

# СОДЕРЖАНИЕ В МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У РЕКОНВАЛЕСЦЕНТОВ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ ФАКТОРОВ ТРАНСКРИПЦИИ И ФОСФОРИЛИРОВАННЫХ ФОРМ ТЕРМИНАЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ MAPK/SAPK-СИГНАЛЬНОГО ПУТИ

Терехов И.В.

Тульский государственный университет, г.Тула

## THE CONTENT IN MONONUCLEAR LEUKOCYTES OF PERIPHERAL BLOOD OF TRANSCRIPTION FACTORS AND THE LEVEL OF PHOSPHORYLATION OF THE TERMINAL COMPONENTS OF THE MAPK/SAPK-SIGNALING PATHWAY AT THE CONVALESCENT COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA

Terekhov I. V.

Tula state University, Tula

Эффективность восстановления организма после перенесённых инфекционных заболеваний в значительной степени определяется завершённостью их постклинических стадий и восстановлением нормальных межклеточных взаимодействий, а так же молекулярных процессов в иммунокомпетентных клетках, включая процессы транскрипции генов провоспалительных цитокинов, молекул межклеточных взаимодействий, белков ответа острой фазы и т.п. [1]. Из числа факторов, контролирующих процессы, лежащие в основе саногенеза, важную роль играют транскрипционные факторы AP-1, NF-AT, T-box, FOXP3, NF-κB и др. [2]. В регуляции ответа острой фазы, а также пролиферации и дифференцировки клеток важную роль играет также митоген-стимулируемый и стресс-активируемый (MAPK/SAPK) сигнальный путь [3,4]. Показано, в постклиническом периоде внебольничной пневмонии имеет место дизрегуляция продукции про- и противовоспалительных цитокинов, депрессия фагоцитарной активности мононуклеарных клеток цельной крови, повышение активности внутриклеточных сигнальных путей, способствующих затяжному течению заболева-

ния и снижению резистентности организма [5,6]. Указанные изменения, очевидно, определяются дисбалансом активности транскрипционных факторов и дизрегуляции сигнальных путей в ответствующих клетках.

Учитывая недостаточно полное исследование вопроса о содержании в иммунокомпетентных клетках реконвалесцентов внебольничной пневмонии, целью настоящего исследования являлось изучение уровня факторов транскрипции NF-AT, AP-1, T-box, FOXP3, NF-IL6, YB1, E2F4, GATA3, протеинкиназ ERK и p38 в мононуклеарных лейкоцитах периферической крови (МНК).

**Материалом исследования** служила венозная кровь практически здоровых лиц (n=30), составивших группу контроля, и лиц с внебольничной бактериальной пневмонией (ВП) нетяжёлого течения (n=30) в возрасте 20-35 лет (средний возраст 22,5±2,5 года) на 17-21 сутки заболевания (перед выпиской из стационара). Выделение МНК и подготовка ядерно-цитоплазматических лизатов осуществлялись в соответствии с рекомендациями производителя наборов реагентов для проведения иммуноферментного анализа (ИФА), для чего использовали 1 мл клеточной су-

спензии содержащей  $5 \times 10^6$  клеток. Подсчёт клеток и анализ их жизнеспособности осуществляли с помощью счётчика TC20 (Bio-Rad, США). Жизнеспособность клеток составляла более 90%.

В соответствии с поставленной целью, в лизате МНК, методом ИФА определяли содержание (концентрацию – нг/мл) факторов транскрипции NF-AT, AP-1, T-box, FOXP3, NF-IL6, YB1, E2F4, GATA3, а также уровень фосфорилирования (в условных единицах на нг белка – ед/нг) терминальных протеинкиназ MAPK/SAPK-сигнального пути – p38, ERK (1 и 2 изоформ).

При проведении исследования использовали наборы реактивов производства CUSABIO BIOTECH (Китай). Анализ проводили на анализаторе Personal LAB (Adaltis Italia S.p.A., Италия).

Статистическую обработку проводили в программе STATISTICA 7,0. В процессе исследования рассчитывалось среднее значение, медиана (Me) исследуемого показателя, а также 25 и 75 проценти выборки (25%; 75%). Статистическую значимость (p) межгрупповых различий оценивали с помощью U-критерия Манна-Уитни. Результаты исследования представлены в следующем виде: среднее значение (25%; Me; 75%).

**Результаты исследования и их обсуждение.** Проведенный анализ показал, что содержание в МНК фактора транскрипции FOXP3 в группе контроля составило 10,1 (9,74; 10,2; 10,5) нг/мл, в основной группе – 11,0 (10,4; 10,9; 11,5) нг/мл. Содержание GATA3 у практически здоровых лиц составило 0,15 (0,08; 0,1; 0,23) нг/мл, у реконвалесцентов ВП – 0,36 (0,14; 0,2; 0,48) нг/мл. Уровень T-box в группе контроля составил 1,28 (1,2; 1,31; 1,37) нг/мл, в основной группе – 1,24 (1,16; 1,33; 1,37) нг/мл. Содержание NF-AT в контрольной группе составило 0,18 (0,16; 0,16; 0,19), в основной – 0,4 (0,18; 0,4; 0,61) нг/мл.

Уровень транскрипционных факторов контролирующей инфекционно-воспалительный ответ, в частности, NF-IL6, в контрольной группе составил 0,47 (0,15; 0,23; 0,79) нг/мл, в основной – 0,39 (0,21; 0,26; 0,38) нг/мл. При этом содержание AP-1 в контрольной группе составило 0,16 (0,14; 0,17; 0,17) нг/мл, в основной – 0,28 (0,19; 0,23; 0,36) нг/мл. Также установлено, что уровень транскрипционного фактора E2F4 в группе контроля составил 0,71 (0,65; 0,67; 0,77) нг/мл, тогда как в основной группе – 0,46 (0,35; 0,45; 0,58) нг/мл. При этом концентрация фактора YB1 в группе контроля

составила 0,39 (0,35; 0,39; 0,42) нг/мл, в основной группе – 0,48 (0,41; 0,44; 0,51) нг/мл.

На этом фоне уровень фосфорилирования протеинкиназы p38 в группе контроля составил 0,43 (0,31; 0,44; 0,57) ед/нг, а в основной группе – 0,66 (0,29; 0,36; 0,86) ед/нг, при содержании в МНК протеинкиназы ERK – 2,38 (1,98; 2,14; 2,82) и 2,17 (1,63; 2,11; 2,8) ед/нг соответственно.

Таким образом, результаты проведенного исследования показали, что реконвалесценция ВП протекает на фоне повышенного на 136,6% (p = 0,0005) содержания в МНК фактора транскрипции GATA3, на 128,6% – NF-AT (p < 0,0001), на 77,4% – AP-1 (p < 0,0001), на 23,4% – YB1 (p = 0,0002), на 9,0% – FOXP3 (p < 0,0001). Также у реконвалесцентов ВП имело место снижение содержания в МНК ядерного фактора транскрипции E2F4 на 20,7% (p < 0,0001), NF-IL6 на 16,0% (p = 0,33), T-box на 3,3% (p = 0,46) от соответствующего уровня практически здоровых лиц.

На этом фоне уровень фосфорилированной формы протеинкиназы p38 у реконвалесцентов ВП, в сравнении с практически здоровыми лицами, был повышен на 51,8% (p = 0,02), при сниженном на 8,7% (p=0,19) уровне ERK.

Полученные результаты позволяют говорить о том, что постклиническая фаза инфекционно-воспалительного процесса у пациентов с ВП отличается сохранением активационных стимулов, способствующих поддержанию активности иммунокомпетентных клеток, в частности, T-регуляторных клеток и T-хелперов 2-го типа. Кроме того, повышенный уровень фосфорилированной формы протеинкиназы p38, в сочетании с повышенным уровнем фактора транскрипции AP-1, позволяет говорить о незавершённом воспалительном ответе иммунокомпетентных клеток миелоидного ряда, в частности, моноцитов и макрофагов.

Сниженный уровень фактора транскрипции E2F4, терминальной протеинкиназы ERK, наряду с повышенным уровнем фактора YB1 позволяет говорить о дизрегуляции клеточной пролиферации и дифференцировки в данную фазу патологического процесса. Указанное обстоятельство требует более тщательной клинической оценки состояния реконвалесцентов ВП и акцента при осуществлении реабилитационных мероприятий на иммунореабилитации с применением немедикаментозных методов лечения [7,8].

## ЛИТЕРАТУРА:

1. Хадарцев А.А., Морозов В.Н., Хрупачев А.Г. Депрессия антистрессовых механизмов как основа развития патологического процесса // Фундаментальные исследования. 2012; 4-2: 371 – 375.
2. Quinton L.J., Jones M.R., Simms B.T. Functions and regulation of nf-kappaB relA during pneumococcal pneumonia. J. Immunol. 2007; 178 (3): 1896–1903.
3. Pearson G., Robinson F., Beers Gibson T., Xu B.E., Karandikar M., Berman K., Cobb M.H. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions. Endocrine Reviews. 2001; 22 (2): 153–183. doi:10.1210/er.22.2.153.
4. Wuyts W.A., Vanaudenaerde B.M., Dupont L.J. et al. Involvement of p38 MAPK, JNK, p42/p44 ERK and NF-kappaB in IL-1beta-induced chemokine release in human airway smooth muscle cells. Respir. Med. 2003; 97(7):811-817.
5. Терехов И.В., Громов М.С. Характеристика системного воспалительного ответа у больных вне-

больничной пневмонией в динамике при помощи активной СВЧ-радиометрии // Казанский медицинский журнал. 2010; 91(5): 611-614.

6. Терехов И.В., Хадарцев А.А., Бондарь С.С. Состояние рецепторзависимых сигнальных путей в агранулоцитах периферической крови реконвалесцентов внебольничной пневмонии под влиянием микроволнового излучения // Вопросы курортологии. 2016; 93(3): 23-28. doi. 10.17116/kurort2016323-28.

7. Солодухин К.А., Никифоров В.С., Ицкович В.О. Влияние низкоинтенсивного СВЧ-облучения на внутриклеточные процессы в мононуклеарах при пневмонии // Медицинская иммунология. 2012; 14(6): 541-544.

8. Терехов И.В., Солодухин К.А., Ицкович В.О. Особенности биологического действия низкоинтенсивного СВЧ-излучения на продукцию цитокинов клетками цельной крови при внебольничной пневмонии // Цитокины и воспаление. 2012; 11 (4): 67-72.

## ПОЛИМОРФИЗМ TOLL-ПОДОБНЫХ КЛЕТОЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ TLR<sub>2</sub> И TLR<sub>4</sub> И УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ У БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ

Фассахов Р.С.<sup>1</sup>, Тюрин Ю. А.<sup>2</sup>, Решетникова И.Д.<sup>1,2</sup>, Агафонова Е. В.<sup>2</sup>, Ризванов А.А.<sup>1</sup>, Шарифуллина А.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань

<sup>2</sup> Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии, Казань

### POLYMORPHISM OF TOLL-LIKE CELL RECEPTORS (TLR2, TLR4) AND CYTOKINE LEVELS IN PATIENTS WITH ATOPIC DERMATITIS

Fassahov R.S.<sup>1</sup>, Tyurin Yu. A.<sup>2</sup>, Reshetnikova I. D.<sup>1,2</sup>, Agafonova E. V.<sup>2</sup>, Rizvanov A. A.<sup>1</sup>, Sharifullina A. A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Kazan (Volga) Federal University, Kazan, Russia

<sup>2</sup> Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Kazan, Russia

Молекулярно-генетические исследования, проведённые за последние два десятилетия, показали, что в основе формирования атопического фенотипа участвуют несколько сотен генных мутаций [1, 2]. При атопическом дерматите (АтД) выявлены существенные ассоциации с полиморфизмом генов, участвующих в формировании эпидермального барьера, иммунных реакций и их регуляции [2]. Не меньшую актуальность представляют исследования, касающиеся изучения связи различных полиморфных ва-

риантов генов, контролирующих врождённые и адаптивные иммунные реакции в патогенезе аллергических заболеваний. Нарушение барьерной функции кожи – один из значимых факторов в патогенезе атопического дерматита, что признаётся большинством исследователей.

Толл-подобные рецепторы (TLR) являются одной из групп рецепторов в системе иммунного ответа, которые участвуют в воспалительных реакциях различных типов клеток на микробные антигены [3]. Установлено, что клеточные рецеп-