



Баранцева М.Ю., Мухамедиева Л.Н., Дадашева О.А., Озеров Д.С., Пахомова А.А.,
Царьков Д.С., Лашуков П.В.

Цитокиновая регуляция воспалительных процессов в органах дыхания крыс при комбинированном ингаляционном воздействии химических веществ в низких концентрациях

ФГБУН «Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем Российской академии наук», 123007, Москва, Россия

Введение. Морфологическими исследованиями на животных (трахея, бронхи, лёгкие), проведёнными нами при моделировании комбинированного ингаляционного воздействия химических веществ в низких концентрациях, было показано прогрессирование структурных изменений, свидетельствующих об активации воспаления и фиброза в лёгких. В данной работе исследована роль цитокиновых маркеров в развитии воспалительных, фибротических процессов и ремоделирования ткани лёгкого.

Материалы и методы. Крысы-самцы с массой тела 180–200 г подвергали хроническому ингаляционному воздействию смеси химических веществ (ацетон, ацетальдегид, бензол) в низких концентрациях 0,7–1,5; 0,9–1,4; 0,2–0,4 мг/м³ соответственно. Концентрацию цитокинов IL-6, IL-10, IL-1b, IL-4, TGF-β₁, TNF-α (нг/мл) определяли в гомогенате лёгочной ткани методом иммуноферментного анализа (ИФА). Морфологические исследования проводили на гистологических срезах лёгких, стенки трахеи, бронхов. Забор биоматериала проводили на 30-е сутки воздействия и 15-е и 90-е сутки восстановительного периода.

Результаты. Показано достоверное увеличение интерлейкина-4 и трансформирующего фактора роста TGF-β₁ в гомогенате лёгочной ткани. В стенке трахеи наблюдаются увеличение лимфатических фолликулов, количества лимфоцитов, нейтрофилов, макрофагов и очаговые скопления эозинофилов. В лимфоидных инфильтратах лёгочной ткани – эозинофилы, макрофаги и плазмоциты. В отдельных альвеолах наблюдается накопление слабозозинофильного экссудата. 90-е сутки восстановительного периода характеризуются достоверным повышением TGF-β₁ в ткани лёгкого, свидетельствуя о начале развития фиброза, что подтверждается увеличением количества фибробластов между альвеолами в зонах ателектаза лёгких животных.

Заключение. Хроническое комбинированное воздействие смеси химических веществ в низких концентрациях сопровождается развитием провоспалительного процесса в лёгких, характерного для 2-го типа иммунного ответа, с увеличением профилей IL-4 (характерного для провоспалительного состояния аллергического характера) и TGF-β₁ (ключевой медиатор профиброзной активности).

Ключевые слова: цитокиновая регуляция; воспалительные процессы в лёгочной ткани; морфологические исследования; аллергическая реакция второго типа; развитие фиброза

Для цитирования: Баранцева М.Ю., Мухамедиева Л.Н., Дадашева О.А., Озеров Д.С., Пахомова А.А., Царьков Д.С., Лашуков П.В. Цитокиновая регуляция воспалительных процессов в органах дыхания крыс при комбинированном ингаляционном воздействии химических веществ в низких концентрациях. *Гигиена и санитария*. 2021; 100 (3): 290–294. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-3-290-294>

Для корреспонденции: Баранцева Мария Юрьевна, канд. мед. наук., вед. науч. сотр. лаборатории «Санитарно-химическая безопасность и токсикология воздуха герметичных помещений» ФГБУН ГНЦ Российской Федерации – Института медико-биологических проблем РАН, 123007, Москва. E-mail: barantseva@imbr.ru

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Благодарность. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-015-00214/20 от 15.04.2020 г.

Участие авторов: Баранцева М.Ю. – организация и проведение экспериментальных исследований, написание текста, ответственность за целостность всех частей статьи; Мухамедиева Л.Н. – концепция и дизайн исследований, написание текста, редактирование, утверждение окончательного варианта статьи; Дадашева О.А. – проведение, анализ и описание морфологических исследований, написание текста, редактирование; Озеров Д.С. – выполнение экспериментальных исследований, статистический анализ, написание текста, редактирование; Пахомова А.А., Царьков Д.С., Лашуков П.В. – выполнение экспериментальных исследований, написание текста, редактирование.

Поступила 29.05.2020 / Принята к печати 18.09.2020 / Опубликовано 16.04.2021

Maria Yu. Barantseva, Lana N. Mukhamedieva, Olga A. Dadasheva, Dmitry S. Ozerov,
Anna A. Pakhomova, Dmitry S. Tsarkov, Pavel V. Lashukov

Cytokine regulation of inflammatory processes in respiratory organs of rats exposed to the combined inhalation of chemicals in low concentrations

Institute of biomedical problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 123007, Russian Federation

Introduction. Morphological studies of animals (trachea, bronchi, lungs) exposed to the combined inhalation of chemicals in low concentrations showed the progression of structural changes, indicating the activation of inflammation and fibrosis in the lungs. The role of cytokine markers in developing inflammatory and fibrotic processes and remodeling lung tissue has been studied.

Materials and methods. Male rats (180–200 g) were exposed to a mixture of chemicals (acetone, acetaldehyde, benzene) in low concentrations of 0.7–1.5; 0.9–1.4; 0.2–0.4 (mg/m³), respectively. The concentrations of IL-6, IL-10, IL-1b, IL-4, TGFβ₁, TNFα cytokines (pg/ml) have been measured in the lung homogenate by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Microscopic anatomy of the lungs, tracheal wall, bronchi has been studied on the 30th day of exposure and the 15th and 90th days of the recovery period.

Results. An increase in interleukin-4 and transforming growth factor TGFβ₁ in the homogenate of the lung tissue was shown. An increase in lymphatic follicles, the number of lymphocytes, neutrophils, macrophages, and focal accumulations of eosinophils has been observed in the tracheal wall. In lymphoid infiltrates of the lung tissue – eosinophils, macrophages, and plasmacytes. Accumulation of eosinophilic exudate has been observed in some alveoli. The 90th day of the recovery period is characterized by a significant increase of TGFβ₁ in the lung tissue, indicating fibrosis, as evidenced by the rise in the number of fibroblasts between the alveoli in the atelectasis zones of lungs.

Conclusion. *The chronic combined exposure to the mixture of chemicals in low concentrations is accompanied by a pro-inflammatory process in the lungs with the type II hypersensitivity and increasing IL-4 and TGFβ₁ (a key mediator of profibrotic activity).*

Keywords: *cytokine regulation; inflammation of the lung tissue; morphological studies; type II hypersensitivity; fibrosis*

For citation: Barantseva M.Yu., Mukhamedieva L.N., Dadasheva O.A., Ozerov D.S., Pakhomova A.A., Tsarkov D.S., Lashukov P.V. Cytokine regulation of inflammatory processes in respiratory organs of rats exposed by the combined inhalation of chemicals in low concentrations. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)* 2021; 100 (3): 290-294. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-3-290-294> (In Russ.)

For correspondence: *Maria Yu. Barantseva*, MD, Ph.D., researcher of the Laboratory of chemical and toxicological safety of atmosphere in pressurized cabins, Institute of biomedical problems of the Russian Academy of Sciences, 123007, Moscow, Russian Federation. E-mail: barantseva@imbp.ru

Information about the authors:

Barantseva M.Yu., <https://orcid.org/0000-0001-5048-5892>; Mukhamedieva L.N., <https://orcid.org/0000-0002-5961-0984>; Ozerov D.S., <https://orcid.org/0000-0003-1479-3470>; Dadasheva O.A., <https://orcid.org/0000-0002-5969-3003>; Pakhomova A.A., <https://orcid.org/0000-0002-7301-2331>; Tsarkov D.S., <https://orcid.org/0000-0002-7115-4686>; Lashukov P.V., <https://orcid.org/0000-0001-6843-2158>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The reported study was funded by RFBR, project number 19-015-00214/20 от 15.04.2020

Contribution of the authors: *Barantseva M. Yu.* – organization and conducting of experimental research, writing the text, responsibility for the integrity of all parts of the article; *Mukhamedieva L. N.* – the concept and design of the study, writing the text, editing, approval of the final version of the article; *Dadasheva O. A.* – conducting, analyzing and describing morphological studies, writing the text, editing; *Ozerov D. S.* – performing experimental research, statistical analysis, writing the text, editing; *Pakhomova A. A.*, *Tsarkov D. S.*, *Lashukov P. V.* – performing experimental research, writing the text, editing.

Received: May 29, 2020 / Accepted: September 18, 2021 / Published: April 16, 2021

Введение

Расшифровка регулирующей роли иммунной системы в развитии воспаления в органах дыхания при ингаляционном пути поступления токсикантов является фундаментальной токсиколого-гигиенической проблемой, имеющей важное прикладное значение для гигиенического нормирования химических веществ в воздухе герметичных помещений, атмосферном воздухе населённых мест и воздухе рабочей зоны.

Воздухоносные пути и респираторный отдел лёгких являются первичным защитным барьером организма в инактивации вредных веществ, играя важную роль в формировании иммунного ответа при развитии хронического воспалительного процесса [1]. Система иммунитета (в том числе лимфоидные образования лёгких и дыхательных путей) одна из первых реагирует на неблагоприятное воздействие токсических химических веществ, участвуя в компенсаторно-приспособительных реакциях, направленных на сохранение гомеостаза организма [2, 3].

Поэтому исследование цитокинового профиля динамики развития воспалительного процесса непосредственно в лёгочной ткани, с определением типа иммунного ответа, является важным этапом для разработки профилактических гигиенических мероприятий.

Согласно литературным данным, изучение адаптационных и патологических процессов в организме человека при ингаляционном воздействии вредных химических веществ часто проводят с использованием цитокинового профиля в сыворотке крови [2, 4–6]. В модельных исследованиях с животными используют, как правило, морфологические исследования органов дыхания [7, 8]. То есть проводят либо иммунохимические, либо морфологические исследования.

Исследования цитокиновой регуляции воспалительных процессов по динамике про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови использовали для токсикологической оценки ингаляционного воздействия на организм человека как неорганических, так и летучих органических соединений в условиях производственных помещений, на территориях населённых мест, загрязнённых промышленными выбросами [2, 5, 6]. Так, было показано, что при воздействии химических факторов окружающей среды (работники нефтехимического производства) в организме развивается хроническое вялотекущее воспаление (повышение в сыворотке крови концентрации С-реактивного белка, TNF-α) [6]. У рабочих, занятых в производстве винилхлорида, было обнаружено нарастание провоспалительного цитокина IL-1b в сыворотке крови при одновременном снижении IL-2 и тенденции к снижению TNF-α [2].

При изучении хронического ингаляционного воздействия на органы дыхания животных частиц пыли, аэрозолей, содержащих тяжёлые металлы (свинец, вольфрам, молибден,

титан и др.), морфологическими исследованиями органов дыхания было показано наличие очагов хронического воспаления в слизистой оболочке воздухоносных путей и респираторных отделов лёгких с признаками развития фиброза [7, 8].

Экспериментальными исследованиями было показано, что хроническое комбинированное воздействие смеси химических веществ в низких концентрациях сопровождается морфологическими изменениями в виде очаговой метаплазии эпителия, очаговых лимфоидных скоплений в слизистой трахеи и бронхов. В собственной пластинке слизистой оболочки наблюдали очаги фиброза. В респираторном отделе лёгочной ткани обнаружены периваскулярные очаговые скопления лимфоцитов [9].

В данной работе токсикологическая оценка эффекта комбинированного воздействия летучих органических веществ в низких концентрациях, объединяющая иммунохимические и морфологические исследования, проводимые непосредственно в лёгочной ткани, позволит впервые получить данные о характере воспалительного процесса, его интенсивности, процессах репарации, фиброгенеза в органах дыхания.

Цель работы – изучение роли иммунной системы в реализации механизмов токсического действия веществ с установлением типа иммунного ответа в развитии про- и противовоспалительных реакций в органах дыхания при комбинированном действии химических веществ.

Материалы и методы

Экспериментальные исследования проведены на 36 половозрелых крысах-самцах линии Wistar с массой тела 180–200 г в строгом соответствии с основными биоэтическими правилами лабораторной практики, принятыми в Российской Федерации, и требованиями Всемирного общества защиты животных (WSPA). Программа исследований была рассмотрена Комиссией по биомедицинской этике Института медуко-биологических проблем РАН и признана соответствующей международным нормам биоэтики (протокол № 515 от 10.06.2019 г.).

Моделирование комбинированного воздействия химических веществ проводили на испытательном стенде для санитарно-химических и токсикологических исследований (УМБИ-1) рабочим объёмом 12 м³, оснащённом автономными системами жизнеобеспечения, которые используются в пилотируемых космических аппаратах. Гранулированный сбалансированный корм, воду животные получали через шлюз 1 раз в сутки.

Автономной системой очистки и регенерации воздуха гермокамеры концентрации основных газов (кислород, углекислый газ) и химических примесей поддерживались в пределах предельно допустимых концентраций для пилотируемых космических аппаратов (ПДКпка) (ГОСТ Р 50804-95).

Динамика содержания цитокинов в гомогенатах лёгкого крыс линии Вистар ($n = 6$) после ингаляционного комбинированного воздействия химических веществ (ацетон, ацетальдегид, бензол) в концентрациях на уровне ПДКпкка

Dynamics of cytokine content in lung homogenates of Wistar rats ($n = 6$) after combined inhalation exposure to chemicals (acetone, acetaldehyde, benzene) at concentrations at the level maximum permissible concentrations for manned spacecraft

Период воздействия Exposure period	Цитокины, пг/мл Cytokines, pg/ml			
	TNF- α	TGF- β_1	IL-4	IL-10
30-е сутки воздействия смеси химических веществ 30 th day of exposure to a mixture of chemicals	0.58–0.86 (0.37–2.3)	421.7–688.7 (467.9–544)	94–136.6* (81–110)	24.7–40.16 (55–89)
15-е сутки восстановительного периода 15 th day of the recovery period	16–72 (17–44)	19–39* (17–20)	12–24 (15–38)	42–47 (20–77)
90-е сутки восстановительного периода 90 th day of the recovery period	16–35 (17–44)	30–36* (17–20)	16–21 (15–38)	22.7–78 (20–77)

Примечание. В скобках указаны значения контрольной группы животных; * – $p < 0,05$.

Note. The values of the control group of animals are indicated in brackets; * – $p < 0.05$.

Концентрацию кислорода, углекислого газа, температуру и относительную влажность воздуха контролировали круглосуточно. Температура воздуха в гермокамерах находилась в пределах 23 ± 2 °C, относительная влажность – $67 \pm 3\%$, кислород – $21 \pm 2\%$, углекислота – $0,05$ – $0,3\%$, аммиак – 1 – 5 мг/м³.

Длительность (30 сут) ингаляционного воздействия смеси химических веществ (ацетон, ацетальдегид, бензол) в концентрациях соответственно $0,7$ – $1,5$; $0,9$ – $1,4$; $0,2$ – $0,4$ мг/м³ не превышали ПДКпкка (ГОСТ Р 50604-95). Выбранные химические вещества для затравочной смеси вносят основной вклад в загрязнение воздушной среды герметичных помещений различного назначения с максимальным использованием полимерных материалов [10–12].

Концентрации ацетона, ацетальдегида, бензола в воздухе гермокамеры определяли 2 раза в сутки с использованием метода газовой хроматографии с пламенно-ионизационным детектированием. Для оперативного анализа аммиака и дву-

оксида углерода использовали линейно-колористический метод (индикаторные трубки фирмы «Dreger», диапазон измерений для двуоксида углерода – $0,01$ – $0,3$ об.%; для аммиака – 2 – 30 ppm).

Восстановительный период после комбинированного химического воздействия составил 90 сут.

Контрольная группа животных (18 шт.) содержалась в стандартных условиях вивария.

Забор биоматериала осуществляли после декапитации животных гильотиной на 30-е сутки после химического воздействия, а также на 15-е и 90-е сутки восстановительного периода. Забой контрольных групп животных проводился в те же сроки. На каждую точку забоя использовано по 6 крыс. Перед использованием гильотины животным вводили смертельную дозу авертина (75 мг/кг).

Концентрацию цитокинов IL-6, IL-10, IL-1b, IL-4, TGF- β_1 , TNF- α (пг/мл) определяли в гомогенате лёгочной ткани (основание левого лёгкого) методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием набора High Sensitive Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit (Cloud-Clone Corp.). Метод основан на трёхстадийном варианте твёрдофазного иммуноферментного анализа ткани лёгкого крыс с использованием моно- и поликлональных антител к IL-6, IL-10, IL-1b, IL-4, TGF- β_1 , TNF- α .

Морфологические исследования включали исследование лёгких, трахеи, бронхов. Образцы органов фиксировали в жидкости Буэна, затем заливали в парафин после общепринятой методики проводки по спиртам возрастающей концентрации. Готовые гистологические препараты окрашивали гематоксилин-эозином [13]. Исследования проводили на световом уровне с помощью микроскопа Unilux-12 (Япония) и фотокамеры Levenhook (Япония).

Анализ результатов исследований выполнен с использованием пакета статистического анализа Statistica StatSoft 8.0. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни [14]. Изменения показателей считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Анализ динамики про- и противовоспалительных цитокинов в гомогенатах лёгочной ткани крыс показал, что длительное ингаляционное комбинированное воздействие химических веществ в низких концентрациях сопровождается увеличением интерлейкина-4 по сравнению с контрольной группой животных (см. таблицу; рис. 1). Интерлейкин-4 экспрессируется Т-лимфоцитами 2-го типа, эозинофилами, тучными клетками и играет важную роль в развитии аллергического воспаления в лёгких, стимулируя синтез иммуноглобулинов, усиливая хемотаксис эозинофилов [15, 16].

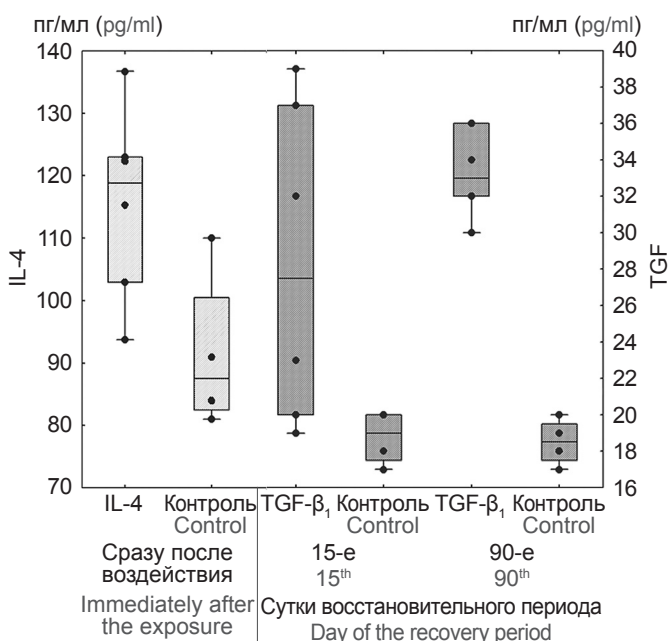


Рис. 1. Содержание TGF- β_1 , IL-4 (пг/мл) в гомогенатах лёгочной ткани крыс сразу после химического воздействия, на 15-е и 90-е сутки восстановительного периода.

Fig. 1. Content of TGF- β_1 , IL-4 (pg/ml) in homogenates of rat lung tissue immediately after chemical exposure, on the 15th and 90th days of the recovery period.

Повышение трансформирующего фактора роста TGF- β_1 в ткани лёгкого, который является полифункциональным цитокином, участвующим в регуляции процессов пролиферации, дифференцировки, миграции нейтрофилов и макрофагов в очаг воспаления, свидетельствует о регулирующей роли TGF- β_1 на процессы воспаления и иммунного ответа (см. таблицу), подавляя синтез провоспалительных цитокинов [17].

Исследование содержания цитокинов TNF- α , IL-10 в лёгочном гомогенате не выявило значимой динамики, и количественные их значения не отличались от контрольной группы, цитокины IL-1 β и IL-6 в лёгочном гомогенате как опытной, так и контрольной группы животных не обнаруживались, что, возможно, обусловлено фазой воспалительного процесса, так как IL-1 β , TNF- α и IL-6 продуцируются на ранней стадии воспаления [18].

Таким образом, иммунохимические исследования показали, что воздействие смеси химических веществ в низких концентрациях сопровождается развитием воспалительного процесса аллергического характера, характерного для второго типа иммунного ответа [19].

Аллергический характер воспалительного процесса подтверждён морфологическими исследованиями воздухоносных путей (трахея) и респираторных отделов лёгких (терминальные бронхиолы, альвеолярные ходы, альвеолярные мешочки).

В стенке трахеи наблюдается увеличение лимфатических фолликулов, количества лимфоцитов, нейтрофилов, макрофагов и очаговых скоплений эозинофилов. На фоне сохранения структуры эпителиального слоя – разрыхление соединительной ткани субэпителиального слоя с дисплазией базальных клеток. В просвете трахеи виден серозноклеточный экссудат (рис. 2, б, на вклейке). На отдельных участках лёгкого видны очаги межочного воспаления с ателектазом альвеол (рис. 3, б, на вклейке). В лимфоидных инфильтратах – эозинофилы, макрофаги и плазматические клетки. В альвеолах отёчная жидкость, слущенные клетки. Как видно на рис. 2, в (см. на вклейке), альвеолы заполнены крупными светлыми макрофагами. В терминальных бронхиолах наблюдается одностороннее утолщение эпителиального слоя за счёт клеточной пролиферации (рис. 4, б, на вклейке). Апикальная часть эпителиальных клеток отёчная. В отдельных альвеолах наблюдается накопление слабоэозинофильного экссудата.

На 15-е сутки восстановительного периода повышение концентрации противовоспалительного медиатора TGF- β_1 сохраняется, свидетельствуя о сохранении воспалительного процесса в лёгочной ткани (см. рис. 1), что подтверждено морфологическими исследованиями (см. рис. 2, в, на вклейке). Так, на отдельных участках внутренней стенки трахеи наблюдается гипертрофия складок эпителиального слоя. В очаге воспаления стенки трахеи наблюдается большое количество эозинофильных лейкоцитов, макрофагов и плазматических клеток (см. рис. 2, в, на вклейке). На отдельных участках внутренней стенки трахеи наблюдается гипертрофия складок эпителиального слоя.

В лёгких выявлены резко расширенные бронхиолы (рис. 5, а, на вклейке) с истончённым эпителиальным слоем и расширенные лимфатические сосуды. В терминальных бронхиолах отёк эпителиальных клеток становится более выраженным, а также отмечается усиление пролиферации клеток (рис. 4, в, на вклейке). В лёгких наблюдаются очаги периваскулярного и межочного воспаления, в альвеолах – отёчная жидкость (рис. 5, б, на вклейке).

На 90-е сутки восстановительного периода воспалительный процесс в трахее и респираторных отделах лёгких находится на стадии ремоделирования, что подтверждено иммунохимическими и морфологическими исследованиями.

Характерной особенностью этого периода является достоверное повышение TGF- β_1 в ткани лёгкого, что свидетельствует о начале развития фиброза и подтверждено гистологическими изменениями в виде увеличения количества фибробластов в зонах ателектаза, между альвеолами (см. рис. 1). Трансформирующий фактор роста TGF- β_1 является

ключевым медиатором в развитии фиброза [15], влияющим на хемотаксис фибробластов и их пролиферацию [20].

Фаза ремоделирования лёгочной ткани в восстановительном периоде характеризовалась восстановлением эпителиального слоя терминальных бронхиол (рис. 4, з, на вклейке). В других участках лёгкого наблюдается эмфизема с резким увеличением полости альвеол, растянутыми альвеолярными стенками и с разрывами (рис. 6, б, на вклейке). Наличие эмфизематозных очагов в лёгких связано с компенсаторной реакцией организма в ответ на недостаточное поступление кислорода в организм через повреждённый респираторный отдел лёгких.

В лёгких, преимущественно в краевых зонах, наблюдается ателектаз, утолщение стенок альвеол за счёт пролиферации пневмоцитов. Часть альвеолярных клеток вакуолизована. В просвете альвеол фибрин и слущенные клетки. В зонах ателектаза между альвеолами видны фибробласты (рис. 6, а, на вклейке), в альвеолах – светлые макрофаги. В трахее крыс сохраняется лейкоцитарная инфильтрация, в основном лимфоцитами, макрофагами и плазматическими клетками (рис. 2, з, на вклейке).

Эпителиальная оболочка главных бронхов и бронхов крупных, средних и мелких калибров опытной группы крыс без особенностей, имеет нормальное строение.

Обсуждение

Повышение интерлейкина-4 при воздействии смеси химических веществ в низких концентрациях свидетельствует об аллергическом характере воспалительного процесса в лёгочной ткани, так как интерлейкин-4 играет важную роль в развитии аллергического воспаления в лёгких, стимулируя синтез иммуноглобулинов, усиливая хемотаксис эозинофилов [15, 16]. Регулируя течение аллергического воспаления, IL-4 снижает антителозависимую цитотоксичность и антителозависимый фагоцитоз, блокирует продукцию провоспалительных цитокинов и образование супероксидных радикалов [15, 21]. Отмечено также повышение противовоспалительного цитокина TGF- β_1 в лёгочной ткани, что свидетельствует об активности защитных реакций организма, направленных на элиминацию повреждённых клеток эпителиального слоя трахеи и респираторных отделов лёгких при комбинированном воздействии химических веществ.

Механизм развития аллергического воспаления, характерного для второго типа иммунного ответа, при воздействии смеси химических веществ может иметь несколько вариантов. Известно, что многие химические вещества, стимулируя TLR (толл-подобные рецепторы) клеток, могут приводить к активации Т-хелперов 2-го типа, которые высвобождают характерный спектр цитокинов, в том числе и IL-4, приводя к развитию аллергического воспаления [22]. Кроме того, химические вещества, взаимодействуя с молекулами клеточных мембран эпителиального слоя, могут приводить к клеточной гибели, то есть оказывать прямое цитотоксическое воздействие с поступлением в очаг воспаления макрофагов, выбросу провоспалительных и профибротических цитокинов [23]. Дегрануляция и высвобождение биологически активных веществ, в том числе и цитокинов, может происходить вследствие непосредственного разрушения тучных клеток под воздействием на них смеси химических веществ [24].

Развитие аллергического воспаления 2-го типа подтверждено морфологическими исследованиями. Об этом свидетельствует наличие в стенке трахеи очаговых скоплений эозинофилов, наличие в лимфоидных инфильтратах лёгочной ткани большого количества эозинофилов, плазматических клеток, продуцирующих иммуноглобулины, эозинофильного экссудата в альвеолах.

К 90-м суткам восстановительного периода показана важная регулирующая роль трансформирующего фактора роста TGF- β_1 в развитии профибротических процессов и ремоделирования лёгочной ткани, являющихся следствием хронического ингаляционного воздействия химических веществ в низких концентрациях.

Заключение

1. Цитокиновая регуляция воспалительных процессов в лёгочной ткани при комбинированном воздействии химических веществ в низких концентрациях сопровождается развитием провоспалительного процесса, характерного для 2-го типа иммунного ответа, и ассоциируется с увеличением профилей IL-4 и TGF- β .

2. Повышение содержания IL-4 и TGF- β в лёгочной ткани свидетельствует об активации защитных реакций организма, направленных на элиминацию повреждённых клеток эпителиального слоя респираторных отделов лёгких в ответ на комбинированное воздействие химических веществ.

3. Повышение уровня трансформирующего фактора роста TGF- β к 90-м суткам восстановительного периода на фоне сохранённых структурных очагов хронического воспалительного процесса свидетельствует о сохранении профибротической активности процесса в лёгких (увеличения количества фибробластов в межальвеолярном пространстве в зонах ателектаза).

4. Цитокиновая провоспалительная активность при хроническом действии химических факторов в низких концентрациях подтверждается морфологическими изменениями в респираторных отделах лёгких (очаги межочного воспаления с увеличением количества эозинофилов, активизация альвеолярных (светлых) макрофагов, появление эозинофильного экссудата в альвеолах), характерных для воспалительного процесса аллергического характера в фазе миграции воспалительных клеток.

Литература (п.п. 11, 15, 16, 23 см. References)

1. Сапин М.Р., Никитюк Д.Б. *Иммунная система, стресс и иммунодефицит*. М.: Джангар; 2000.
2. Бодиевкова Г.М., Курчевенко С.И., Боклаженко Е.В. Динамика изменения уровней цитокинов и нейрональных антител у работающих в производстве винилхлорида. *Гигиена и санитария*. 2018; 97(10): 935–9. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-10-935-939>
3. Шаяхметов С.Ф., Бодиевкова Г.М., Мешакова Н.М., Курчевенко С.И. Изменения иммунореактивности у работников химических производств в зависимости от дозовой нагрузки токсикантами. *Гигиена и санитария*. 2012; 91(4): 40–3.
4. Маснабиева Л.Б., Кудалева И.В., Ефимова Н.В. Оценка зависимости содержания аутоантител и цитокинов от уровня ингаляционной нагрузки приоритетными токсикантами воздушной среды. *Гигиена и санитария*. 2018; 97(5): 429–33. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-5-429-433>
5. Бодиевкова Г.М. Состояние иммунореактивности организма работающих в условиях воздействия различных нейротоксиантов. *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. 2009; (1): 93–7.
6. Красиков С.И., Лебедева Е.Н., Попова Е.В. Реакция воспаления как проявление влияния химических факторов окружающей среды. *Гигиена и санитария*. 2012; 91(3): 21–3.
7. Пискарева Е.И., Здорнова О.В., Радцева Г.Л. Морфологические особенности легких крыс в условиях хронического ингаляционного воздействия люминофора, содержащего фталат свинца. *Вестник новых медицинских технологий*. 2010; 17(2): 238–40.
8. Шерхов З.Х., Курданов Х.А., Шеожев М.А. Структурные изменения в легких под влиянием аэрозолей молибдена, вольфрама и их комплекса в условиях модельного эксперимента. *Экология человека*. 2009; (2): 13–6.
9. Оганесян М.В., Пономаренко Е.А. Морфологические изменения трахеи, бронхов и легких у мышей при длительном воздействии химических веществ, присутствующих в воздушной среде пилотируемых космических аппаратов. *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова*. 2013; (3): 23–7.
10. Мухамедиева Л.Н., Богомолов В.В. Характеристика токсических рисков загрязнения химическими примесями воздушной среды пилотируемых орбитальных станций. *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 2009; 43(3): 17–23.
11. Мухамедиева Л.Н. Токсикологические аспекты управления качеством воздушной среды орбитальных станций. В кн.: *Международная космическая станция. Российский сегмент*. Том 1. М.: 2011: 308–39.
12. Ромейс Б. *Микроскопическая техника*. М.; 1954: 156–9.
13. Орлов А.И. *Прикладная статистика*. М.: Экзамен; 2004.
14. Поплавец Е.В., Немцов Л.М. Значение трансформирующего фактора роста β при заболеваниях желудочно-кишечного тракта. *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. 2010; 9(1): 56–63.
15. Серебренникова С.Н., Семинский И.Ж. Роль цитокинов в воспалительном процессе (Сообщение 1). *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2008; 83(6): 5–8.
16. Дыгай А.М., Скурихин Е.Г., Крупин В.А. *Фиброз легких и стволовые клетки: новые подходы к лечению*. М.: Российская академия наук; 2018.
17. Пустоветова М.Г., Чикинев Ю.В., Пионтковская К.А., Дробязгин Е.А. Молекулярно-клеточные механизмы развития фиброза легких и спонтанного пневмоторакса. *Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. 2014; 34(5): 17–21.
18. Федосеев Г.Б. *Механизмы воспаления бронхов и легких и противовоспалительная терапия*. СПб.: Нордмед-издат; 1998.
19. Смирнова О.В., Выхристенко Л.Р. Роль клеток системы иммунитета в патогенезе бронхиальной астмы. *Медицинские новости*. 2011; (5): 14–9.
20. Куценко С.А. *Основы токсикологии*. СПб.; 2002.

References

1. Sapin M.R., Nikityuk D.B. *The Immune System, Stress and Immunodeficiency* [Иммунная система, стресс и иммунодефицит]. Moscow: Dzhangar; 2000. (in Russian)
2. Bodienkova G.M., Kurchevenco S.I., Boklazhenko E.V. Dynamics of changes in levels of cytokines and neuronal antibodies in vinyl chloride workers in the manufacture. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian Journal)*. 2018; 97(10): 935–9. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-10-935-939> (in Russian)
3. Shayakhmetov S.F., Bodienkova G.M., Meshchakova N.M., Kurchevenco S.I. Alterations of immunoreactivity in chemical production workers in dependence on dose exposure to toxicants. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian Journal)*. 2012; 91(4): 40–3. (in Russian)
4. Masnavieva L.B., Kudaeva I.V., Efimova N.V. Evaluation of the dependence of autoantibody levels and cytokines from the inhalation load of priority toxicants air environment. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian Journal)*. 2018; 97(5): 429–33. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-5-429-433> (in Russian)
5. Bodienkova G.M. Immune responsiveness state in employee organism under conditions of exposure to different neurotoxicants. *Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2009; (1): 93–7. (in Russian)
6. Krasikov S.I., Lebedeva E.N., Popova E.V. The inflammatory response as a manifestation of the influence of environmental chemical factors. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian Journal)*. 2012; 91(3): 21–3. (in Russian)
7. Piskareva E.I., Zdornova O.V., Radtseva G.L. Lung morphology changes in rats after chronic inhalation of luminophore particles, containing lead phthalate. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy*. 2010; 17(2): 238–40. (in Russian)
8. Sherkhov Z.Kh., Kurdanov Kh.A., Sheozhev M.A. Structural changes in lungs under influence of aerosols of molybdenum, wolframic and their complex in conditions of modelling experiment. *Ekologiya cheloveka*. 2009; (2): 13–6. (in Russian)
9. Oganesyanyan M.V., Ponomarenko E.A. Morphological changes of the trachea, bronchi and lungs of mice with long exposure of chemicals present in the airspace of manned spacecraft. *Rossiyskiy mediko-biologicheskiy vestnik imeni akademika I.P. Pavlova*. 2013; (3): 23–7. (in Russian)
10. Mukhamedieva L.N., Bogomolov V.V. Characteristic of toxic risks of air pollution by chemical admixtures aboard the piloted orbital stations. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina*. 2009; 43(3): 17–23. (in Russian)
11. Mukhamedieva L.N., James J.T., Aksel-Rubinsteyn Z.V., Solomin G.I. Toxicology of the International Space Station. Atmosphere. In: *Space Biology and Medicine. Volume 5. U.S. and Russian Cooperation in Space biology and Medicine. Chapter 5. The Habitable Environment of the ISS. Section 2*. 2010: 249–62.
12. Mukhamedieva L.N. Toxicological aspects of air quality control on orbital stations. In: *International Space Station. Russian segment. Volume 1 [Mezhdunarodnaya kosmicheskaya stantsiya. Rossiyskiy segment. Tom 1]*. Moscow: 2011: 308–39. (in Russian)
13. Romeis B. *Microscopic Technology*. München: Urban und Schwarzenberg; 1989.
14. Orlov A.I. *Applied Statistics [Prikladnaya statistika]*. Moscow: Ekzamen; 2004. (in Russian)
15. Huaux F., Liu T., McGarry B., Ullenbruch M., Phan S.H. Dual roles of IL-4 in lung injury and fibrosis. *J. Immunol*. 2003; 170(4): 2083–92. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.170.4.2083>
16. Schroeder J.T., Lichtenstein L.M., Roche E.M., Xiao H., Liu M.C. IL-4 production by human basophils found in the lung following segmental allergen challenge. *J. Allergy Clin. Immunol*. 2001; 107(2): 265–71. <https://doi.org/10.1067/mai.2001.112846>
17. Poplavets E.V., Nemtsov L.M. Transforming growth factor β in case of gastrointestinal tract diseases. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2010; 9(1): 56–63. (in Russian)
18. Serebrennikova S.N., Seminskiy I.Zh. The role of cytokines in the inflammatory process (part 1). *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)*. 2008; 83(6): 5–8. (in Russian)
19. Dygay A.M., Skurikhin E.G., Krupin V.A. *Pulmonary Fibrosis and Stem Cells: New Treatment Approaches [Fibroz legkikh i stvolovye kletki: novye podkhody lecheniya]*. Moscow: Rossiyskaya akademiya nauk; 2018. (in Russian)
20. Pustovetova M.G., Chikinev Yu.V., Piontkovskaya K.A., Drobzyazgin E.A. Molecular cell mechanisms during pulmonary fibrosis and spontaneous pneumothorax. *Byulleten' Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2014; 34(5): 17–21. (in Russian)
21. Fedoseev G.B. *Mechanisms of Inflammation in Bronchi and Lungs and Anti-Inflammatory Therapy [Mekhanizmy vospaleniya bronkhov i legkikh i protivovospalitel'naya terapiya]*. St. Petersburg: Nordmed-izdat; 1998. (in Russian)
22. Smirnova O.V., Vykhristenko L.R. Immune system cells in the pathogenesis of bronchial asthma. *Meditsinskie novosti*. 2011; (5): 14–9. (in Russian)
23. Oh C.K., Murray L.A., Molfino N.A. Smoking and idiopathic pulmonary fibrosis. *Pulm. Med*. 2012; 2012: 808260. <https://doi.org/10.1155/2012/808260>
24. Kutsenko S.A. *The Essential Toxicology [Osnovy toksikologii]*. St. Petersburg; 2002. (in Russian)

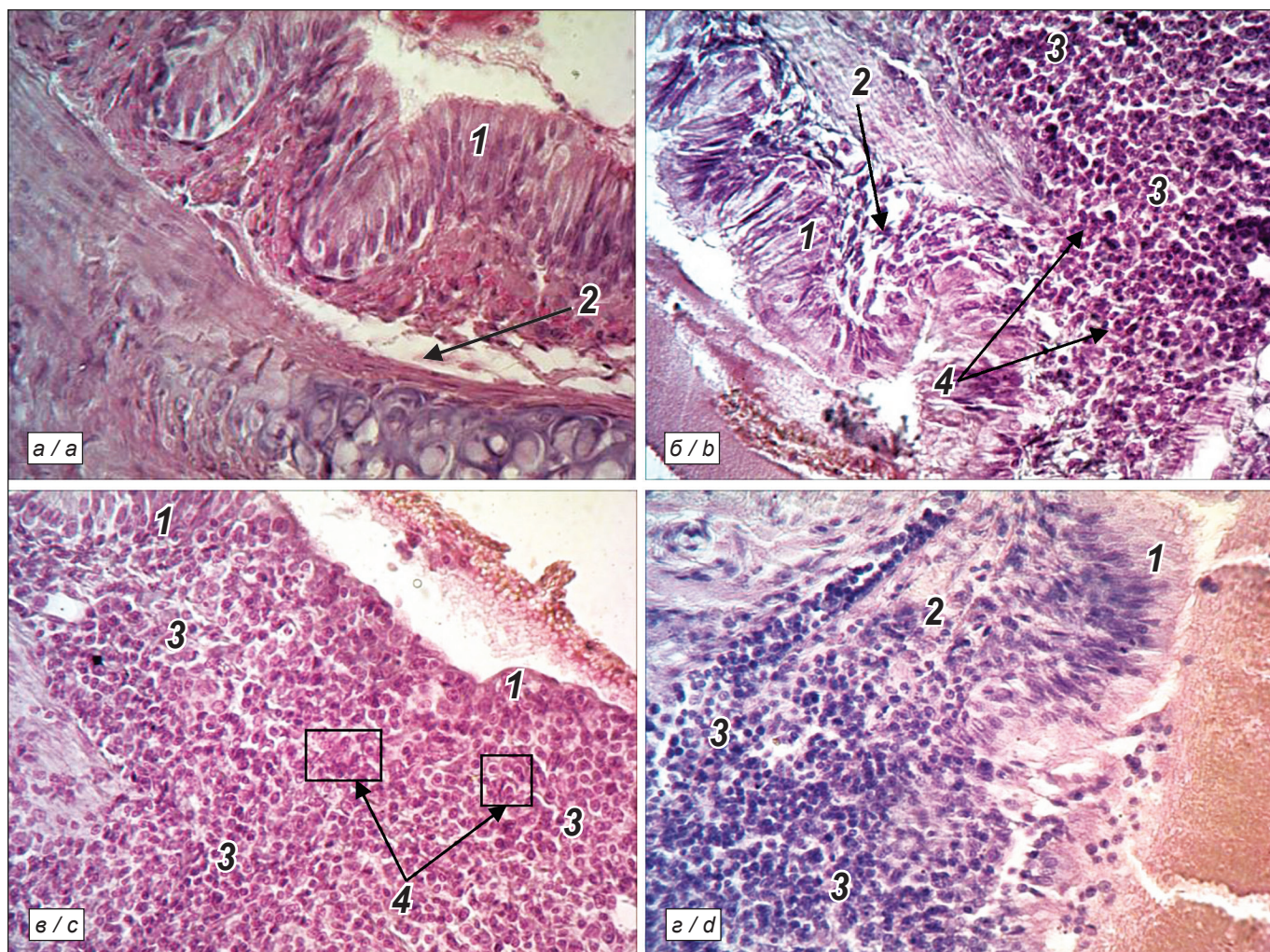


Рис. 2. Нижние отделы трахеи крыс при комбинированном воздействии химических веществ:
а – контроль; б – 30-е сутки химического воздействия; в – 15-е сутки восстановительного периода; г – 90-е сутки восстановительного периода;
1 – эпителиальный слой; 2 – субэпителиальный слой; 3 – очаг воспаления; 4 – эозинофильные лейкоциты.
Окраска гематоксилин-эозин. Ув. $\times 40$.

Fig. 2. The lower parts of the trachea of rats under the combined effect of chemicals:
a – control; b – 30th day of chemical exposure; c – 15th day of the recovery period; d – 90th day of the recovery period;
1 – epithelial layer; 2 – subepithelial layer; 3 – focus of inflammation; 4 – eosinophilic leukocytes.
Hematoxylin-eosin staining. Zoom in $\times 40$.

*К статье Баранцевой М.Ю. и соавт.
To the article Barantseva M. Yu. et al.*

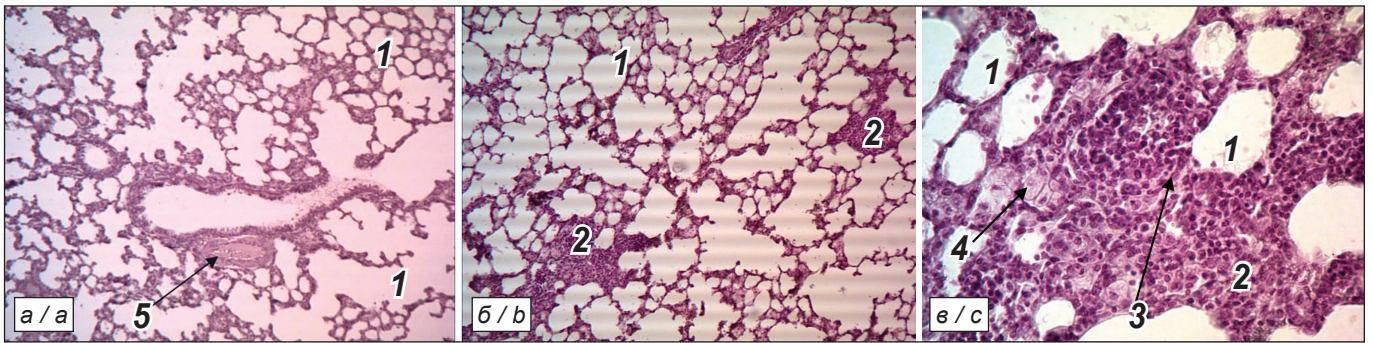


Рис. 3. Лёгкие крыс при комбинированном воздействии химических веществ:
a – контроль; *б* – 30-е сутки химического воздействия; *в* – 30-е сутки химического воздействия;
 1 – альвеолы; 2 – очаг воспаления; 3 – эозинофилы; 4 – светлые макрофаги; 5 – артериола.
 Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение: $\times 20$ – *a, б*; $\times 40$ – *в*.

Fig. 3. Lungs of rats under combined exposure to chemicals: *a* – control; *b* – 30th day of chemical exposure; *c* – 30th day of chemical exposure.
 1 – alveoli; 2 – the focus of inflammation; 3 – eosinophils; 4 – light macrophages; 5 – arteriole.
 Hematoxylin-eosin staining. Zoom in: $\times 20$ – *a, b*; $\times 40$ – *c*.

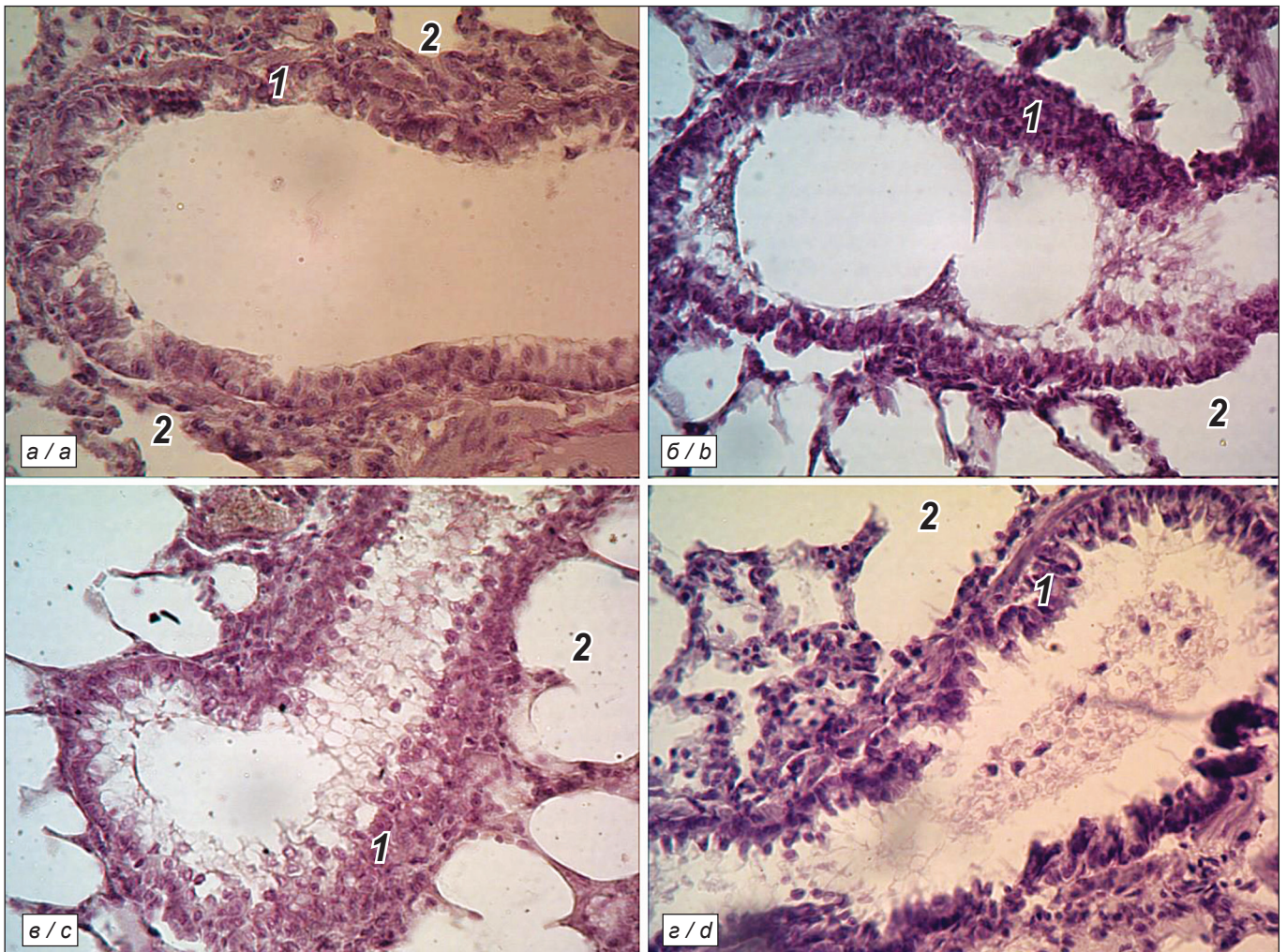


Рис. 4. Лёгкие (терминальная бронхиола) крыс при комбинированном воздействии химических веществ:
a – контроль; *б* – 30-е сутки химического воздействия; *в* – 15-е сутки восстановительного периода; *г* – 90-е сутки восстановительного периода;
 1 – эпителиальный слой; 2 – альвеолы.
 Окраска гематоксилин-эозин. Ув. $\times 40$.

Fig. 4. Lungs (terminal bronchiole) of rats under combined exposure to chemicals: *a* – control; *b* – 30th day of chemical exposure;
c – 15th day of the recovery period; *d* – 90th day of the recovery period.
 1 – epithelial layer; 2 – alveoli.
 Hematoxylin-eosin staining. Zoom in: $\times 40$.

*К статье Баранцевой М.Ю. и соавт.
To the article Barantseva M. Yu. et al.*

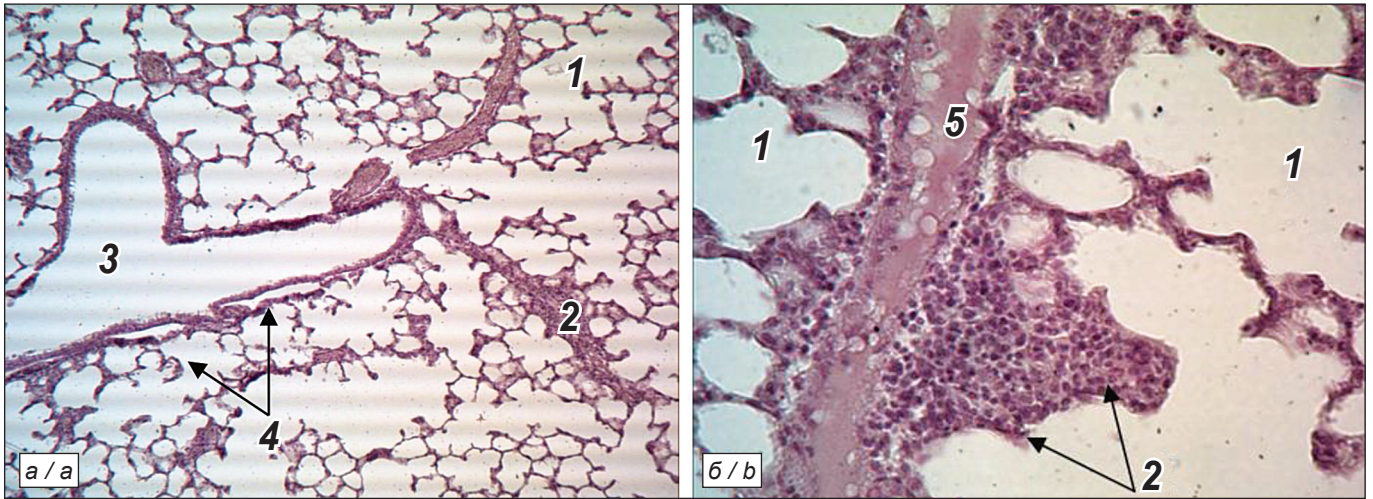


Рис. 5. Лёгкие крыс на 15-е сутки восстановительного периода после химического воздействия.
Увеличение: $\times 20$ – а; $\times 40$ – б; 1 – альвеолы; 2 – очаг воспаления; 3 – бронхиола; 4 – лимфатический сосуд; 5 – венула.
Окраска гематоксилин-эозин.

Fig. 5. Lungs of rats on the 15th day of the recovery period after chemical exposure.
Zoom in: $\times 20$ – a; $\times 40$ – б; 1 – alveoli; 2 – the focus of inflammation; 3 – bronchiole; 4 – lymphatic vessel; 5 – venule.
Hematoxylin-eosin staining.

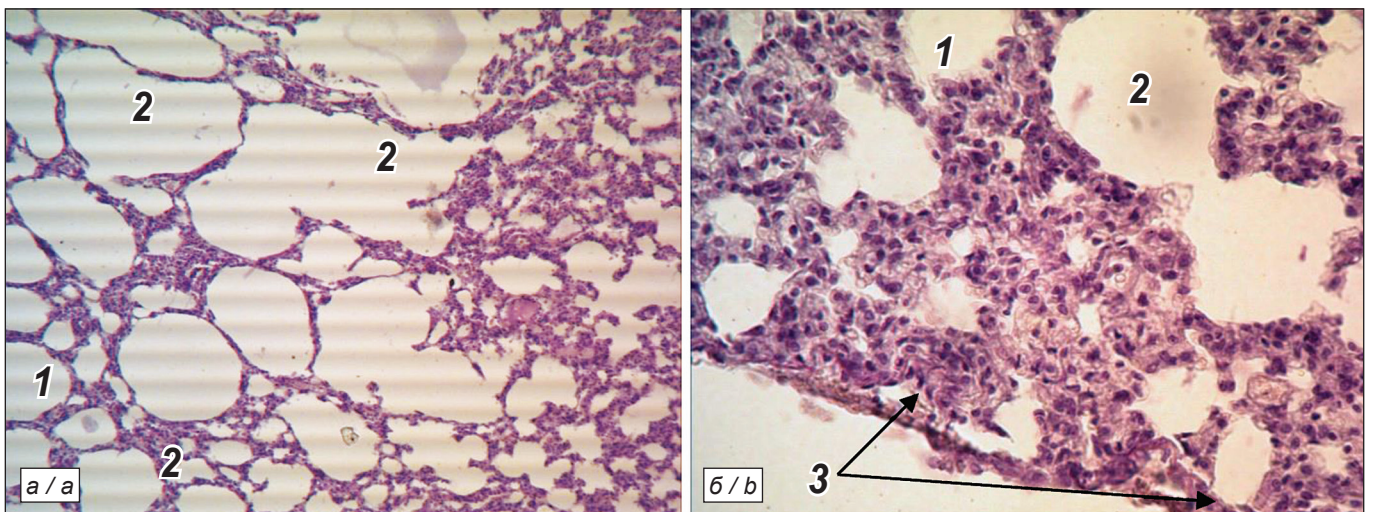


Рис. 6. Лёгкие крыс на 90-е сутки восстановительного периода после химического воздействия при различном увеличении.
Увеличение: $\times 20$ – а; $\times 40$ – б; 1 – альвеолы; 2 – эмфизема; 3 – фибробласты.
Окраска гематоксилин-эозин.

Fig. 6. Lungs of rats on the 90th day of the recovery period after chemical exposure at various magnifications.
Zoom in: $\times 20$ – a; $\times 40$ – б; 1 – alveoli; 2 – emphysema; 3 – fibroblasts.
Hematoxylin-eosin staining.