

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЦЕОЛИТИТА ЛЮТОГСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ НА ПРОДУКЦИЮ ЦИТОКИНОВ ЛЕЙКОЦИТАМИ ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Голохваст К.С.¹, Паничев А.М.², Памирский И.Э.³, Борисов С.Ю.¹, Гульков А.Н.¹, Рыбалка В.П.⁴

¹Дальневосточный государственный технический университет

²Тихоокеанский институт географии ДВО РАН

³Амурская государственная медицинская академия

⁴Сахалинская областная больница

INFLUENCE OF ZEOLITE OF LYUTOGSKY DEPOSIT ON PRODUCTION OF CYTOKINES IN HUMAN BLOOD LEUKOCYTES

Golokhvast K.S.¹, Panichev A.M.², Pamirskiy I.E.³, Borisov S.Yu.¹, Gulkov A.N.¹, Rybalka V.P.⁴

¹Far Eastern State Technical University

²Pacific Institute of geography FEB RAS

³Amur State Medical Academy

⁴Sakhalin region hospital

Влияние цеолитов на иммунную кооперацию и цитокиновый статус на данный момент изучен недостаточно (Ivkovich et al., 2004, 2005; Katic et al., 2006). Так в работе Ivkovic et al., (2004) было изучение действия биологически активных добавок (Мегамин и Лекопенамин) с трибомеханически активированным цеолитом (ТМАЦ) на систему клеточного иммунитета у пациентов, получавших лечение по поводу иммунодефицитных состояний. Применение Мегамина привело к значительному увеличению количества CD4⁺, CD19⁺ и HLA-DR лимфоцитов и значительному уменьшению количества CD56⁺ клеток. Применение Лекопенамина приводило к увеличению количества CD3⁺ клеток и уменьшению количества CD56⁺ лимфоцитов. В процессе лечения не наблюдалось никаких побочных реакций. Активация макрофагов и последующая инициация внутриклеточного сигнального пути вместе с поликлональной активацией Т-лимфоцитов человека, которая наблюдалась *in vitro*, привела к гипотезе, что частички минералов действуют как суперантигены (SAGs).

В рамках данной работы мы исследовали спонтанную и митогенстимулированную продукцию IL-1 β , IL-10, IFN γ лейкоцитами цельной крови человека в норме и при добавлении цеолитов Лютогского месторождения.

При исследовании спонтанного синтеза цитокинов исследуемый образец добавляли в кровь интактных доноров (n=8) в конечной концентрации 5 и 50 мг/мл. Для изучения митогениндуцированной продукции цитокинов во все исследуемые пробы вносили ФГА (фитогемагглютинин) в конечной концентрации 10 мкг/мл. Продукцию IL-1 β и IL-10 оценивали через 24 часа инкубации, продукцию IFN- γ – через 72 часа. Костимулирующее влияние исследуемого минерала изучали при его совместном действии с ФГА. Клетки инкубировали при 37°C в атмосфере 5% CO₂, после чего отбирали супернатанты и определяли концентрацию цитокинов. Концентрацию цитокинов в

супернатантах клеток цельной крови измеряли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем «Протеиновый контур» (IFN- γ , IL-10) и «Цитокин» (IL-1 β). Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета программы «Statistica-8». Уровень доверительной вероятности был задан равным 95%.

При спонтанной продукции цитокинов были выявлены следующие результаты. Содержание IL-1 β в контрольной группе составило 169,570 \pm 17,77, при добавлении цеолита (5 мг/мл) - 246,070 \pm 80,33 (p=0,567), при добавлении цеолита (50 мг/мл) - 350,339 \pm 105,85 (p=0,017). Исследование содержания IFN γ в контрольной группе показало 347,632 \pm 23,10, при добавлении цеолита (5 мг/мл) - 255,743 \pm 17,24 (p=0,07), при добавлении цеолита (50 мг/мл) - 559,284 \pm 80,65 (p=0,005). Содержание IL-10 в контрольной группе составило 42,91 \pm 3,38, при добавлении цеолита (5 мг/мл) - 36,90 \pm 1,47 (p=0,29), при добавлении цеолита (50 мг/мл) - 85,59 \pm 4,98 (p=0,007).

При спонтанной стимулированной митогенами (ФГА) продукции цитокинов были выявлены следующие результаты. Содержание IL-1 β в контрольной группе составило 3836,69 \pm 1007,60, при добавлении цеолита (5 мг/мл) - 2617,74 \pm 931,23 (p=0,043), при добавлении цеолита (50 мг/мл) - 1071,66 \pm 441,33 (p=0,043). Содержание IFN γ в контрольной группе составило 2745,93 \pm 620,53, при добавлении цеолита (5 мг/мл) - 8556,80 \pm 453,75 (p=0,029), при добавлении цеолита (50 мг/мл) - 7008,60 \pm 1229,58 (p=0,025). Содержание IL-10 в контрольной группе составило 116,06 \pm 7,42, при добавлении цеолита (5 мг/мл) - 277,96 \pm 48,88 (p=0,007), при добавлении цеолита (50 мг/мл) - 177,98 \pm 14,06 (p=0,009).

Установлено, что цеолит Лютогского месторождения в конечной концентрации 50 мг/мл стимулирует спонтанную продукцию ИЛ-1 β , IFN γ и ИЛ-10 клетками периферической крови доноров. При внесении в

образцы крови цеолита в конечной концентрации 5 мг/кг эффект стимуляции продукции цитокинов отсутствовал. При действии цеолита на индуцированную митогеном продукцию цитокинов наблюдалось статистически значимое снижение продукции провоспалительного ИЛ-1 β , на фоне продолжающейся стимуляции IFN γ и IL-10 (в концентрации как 5 мг/мл, так и 50 мг/мл).

В качестве вывода, можно отметить, что цеолитит Лютогского месторождения в условиях *in vitro* при инкубировании с клетками периферической крови человека усиливает спонтанную и стимулированную митогеном продукцию цитокинов, вырабатываемых как Th1 (IFN- γ), так и Th2 (IL-10), а также клетками моноцитарно-макрофагального ряда (IL1 β).

Литература

1. Dietary supplementation with the tribomechanically activated zeolite clinoptilolite in immunodeficiency: effects on the immune system / Ivkovic S, Deutsch U, Silberbach A, Walraph E, Mannel M. // *Adv. Ther.*, 2004. - №21(2). – P. 135-47.
2. TMAZ nanoparticles as potential drugs influencing the cellular signal transduction pathways / S. Ivkovic, T. Baranek, P. Bendzko, J. Schulz // *Nanotech.*, 2005. - Vol. 1, Chapter 2: Medical Applications. – P. 85 – 88.
3. A clinoptilolite effect on cell media and the consequent effects on tumor cells *in vitro*. // Katic M., Bosnjak B., Gall-Troselj K., Dikic I., Pavelic K. // *Front. Biosci.* - 2006. - №11. - P. 1722-1732.