциональных, так и патоморфологических проявлений патологии человека [6]. Результаты оценки изменения сывороточных концентраций цитокинов у пациентов с НСТ (табл. 1) свидетельствуют о нарушении их дисбаланса. Установлено выраженное возрастание концентраций провоспалительных цитокинов: IL-1 β ($p = 0.00002$) и TNF α ($p = 0.002$) относительно лиц группы сравнения. Анализируя изменения противовоспалительного IL-4 у пациентов с НСТ, зарегистрировано также повышение его концентрации ($p = 0.005$). Что касается многофункционального IL-2, то концентрации его статистически значимо ($p = 0.03$) были ниже, чем в группе сравнения. IL-1 β и TNF α относятся к основным воспалительным цитокинам. IL-1 β — секреторные регуляторные белки, обеспечивающие медиаторное взаимодействие в иммунной системе и связи ее с другими системами, а TNF α — цитокины с цитотоксическим и регуляторным действием. Противовоспалительный IL-4 обладает чрезвычайно широким спектром действия. Известно, что к этому лимфокину на различных клетках организма находится рецептор, способный вступать в реакцию с другими цитокинами, благодаря чему проявляются конкурентные отношения про- и противовоспалительных цитокинов. Выявленные изменения цитокинового профиля указывают, что IL-1 β , TNF α , IL-4 и IL-2 могут являться важными факторами иммунопатогенеза при НСТ. Следует отметить, что регуляция защитных реакций организма цитокинами происходит не только в рамках иммунной системы, но и на уровне целостного организма, где цитокины осуществляют связь между иммунной,

Таблица 1. Изменения иммунохимических показателей у пациентов с НСТ, Me(Q₂₅–Q₇₅)

Наименования показателей, единицы измерения	Пациенты с НСТ	Группа сравнения	Показатель статистической значимости, <i>p</i>
БТШ 27, пг/мл	2.75 (0.41–8.17)	1.44 (1.32–1.6)	0.680
БТШ 70, пг/мл	0.05 (0.04–0.12)*	0.12 (0.09–0.13)	0.0003
IL-1β, пг/мл	64.5 (39.6–82.1)*	1.3 (0.55–2.01)	0.00002
IL-2, пг/мл	2.9 (2.08–5.06)*	4.9 (2.88–6.95)	0.030
IL-4, пг/мл	3.7 (0.01–8.6)*	0.01 (0.01–0.32)	0.005
IL-8, пг/мл	11.7 (1.1–43.8)	10.3 (0.01–14.6)	0.755
TNF-α, пг/мл	2.3 (1.2–3.2)*	0.01 (0.01–0.33)	0.002
INF-γ, пг/мл	0.01 (0.01–0.01)	0.01 (0.01–0.28)	0.781
ОБМ, усл. ед.	0.31 (0.26–0.35)	0.31 (0.27–0.36)	0.881
GFAP, усл. ед.	0.35 (0.30–0.42)	0.36 (0.29–0.44)	0.677
S-100, усл. ед.	0.32 (0.26–0.42)*	0.27 (0.23–0.33)	0.042
NF-200, усл. ед.	0.29 (0.25–0.32)	0.31 (0.24–0.32)	0.856
В-зав. Са кан, усл. ед.	0.24 (0.20–0.30)*	0.18 (0.16–0.22)	0.021
Хол-Р, усл. ед.	0.22 (0.19–0.28)	0.20 (0.16–0.23)	0.139
Глу-Р, усл. ед.	0.24 (0.22–0.30)	0.21 (0.17–0.26)	0.067
ГАМК, усл. ед.	0.24 (0.21–0.32)	0.21 (0.16–0.25)	0.052
ДА-Р, усл. ед.	0.23 (0.19–0.30)	0.21 (0.18–0.25)	0.182
Сер-Р, усл. ед.	0.26 (0.24–0.34)	0.24 (0.20–0.26)	0.058
ДНК, усл. ед.	0.17 (0.15–0.17)	0.14 (0.12–0.17)	0.120
В-2 ГП, усл. ед.	0.18 (0.15–0.18)	0.15 (0.11–0.19)	0.004

Примечание: * различия статистически значимы по сравнению группой сравнения при $p < 0.05$.

нервной, эндокринной, кроветворной и другими системами и таким образом служат для их вовлечения в организацию, регуляцию единой защитной реакции [7].

Исследованиями ряда авторов показана важная, при этом недостаточно изученная роль белков теплового шока (БТШ) в функционировании иммунной системы. Установлено, что пул этих белков обладает выраженным иммуномодулирующим действием, в том числе усиливает продукцию цитокинов [8, 9]. Для уточнения патогенетических механизмов развития повреждений на тканевом и клеточном уровнях определен интерес представляла оценка изменений в содержании БТШ 27 и БТШ 70, которым отводится важная роль в выживании клетки при воздействии различных стрессирующих факторов. БТШ 27 – белок конститутивно экспрессируется в физиологических условиях на низком уровне в нетрансформированных клетках. Шаперонная активность его зависит от посттрансляционных модификаций, например фосфорилирования [10]. БТШ 70 участвует в стабилизации структуры белков клетки и ее сохранении. Результаты выполненных исследований свидетельствуют о статистически значимом ($p = 0.003$) снижении концентрации БТШ 70 у пациентов с НСТ до

0.05 (0.04–0.12) пг/мл против 0.12 (0.09–0.13) пг/мл в группе сравнения. При этом содержание БТШ 27 возросло почти в 2 раза (2.72 (0.41–8.17) пг/мл) у обследованных пациентов при сопоставлении с группой сравнения (1.44 (1.32–1.60) пг/мл), однако не было статистически значимым. Установленное снижение в сыворотке крови БТШ 70 может быть обусловлено накоплением его внутри клетки, обеспечивая защиту внутриклеточных протеидов при воздействии стрессирующих факторов [11]. Считают, что повышенное содержание БТШ 70 в клетке является маркером клеточных и тканевых повреждений [12]. Важно отметить, что различные виды клеточного стресса приводят не только к увеличению внутриклеточного содержания БТШ, но и в ряде случаев индуцируют высвобождение их во внеклеточное пространство [13]. В нашем случае это касается БТШ 27.

Учитывая, что у обследованных нами пациентов течение НСТ сопровождается формированием мозговой дефицитарности, проявляющейся в виде нарушений церебрального энергетического обмена, функционального состояния нейронов соматосенсорной зоны коры головного мозга, таламических структур, когнитивной деятельности [14], на следующем этапе исследований нами

предпринята попытка выявить изменения в продукции антител (АТ) к ряду регуляторных белков нервной ткани. Основанием к тому явились данные литературы, свидетельствующие о том, что в повреждении ткани мозга важную роль играют аутоиммунные реакции. При этом уровни АТ могут служить маркерами развития и выраженности патологического процесса в специализированных структурах нервной ткани [15, 16]. Как следует из данных, представленных в табл. 1, у пациентов с НСТ течение заболевания сопровождалось увеличением сывороточных концентраций АТ к общему белку S-100 ($p = 0.042$) и АТ к В-зав. Са-каналу ($p = 0.021$), которые свидетельствуют об изменениях в задействованных молекулярных компонентах нервной ткани, на которые вырабатываются АТ [17]. Белки S-100 синтезируются глиальными клетками, а затем транспортируются в нейроны и составляют самую большую подгруппу так называемых кальций-связывающих белков, которые выполняют внутриклеточное и экстраклеточное регулирование многих процессов, обеспечивают рост и подвижность клеток, участвуют в регуляции клеточного цикла. Эти белки принимают участие в механизмах транскрипции и дифференциации, в энергетическом метаболизме, а также во многих других жизненно важных процессах, обеспечивающих жизнеспособность клетки [18, 19]. Установлено, что наиболее специфичный для мозга белок S-100B через фосфорилирование других белков участвует в передаче сигнала, обеспечивая тем самым пластические процессы. Аномалии уровней АТ к В-зав. Са-каналу предполагает нарушение водно-электролитного баланса и энергетического метаболизма нейронов, нарушения функции нервно-мышечных контактов и нейрон-нейронных взаимодействий [20]. Длительно сохраняющиеся высокие уровни АТ к указанным выше белкам, по-видимому, играют важную роль в развитии и течении НСТ, принимая участие в регуляции деятельности мозга. Совокупность полученных сведений позволила выделить наиболее информативные показатели (IL-1 β , TNF- α , IL-4, IL-2 БТШ 70, АТ к белкам: S-100 и В-зав. Са-каналу) в лабораторной диагностике профессиональной НСТ.

Таким образом, в результате исследований у пациентов с НСТ выявлены отдельные цитокины, вовлеченные в иммунновоспалительный процесс. Дисбаланс цитокинов характеризовался чрезмерной активацией основных воспалительных цитокинов (IL-1 β , TNF- α) противовоспалительного IL-4 на фоне снижения IL-2. Нарушение цитокиновой регуляции сопровождалось снижением концентрации одного из белков теплового шока, обладающего иммуномодулирующим действием, — БТШ 70. Низкие концентрации которого в сыворотке крови, по-видимому, обусловлены накоплением его внутри клетки, необходимым для стабилизации

внутриклеточных белков и ее сохранении при воздействии производственных стрессирующих факторов. Показано, что нейроиммунная перестройка проявлялась усилением продукции аутоантител к белкам нервной ткани: S-100 и В-зав. Са-каналу, которые можно рассматривать в качестве маркеров аутоиммунного процесса при НСТ. Совокупность полученных результатов позволила обосновать отдельные, наиболее значимые показатели, которые можно рекомендовать в качестве дополнительных критериев в диагностике нейросенсорной тугоухости.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена за счет финансовых средств, выделенных в рамках Государственного задания ФГБНУ ВСИМЭИ.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Этическое одобрение. Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

Информированное согласие. От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Преображенская Е.А., Сухова А.В., Ильницкая А.В., Зоркина Л.А. // Медицина труда и промышленная экология. 2017. № 2. С. 38–42.
2. Тарасова Н.В., Корженкова А.В. // Вестник медицинского института РЕАВИЗ. 2011. № 3. С. 20–26.
3. Шешегов П.М., Зинкин В.Н., Сливина Л.П. // Авиакосмическая и экологическая медицина. 2018. Т. 51. № 3. С. 62–68. <https://doi.org/10.21687/0233-528X-2018-52-3-62-68>
4. Лапко И.В., Кирьяков В.А., Павловская Н.А., Ошкардеров О.А., Климкин К.В. // Гигиена и санитария. 2016. Т. 95(11). С. 1061–1065.
5. Полетаев А.Б., Морозов С.Г., Ковалев И.Е. // Регуляторная метасистема (иммунонейроэндокринная регуляция гомеостаза). М.: Медицина, 2002. 168 с.
6. Савченко А.А., Здзиковский Д.Э., Борисов А.Г., Лузан Н.А. // Сибирское медицинское обозрение. 2013. № 1(79). С. 24–28.
7. Симбирцев А.С., Тотолян А.А. // Инфекционные болезни. 2015. № 2. С. 82–98.
8. Зяблицин А.В., Алекперов Э.А., Бойко А.А., Клинова А.В., Троянова Н.И., Сапожников А.М. // Иммунология. 2012. Т. 33. № 1. С. 49–50.
9. Бодиенкова Г.М., Курчевенко С.И. // Медицинская иммунология. 2018. Т. 20. № 6. С. 859–898.

10. Богатюк М.В., Кайгородова Е.В., Завьялова М.В. // Сибирский онкологический журн. 2014. Приложение 1. С. 23.
11. Bianchi A., Mouli D., Hupont S. et al. // Free Radic. Biol. Med. 2014. V. 76. P. 14–26.
12. Андреева Л.И. // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2002. Т. 1(2). С. 2–18.
13. Sapozhnikov A.M., Ponomarev E.D., Gusarova G.A., Telford G.V. // Cell proliferation. 2002. V. 35. P. 193–206.
14. Шевченко О.И., Лахман О.Л. // Экология человека. 2020. № 2. С. 18–23.
15. Гомазков О.А. // Нейрохимия. 2007. Т. 24. № 2. С. 101–120.
16. Яковлев А.А. // Нейрохимия. 2015. Т. 32. № 2. С. 112–115.
17. Полетаев А.Б. // Молекулярная диспансеризация (новые подходы к раннему проявлению патологических изменений в организме человека: методические рекомендации для врачей). М.: “Иммункулус”, 2014. 80 с.
18. Sedaghat F., Notopoulos A. // HIPPOKRATIA. 2008. V. 12:4. P. 198–204.
19. Сорокина Е.Г., Семенова Ж.Б., Гранстрем О.К., Карасева О.В., Мещеряков С.В., Реутов В.П., Сушкевич Г.Н., Пинелис В.Г., Рошаль Л.М. // Журн. неврологии и психиатрии им. Корсакова. 2010. № 110(8). С. 30–35.
20. Орлова В.А., Михайлова И.И., Минутко В.П., Симонина А.В. // Социальная и клиническая психиатрия. 2016. Т. 26. № 1. С. 12–19.

Immunochemical Markers of Sensorineural Hearing Loss

G. M. Bodienkova^a and E. V. Boklazhenko^a

^aFederal State Budgetary Scientific Institution “East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research”, Angarsk, Russia

Our aim was to identify changes in serum concentrations of cytokines, heat shock proteins (Hsp 27, Hsp 70), antibodies to nerve tissue proteins and to assess their informative importance in patients with sensorineural hearing loss (SHL). Study involved 38 men under supervision representing flight personnel (instructor pilots, aircraft commanders, flight engineers) and 21 “conditionally” healthy men of comparable in age. Basic cytokines involved in the immunoinflammatory process in SHL have been identified. The detected cytokine imbalance in the patients examined was characterized by excessive activation of major inflammatory cytokines (IL-1 β , TNF- α), an anti-inflammatory IL-4, against the background of decreased IL-2. The disorder of cytokine regulation was accompanied by a decrease in the concentration of one of the heat shock proteins with immunomodulatory effect, Hsp 70. Neuroimmune restructuring was shown to be manifested by increased production of autoantibodies to nerve tissue proteins: S-100 and B. Ca-channel, which can be considered as markers of autoimmune process in SHL. The totality of the results obtained allowed to justify the most informative indicators, which may be recommended as additional criteria in diagnosis of sensorineural hearing loss.

Keywords: sensorineural hearing loss, cytokines, heat shock proteins, antibodies to nerve tissue, diagnostics