

Невидимова Т.И., Мастерова Е.И., Савочкина Д.Н., Бохан Н.А.

Цитокинопосредованные изменения болевой чувствительности в оценке предрасположенности к формированию зависимости от психоактивных веществ

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт психического здоровья», 634014, г.Томск, ул. Алеутская, д. 4

Цель исследования: оценить вне- и внутриклеточную продукцию цитокинов клетками крови и взаимосвязь уровня цитокинов с болевой чувствительностью на разных этапах формирования зависимости. **Методика.** С помощью классического и мультиплексного иммуноферментного анализа, проточной цитометрии, тензоалгометрии, визуально-аналоговой шкалы исследована взаимосвязь продукции цитокинов с болевой чувствительностью у 34 лиц с зависимостью от психоактивных веществ (ПАВ), 12 эпизодических потребителей ПАВ и 20 контрольных лиц. **Результаты.** Цитокиновый профиль взаимосвязан с клиническими параметрами и болевой чувствительностью у зависимых от ПАВ лиц, в наибольшей степени это характерно для ИЛ-6 и ИЛ-1 β . Продукция ИЛ-10 повышается при эпизодическом и систематическом потреблении ПАВ. Эпизодическое потребление ПАВ связано с активацией внутриклеточного синтеза ИЛ-6. Оба параметра предположительно влияют на эмоциональную оценку боли. **Заключение.** Для оценки предрасположенности к формированию зависимости от ПАВ наиболее информативен баланс вне- и внутриклеточной продукции ИЛ-6 и ИЛ-10 в совокупности с результатами алгометрии.

Ключевые слова: цитокины; алгометрия; зависимость

Для корреспонденции: Невидимова Татьяна Ивановна, доктор мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. клинической психонейроиммунологии и нейробиологии, e-mail: nevidimova@yandex.ru

Для цитирования: Невидимова Т.И., Мастерова Е.И., Савочкина Д.Н., Бохан Н.А. Цитокинопосредованные изменения болевой чувствительности в оценке предрасположенности к формированию зависимости от психоактивных веществ. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2016; 60(3): 57–60.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 14-15-00183).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 10.05.2016

Nevidimova T.I., Masterova E.I., Savochkina D.N., Bokhan N.A.

Cytokine mediated changes of pain sensitivity in predisposition to substance dependence

Mental Health Research Institute, 4, ul. Aleutskaya, Tomsk, 634014, Russia

The purpose of study was evaluation of extra- and intracellular cytokine production in blood cultures and cytokine-pain relationship at different stages of addiction. **Methods.** Classic and multiplex enzyme immunoassay, flow cytometry, algometry, visual analogue scale were used in 34 abusers, 12 users and 20 control subjects. **Results.** Cytokine profile correlated with clinical parameters and pain sensitivity in abusers (mostly IL-6 and IL-1 β). IL-10 production is increased in episodic and systematic users. Activation of intracellular IL-6 synthesis was found in users. Both parameters are expected to affect the emotional evaluation of pain. **Conclusion.** To assess the predisposition to substance dependence most informative are balance of extra- and intracellular production of IL-6 and IL-10 and algometry.

Keywords: cytokines; algometry; addiction.

For citation: Nevidimova T.I., Masterova E.I., Savochkina D.N., Bokhan N.A. Cytokine mediated changes of pain sensitivity in predisposition to substance dependence. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya.* (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal). 2016; 60 (3): 57–60. (in Russ).

For correspondence: Tatyana I. Nevidimova, Doctor of Medical Sciences, Leading Researcher, Mental Health Research Institute; 4, ul. Aleutskaya, Tomsk, 634014, Russian Federation, e-mail: nevidimova@yandex.ru

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

Funding. The study was supported by Russian Science Foundation grant 14-15-00183.

Information about authors:

Nevidimova T.I., <http://orcid.org/0000-0002-5084-9200>

Bokhan N.A., <http://orcid.org/0000-0002-1052-855X>

Введение

Среди иммунобиологических компонентов зависимости от психоактивных веществ (ПАВ) в литературе последних лет обсуждаются механизмы нейровоспаления [1, 2]. В частности, опиоиды могут индуцировать гипералгезию посредством воздействия на глиальную продукцию цитокинов. Этот механизм может участвовать в формировании толерантности к ПАВ и зависимости от них. Предрасположенность к аддиктивному поведению сопряжена с возрастанием потребности в сенсорной стимуляции, стремлении к поиску новых ощущений, нередко связанных с риском. Цитокины способны влиять на структуры мозга, связанные с регуляцией мотивации и поведения, в том числе поведения зависимого [3, 4]. Предполагается их участие в регуляции ноцицепции и влияния на систему награды, поскольку существует общность нейроиммунных механизмов болевых синдромов и зависимости [5].

Цель исследования: оценка вне- и внутриклеточной продукции цитокинов клетками крови и взаимосвязь уровня цитокинов с болевой чувствительностью на разных этапах формирования зависимости.

Методика

Обследовано 66 лиц мужского пола (средний возраст 20 лет): 20 условно здоровых лиц (контрольная группа лиц, употребляющих психоактивные вещества (ПАВ) случайно, либо совсем их не употребляющие), 12 эпизодических потребителей ПАВ (условная группа риска — лица, употребляющие никотин и употребляющие алкоголь чаще 1 раза в неделю и/или имеющие единичные наркотические эпизоды), 34 наркологических пациента — лиц с психическими и поведенческими расстройствами вследствие употребления психоактивных веществ — F1x.2 по МКБ-10 (зависимые от ПАВ). Большую часть зависимых от ПАВ (более 70%) составили лица с синдромом зависимости от опиоидов. Клиническими базами исследований явились клиника НИИ психического здоровья, ОГБУЗ «Томский областной наркологический диспансер», наркологические диспансеры городов Сибирского федерального округа (Кемерово, Юрга). Набор условно здоровых лиц и лиц группы риска проводили в учреждениях образования г.Томска. Исследование проводили с соблюдением принципов Хельсинкской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации. На участие в исследовании от каждого взрослого пациента и добровольца было получено письменное информированное согласие, от подростков — согласие родителей или опекунов.

Изучена продукция цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-10, ИНФ- γ , ФНО- α) иммунокомпетентными

клетками. С помощью стандартного иммуноферментного анализа и мультиплексной технологии исследованы супернатанты индуцированных липополисахаридом (Sigma) культур цельной крови, и пробы, полученные с помощью наборов «Цитокин-стимул-бест» (ЗАО «Вектор-Бест», Кольцово), содержащих смесь поликлональных активаторов (липополисахарида, конканавалина А, фитогемагглютинина) для митогенной стимуляции клеток цельной крови. На мультиплексном анализаторе Luminex 200 (США) использовали наборы реагентов Human Cyto/Chemokine (Merck Millipore). Внутриклеточное содержание ИЛ-6 оценивали в мононуклеарах культур цельной крови интактных и стимулированных LPS. Исследование проводили на проточном цитофлюориметре FACS Calibur (BD, США) с использованием набора реагентов BD Cytotfix/Cytoperm Plus. Для предотвращения выхода цитокина из клетки применяли брэфелдин А. Результаты выражали в относительном количестве (%) CD14+ моноцитов, продуцирующих ИЛ-6.

С помощью тензоалгометрии оценивали пороги болевой чувствительности: минимальное болевое ощущение, которое субъект в состоянии распознать (нижний болевой порог) и порог переносимости боли (верхний болевой порог) [3]. Результаты выражали в условных единицах. Эмоциональное отношение к боли определяли с помощью визуально-аналоговой шкалы (ВАШ). При исследовании эмоционального отношения к боли начальная точка (0) отображает отсутствие боли, а конечная (10) — невыносимые болевые ощущения. Испытуемому предлагалось отобразить интенсивность боли в момент обследования в виде отметки на определенном отрезке шкалы. Результаты исследования болевой чувствительности выражались в условных единицах. Статистическая обработка осуществлялась с использованием критерия Манна—Уитни, коэффициента ранговой корреляции Спирмена, кластерного анализа.

Результаты и обсуждение

У лиц с зависимостью от ПАВ в период абстинентного синдрома выявлено статистически значимое снижение верхнего болевого порога по сравнению с контролем: медианы составили 11,0 и 13,0 ед., соответственно. Периоды постабстинентного состояния и вынужденной ремиссии сопровождалась статистически значимым повышением нижнего болевого порога до 9,8 и 11,2 ед., что превышало контрольный уровень (медиана 7,9 ед.)

Таким образом, изменения болевой чувствительности у зависимых от ПАВ лиц сопряжены с динамикой болезни: в период абстиненции наблюдается ее

возрастание, постабстинентное состояние и вынужденная ремиссия сопровождаются снижением болевой чувствительности. Формирование зависимости от ПАВ сопровождается снижением выработки интерферона-гамма, ростом продукции про- и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-10). Продукция ИЛ-10 повышается уже на этапе эпизодического употребления ПАВ (табл. 1), равно как и внутриклеточный синтез ИЛ-6. Обнаружено статистически значимое повышение в стимулированных культурах содержания CD14⁺ моноцитов с внутриклеточной продукцией ИЛ-6 у эпизодических потребителей ПАВ по сравнению с зависимыми от ПАВ пациентами [42,0 (23,0; 49,0) и 20,0 (13,0; 36,0)%; ($p = 0,046$); в контроле 26,0 (17,0; 44,0)%].

Поскольку на этом этапе не удалось выявить сопряженности результатов алгометрии с продукцией цитокинов, проводился сравнительный анализ клинико-anamnestических показателей в группах, различающихся возрастом обследованных (табл. 2) и уровнями продукции ФНО- α , ИЛ-6 и ИЛ-1 β . Наиболее интересной возрастной особенностью было снижение переносимости боли у подростков, зависимых от ПАВ, на фоне максимальной продукции ИЛ-6.

С помощью кластерного анализа были сформированы и изучены группы зависимых от ПАВ лиц мужского пола с высоким (выше контрольного) [327,4 (215,1; 892,0) пг/мл и 214,6 (200,0; 221,0) пг/мл, $p < 0,05$] и средним (равным контрольному) [219,4 (217,7; 239,9) пг/мл и 214,6 (200,0; 221,0) пг/мл, $p < 0,05$] уровнем продукции данного цитокина. Оценка болевой чувствительности выявила у зависимых потребителей ПАВ с высоким уровнем продукции ИЛ-1 β возрастание нижнего и верхнего болевого порога по сравнению с зависимыми от ПАВ лицами со средним уровнем продукции ИЛ-1 β . Обнаружены тенденция к возрастанию толерантности к ПАВ и снижение возраста манифестации абстинентного синдрома у зависимых от опиоидов лиц со средним уровнем продукции ИЛ-1 β по сравнению с зависимыми от опиоидов с высоким уровнем продукции ИЛ-1 β . Выявленные особенности могут свидетельствовать о том, что для лиц с нетяжелым течением опиоидной зависимости характерно увеличение уровня продукции ИЛ-1 β , сочетающееся со снижением болевой чувствительности. При возрастании тяжести синдрома зависимости от опиоидов наблюдается отсутствие изменений уровня продукции ИЛ-1 β и болевой чув-

Таблица 1

Спонтанная и стимулированная продукция цитокинов в обследованных группах [Median (LQ; UQ)]

Показатели	Контрольная группа (n = 20)	Эпизодические потребители ПАВ (n = 12)	Зависимые от ПАВ лица (n = 34)
ИЛ10 спонт., пкг/мл	6,40 (5,98; 8,00)	5,98 (3,75; 6,81)	5,98 (3,75; 6,81)
ИЛ10 стим., пкг/мл	307,82 (282,63; 461,40)	711,54 (423,55; 984,62) *	485,82 (377,45; 712,89) *
INF γ спонт., пкг/мл	1,21 (0,42; 2,68)	0,69 (0,13; 8,49)	0,69 (0,13; 2,44)
INF γ стим., пкг/мл	1726,36 (955,64; 2932,75)	1582,10 (414,96; 2159,75)	447,37 ** (186,34; 548,24)

Примечание. * — $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой; * — $p < 0,05$ при сравнении с эпизодическими потребителями ПАВ.

Таблица 2

Влияние возраста на продукцию цитокинов и результаты алгометрии [Median (LQ, UQ)]

Показатели		Контрольная группа (n = 20)	Эпизодические потребители ПАВ (n = 12)	Зависимые от ПАВ лица (n = 34)
ФНО- α , пг/мл	1	647,14 (318,2; 744,3)	854,3 (687,1; 1011,9)	439,4 (199,5; 688,6)
	2	765,4 (566,3; 865,1)	565,8 (528,2; 858,9)	392,4 (60,0; 700,3)
ИЛ-6, пг/мл	1	2372,9 (1931,4; 2766,3)	2345,1 (2073,8; 2622,6)	3564,4 (3127,8; 3620,0)* ^x
	2	2391,8 (1826,7; 3226,3)	2086,6 (1121,7; 3602,0)	3138,7 (2441,2; 3851,7)*
ИЛ-1 β , пг/мл	1	265,1 (212,6; 446,5)	363,5 (211,9; 514,9)	585,3 (223,1; 1200,0)
	2	216,3 (199,9; 221,4)	216,1 (120,8; 2739,4)	221,8 (217,7; 751,6)*
Нижний болевой порог, усл.ед.	1	10,0 (7,5; 13,0)	10,0 (8,0; 13,0)	12,0 (10,0; 13,0)
	2	5,0 (3,0; 14,0)	10,0 (9,0; 12,0)	10,0 (8,0; 13,0)*
Верхний болевой порог, усл.ед.	1	16,0 (14,0; 17,5)	16,0 (15,0; 16,0)	15,0 (14,0; 16,0)*
	2	15,0 (12,0; 17,0)	14,5 (13,5; 18,0)	15,0 (15,0; 17,0)
Эмоциональная оценка боли, усл.ед.	1	4,0 (2,5; 6,0)	4,3 (3,2; 5,8)	6,0 (4,0; 8,0)*
	2	5,0 (4,5; 6,5)	6,0 (5,0; 8,0)	6,0 (4,0; 7,0)

Примечание. 1 — лица подросткового возраста (14—19 лет); 2 — лица юношеского возраста (20—24 года); * — $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой; ^x — $p < 0,05$ при сравнении с эпизодическими потребителями ПАВ соответствующего возраста.

ствительности при наличии сдвигов продукции ФНО- α и ИЛ-6.

Были выделены группы зависимых от ПАВ лиц с низким (ниже контрольного) [434,1 (291,1; 525,4) пг/мл и 700,0 (503,9; 950,0) пг/мл, $p < 0,05$] и средним (равным контрольному) [(904,5 (688,6; 971,0) пг/мл и 700,0 (503,9; 950,0) пг/мл] уровнями продукции ФНО- α [Median (LQ, UQ)]. При оценке болевой чувствительности у зависимых от ПАВ лиц с низким уровнем продукции ФНО- α отмечено снижение нижнего и верхнего болевого порога по сравнению с зависимыми потребителями ПАВ со средним уровнем продукции ФНО- α . Снижение болевой чувствительности у зависимых от ПАВ лиц со средним уровнем продукции ФНО- α указывает на то, что данный цитокин не оказывает влияние на изменения ноцицепции у зависимых потребителей ПАВ.

Оценка вклада ИЛ-6 в закономерности психонейроиммунологического реагирования у зависимых от ПАВ лиц проводилась в группах с высоким (выше контрольного) [3531, 6 (3180,8; 3813,9) пг/мл и 2413,7 (1931,0; 3249,0) пг/мл, $p < 0,05$] и средним (равным контрольному) [2590, 5 (2349,8; 3035,5) пг/мл и 2413,7 (1931,0; 3249,0) пг/мл] уровнями продукции данного цитокина [Median (LQ, UQ)]. Исследование болевой чувствительности позволило выявить у зависимых от ПАВ лиц с высоким уровнем продукции ИЛ-6 возрастание нижнего болевого порога и эмоциональной оценки болевой чувствительности по сравнению с зависимыми потребителями ПАВ со средним уровнем продукции ИЛ-6.

Таким образом, цитокиновый профиль взаимосвязан с клинико-сенсорными параметрами у зависимых от ПАВ лиц, в наибольшей степени это влияние отмечено для ИЛ-6 и ИЛ-1 β . При этом ИЛ-6 у зависимых потребителей ПАВ и ИЛ-1 β у лиц с синдро-

мом зависимости от опиоидов влияют на уровни продукции других цитокинов и болевую чувствительность. Следующим шагом была оценка внутриклеточного содержания ИЛ-6. Лишь в контроле обнаруживается обратная связь между содержанием внутриклеточного ИЛ-6 в спонтанных и стимулированных культурах и эмоциональной оценкой боли (коэффициент корреляции Спирмена $R_s = 0,6$), в группе эпизодических потребителей эта связь слабая ($R_s = 0,3$), а в группе зависимых от ПАВ лиц такая связь не обнаруживается. Эпизодическое потребление психоактивных веществ сопровождается повышением продукции ИЛ-10, причем спонтанная продукция этого цитокина прямо коррелирует с эмоциональной оценкой боли. Полученные результаты могут быть использованы для дальнейшего анализа предрасположенности к зависимости от психоактивных веществ.

References

1. Beumer W. The immune theory of psychiatric diseases: a key role for activated microglia and circulating monocytes. *J Leukocyte Biology*. 2012; 92: 959-75.
2. Wang X., Hutchinson M.R., Watkins L.R., Yin H. Morphine activates neuroinflammation in a manner parallel to endotoxin. *PNAS*. 2012; 109 (16): 6325-30.
3. Bokhan N.A., Masterova E.I., Nevidimova T.I. *Psychoneuroimmunological patterns of addiction. [Psihoneuroimmunologicheskie patterny zavisimosti]* Tomsk: Ivan Fedorov, 2016. (In Russian)
4. Nevidimova T.I., Batukhtina E.I., Vetlugina T.P., Savochkina D.N., Nikitina V.B., Bokhan N.A. Association between cytokine production, level of hormones and sensory reactions in the formation of substance dependence in males. *Bulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2015; 159 (6): 744-8. (In Russian)
5. Evseev V.A., Davydova T.V., Vetrilje L.A., Grekova N.A., Fomina V.G. Common neuroimmune mechanisms of addiction, alcoholism, epilepsy, neurogenic pain syndromes. *Vestnik RAMN*. 2006; 7: 38-43. (In Russian)

Сведения об авторах:

Мастерова Елена Ивановна, доктор мед. наук, ст. науч. сотр. отд-ния аддиктивных состояний, руководитель сектора психофизиологии сенсорных систем, e-mail: actro@yandex.ru

Савочкина Дарья Николаевна, канд. мед. наук, науч. сотр. лаб. клинической психонейроиммунологии и нейробиологии, e-mail: kokodasha@yandex.ru

Бохан Николай Александрович, доктор мед. наук, проф., член-кор. РАН, засл. деятель науки РФ, директор, e-mail: redo@mail.tomsknet.ru