

РЕАКЦИЯ ЛИМФОИДНЫХ КЛЕТОК НА РЕГУЛЯТОРНЫЙ СИГНАЛ ИНТЕРЛЕЙКИНА 1 КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ИХ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ

Шанин С.Н., Корнева Е.А.

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Количественная оценка пролиферативной активности лимфоцитов – важный и едва ли не единственный показатель уровня функциональной активности не только этих клеток, но и иммунной системы в целом.

Целью настоящего исследования явилось разработка адекватного физиологического теста для определения степени функциональной активности лимфоидных клеток. Выбор IL-1 в качестве активатора пролиферации связан с наличием рецепторов к нему у лимфоидных клеток, ключевой ролью этого цитокина в инициации широкого спектра биологических эффектов иммунной системы на антиген, в том числе участие в межклеточной кооперации при иммунном ответе и дистантным действием в отношении различных периферических клеточных систем. Установлено, что лиганд-рецепторное взаимодействие IL-1 рецептором 1 типа активирует нейтральную сфингомиелиназу, иницируя тем самым сфингомиелиновый путь сигнальной трансдукции в лимфоцитах. Степень активации этого фермента различается в зависимости от вида стрессорного воздействия и коррелирует с изменениями вектора гуморального иммунного ответа и пролиферативной активности лимфоцитов. При стрессах, вызывающих развитие иммуносупрессии как у мышей, так и у крыс, уровень rIL-1 повышается, но активность нейтральной сфингомиелиназы и пролиферации лимфоидных клеток существенно снижается. Изменение степени пролиферации лимфоцитов стало маркером тяжести патологического процесса в клинике. Установлена высокая степень корреляции низкой интенсивности пролиферации лимфоцитов периферической крови в ответ на действие IL-1 и неблагоприятного исхода заболевания у пациентов, перенесших тяжелую сочетанную травму, и детей с гнойной формой менингита. Таким образом, степень пролиферации лимфоцитов в ответ на действие регуляторного сигнала IL-1 может быть использована как для анализа эффективности препаратов-иммуномодуляторов, так и в клинической и научной практике как показатель, имеющий диагностическое и прогностическое значение.

Ключевые слова: пролиферация лимфоцитов, IL-1, стресс, травма, менингит

RESPONSE OF LYMPHOID CELLS TO REGULATORY SIGNAL OF INTERLEUKIN 1 AS AN INDEX OF LYMPHOCYTE ACTIVITY

Shanin S.N., Korneva E.A.

Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Intensity of lymphocyte proliferative activity is an important and almost the only index of their functional activity levels, and of immune system in general. The aim of this study was to develop an adequate

Адрес для переписки:

Шанин Сергей Николаевич
ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»
197376, Россия, Санкт-Петербург,
ул. Акад. Павлова, 9а.
Тел.: 8 (812) 234-15-83.
Факс: 8 (812) 234-94-93.
E-mail: shanins@yandex.ru

Address for correspondence:

Shanin Sergey N.
Institute of Experimental Medicine
197376, Russian Federation, St. Petersburg,
Acad. Pavlov str., 9a.
Phone: 7 (812) 234-15-83.
Fax: 7 (812) 234-94-93.
E-mail: shanins@yandex.ru

Образец цитирования:

С.Н. Шанин, Е.А. Корнева «Реакция лимфоидных клеток на регуляторный сигнал интерлейкина 1 как показатель их функциональной активности» // Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 4. С. 661-668. doi: 10.15789/1563-0625-2019-4-661-668
© Шанин С.Н., Корнева Е.А., 2019

For citation:

S.N. Shanin, E.A. Korneva “Response of lymphoid cells to regulatory signal of Interleukin 1 as an index of lymphocyte activity”, *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2019, Vol. 21, no. 4, pp. 661-668. doi: 10.15789/1563-0625-2019-4-661-668
DOI: 10.15789/1563-0625-2019-4-661-668

physiological test to determine the degree of functional activity for lymphoid cells. The choice of IL-1 as an activator of proliferation is justified by the presence of IL-1 receptors on lymphoid cell membranes, as well as the key role of this cytokine for initiation of a wide range of biological effects of antigens upon immune system, including participation in intercellular cooperation and distant actions upon different cell populations. It was found that the ligand-receptor interaction of IL-1 with type I receptor activates neutral sphingomyelinase, and the sphingomyelin pathway of signal transduction in lymphocytes. The degree of this enzyme activation depends on the type of stress and correlates with changes of humoral immune response vector and proliferative activity of lymphocytes. The level of IL-1 increases, but the activity of neutral sphingomyelinase and lymphoid cell proliferation is significantly reduced after application of immunosuppressive stress factors in murine and rat models. Variable degree of lymphocyte proliferation has become a severity marker of pathological process in clinical settings. High degree of correlation between the low intensity of peripheral blood lymphocyte proliferation in response to IL-1 action, and unfavorable disease outcome was revealed in the patients with severe combined trauma and children with purulent meningitis. Thus, the degree of lymphocyte proliferation in response to regulatory signal of IL-1 may be used both for analysis of immune modulator efficiency, as well as diagnostic and prognostic indicators in clinical practice.

Keywords: lymphocyte proliferation, IL-1, stress, injury, meningitis

Введение

Лимфоциты – единственный тип клеток крови, для которых пролиферация в периферических тканях является физиологической нормой и обязательным этапом развития иммунного ответа. Количественная оценка степени пролиферации этих клеток при действии регуляторных цитокинов характеризует уровень их функциональной активации.

Как известно, пролиферация лимфоцитов происходит при действии антигенов, этот процесс опосредован цитокинами, продукция которых стимулируется, и они влияют на рецепторный аппарат лимфоцитарных клеток. Важнейшим свойством IL-1 является стимуляция пролиферации лимфоцитов. Хотя IL-1 не считается фактором роста Т- и В-лимфоцитов, но индуцирует синтез IL-2 и IL-4 и усиливает экспрессию их рецепторов на мембранах активированных лимфоцитов [6, 12]. Вместе с тем на мембранах лимфоцитов экспрессируются рецепторы к IL-1, к которым относятся рецепторы I и II типа, а также аксессуарный белок, являющийся второй субъединицей комплекса рецептора I типа для IL-1 [5, 17]. Количество рецепторов I типа для IL-1 на одной клетке очень невелико, при этом биологический ответ клетки на действие цитокина проявляется даже при связывании IL-1 β с 2-3 % экспрессированных рецепторов I типа [14].

IL-1 является ключевым цитокином, инициирующим развитие широкого спектра биологических эффектов на повреждающее воздействие. В присутствии IL-1 усиливается активность естественных киллеров (ЕКК) – субпопуляции лимфоцитов костномозгового происхождения, участвующих в противоопухолевом иммунитете. Влияние IL-1 на цитолитическую активность НК и продукцию ими γ -интерферона увеличи-

вается при его одновременном действии с IL-2, IL-12 и TNF α . [13]. Под действием IL-1 профессиональные фагоциты – макрофаги – выделяют простагландины, лейкотриены и реактивные производные кислорода. Нейтрофильные гранулоциты отвечают на действие IL-1 метаболическим взрывом и дегрануляцией. Он вызывает хемотаксис лимфоцитов, мононуклеарных фагоцитов и нейтрофилов. В то же самое время IL-1 усиливает адгезию нейтрофилов к эндотелиальным клеткам, способствуя, таким образом, их выходу из костного мозга в циркуляцию и возникновению лейкоцитарных инфильтратов [20, 21, 24]. К клеткам, в которых IL-1 инициирует пролиферацию и синтез простагландинов, относятся фибробласты, клетки мезоглии клубочкового аппарата почек, синовиальные клетки больных ревматоидным артритом, клетки эпителия [18]. Интерлейкин-1, будучи провоспалительным цитокином, индуцирует синтез белков острой фазы гепатоцитами, а также экспрессию генов печеночных белков, продуцируемых в ответ на повреждение, инфекцию, и других патологических процессов – С-реактивного белка и сывороточного амилоида А, синтез которых при действии IL-1 увеличивается в сотни раз [25].

Экспрессия IL-1 в тканях здорового организма очень незначительна. Тем не менее повышение продукции IL-1 наблюдается при овуляции и физической нагрузке [6]. И, хотя экспрессия провоспалительных цитокинов, в том числе и IL-1, в мозге в норме очень низка (но возрастает при стрессе, инфекции и повреждении), уже сформировалось представление о том, что IL-1 необходимо для нормальной деятельности мозга [4, 26].

Помимо участия в местной межклеточной кооперации при иммунном ответе и дистантных эффектах в отношении различных периферических клеточных систем, IL-1 обладает еще и цен-

тральным действием на структуры головного мозга. IL-1 экспрессируется на клетках различных структур головного мозга, включая нейроны, на мембранах которых представлены и рецепторы к этому цитокину [15, 16, 19]. IL-1 – эндогенный пироген, осуществляющий запуск и поддержание лихорадочной реакции путем прямого воздействия на терморегулирующие клетки медиальной преоптической области (МПО) переднего гипоталамуса [13]. Активирующее влияние IL-1 на глюкокортикоидную функцию ГНАКС, выражающееся в инициации повышения уровня АКТИГ и кортикостероидов в плазме крови [8, 11], обусловлено его центральным действием на гипоталамические структуры мозга. Важным в биологической характеристике IL-1 является его вовлечение в развитие стрессорной реакции [8] как значимого компонента реализации взаимодействия нейроэндокринной и иммунной систем. В частности, именно IL-1 – один из передатчиков информации от иммунной системы к нервной [3, 8, 10].

Целью настоящего исследования явилось разработка функционального теста для определения степени активности лимфоидных клеток, которая в большой мере характеризует и уровень активности иммунной системы в целом. Принципиальным отличием от общепринятых методов определения интенсивности пролиферации лимфоцитов является использование IL-1 как физиологически адекватного активатора этого процесса.

Материалы и методы

В работе использованы лимфоциты, полученные из селезенки и крови стрессированных животных, а также венозной крови пациентов клиники НИИ детских инфекций и НИИ скорой помощи.

Выделение спленоцитов из селезенки крыс

Крыс декапитировали, в стерильных условиях вскрывали брюшную полость и удаляли селезенку. Из полученных селезенок выделяли спленоциты путем мягкого раздавливания в стеклянном гомогенизаторе с 2 мл среды RPMI-1640, содержащей 2 мМ глутамина, в асептических условиях, на холоде. Полученную суспензию фильтровали через стерильный марлевый фильтр, отмывали, центрифугируя 10 мин при 2000 об/мин и 4 °С. Эритроциты, присутствующие в суспензии клеток, лизировали добавлением стерильного 0,83% раствора NH₄Cl. Полученные спленоциты дважды отмывали от лизата центрифугированием по 10 мин при 2000 об/мин в 20 мл свежей среды RPMI-1640. После подсчета количества клеток в камере Горяева (производственная фирма «Линза», Россия) на инвертированном микро-

скопе МИБ-Р (ОАО «ЛОМО», Россия), спленоциты разводили в среде RPMI-1640 с добавлением 10% инактивированной фетальной сыворотки («Биолот», Санкт-Петербург) из расчета 1 × 10⁷ клеток/мл.

Выделение лимфоцитов из крови

В гепаринизированную кровь добавляли среду Хенкса и выделяли клетки в градиенте плотности (1,090 г/куб. см) смеси фиколл-верографина центрифугированием в течение 40 мин при 700 г и 18 °С. Полученные клетки отмывали в среде Хенкса трехразовым центрифугированием по 10 мин при 500 г и 4 °С. Выделенные мононуклеары (моноциты и лимфоциты) ресуспендировали в среде для культивирования клеток на основе RPMI-1640 (Sigma), содержащей 10% фетальной сыворотки (Sigma), пенициллин (100 ЕД/мл), 2 мМ глутамина, в концентрации 1 млн клеток/мл и преинкубировали 2 часа при 37 °С в атмосфере 5% углекислого газа для отделения прилипающих клеток (моноцитов).

Полученные лимфоциты селезенки и крови культивировали в 96-луночных планшетах. В каждую лунку вносили 100 мкл суспензии лимфоцитов (приблизительно 0,3 млн клеток) в среде для культивирования, 50 мкл митогена конканавалина А (ConA, 0,625 мкг/мл) и 50 мкл нативного препарата IL-1β кролика (НИИЭМ РАМН) в дозе 0,06 мкг/мл или 50 мкл рекомбинантного препарата IL-1β (pIL-1β, Institute for Drug Research, Budapest, Hungary) в дозе 250 нг/мл. Контролем служили культуры лимфоцитов без IL-1β и без митогена. Клетки культивировали в инкубаторе при 37 °С, в атмосфере, содержащей 5% CO₂ и 100% влажности. Через 56 часов в культуру вносили меченный тритием тимидин из расчета 5 мкКИ/мл («Изотоп», РФ). Через 16 часов клетки переносили на фильтры с помощью полуавтоматического харвестера (Scatron, США). Включение меченого тимидина оценивали с помощью сцинтилляционного β-счетчика (Beckman, США). Реакцию учитывали количественно по включению метки в ДНК лимфоцитов с использованием толуоловой сцинтилляционной смеси [22].

Таким образом, особенностью примененного метода стала оценка эффекта действия IL-1 на процесс пролиферации лимфоцитов, поскольку изменение степени пролиферативной активности лимфоидных клеток является наиболее информативным показателем функциональной активности иммунной системы в целом в норме и при различных формах патологии.

Результаты

Применение различных моделей экспериментального стресса позволило оценить влияние ин-

тенсивности стресса на активность пролиферации лимфоцитов, индуцированной IL-1.

Интенсивное комбинированное (иммобилизация и охлаждение) стрессорное воздействие приводит к развитию у животных выраженной супрессии гуморального иммунного ответа и сопровождается развитием классических проявлений стресса — повышением уровня глюкокортикоидных гормонов в крови, острыми изъязвлениями желудочно-кишечного тракта и снижением массы тимуса.

Кратковременный ротационный стресс, не вызывающий развития иммуносупрессии, также приводит к повышению концентрации кортикостерона в крови в течение 2-х часов после окончания воздействия — сопоставимое по интенсивности, но менее длительное, чем при комбинированном стрессе. Однако при этом не отмечается появления деструкций секреторного отдела слизистой желудка, не изменяется масса тимуса животных.

И в том и в другом случаях наблюдали повышение концентрации IL-1 в крови. Эти данные позволяют рассматривать стресс-индуцированную продукцию IL-1 как одно из характерных проявлений стресса наряду с такими классическими его проявлениями, как повышение концентрации глюкокортикоидных гормонов и катехоламинов в крови, появление острых изъязвлений желудочно-кишечного тракта, инволюция тимико-лимфатического аппарата и нейтрофилез [2].

При стрессорных воздействиях, вызывающих развитие иммуносупрессии, несмотря на повышение уровня IL-1 в сыворотке, наблюдается выраженное угнетение реакции лимфоидных клеток-мишеней на действие IL-1 β *in vitro* [23]. Пролиферативная активность лимфоцитов под действием субоптимальной дозы ConA (вызывающей увеличение включения метки в делящиеся клетки на 50-70%), в условиях стресса, не изменялась по сравнению с клетками интактных животных (рис. 1).

Поскольку рецепторы к IL-1 представлены на мембранах лимфоидных клеток, изучена трансдукция его сигнала в лимфоцитах и эффекты действия на функции лимфоидных клеток. Так, исследования трансдукции сигнала IL-1 β по сфингомиелиновому пути в нервных и иммунокомпетентных клетках животных позволили заключить, что действие IL-1 β на тимоциты опосредовано рецептором IL-1 I типа, а трансдукция сигнала цитокина в клетку осуществляется и по сфингомиелиновому пути (табл. 1).

Эти данные свидетельствуют о прямом действии IL-1 на мембраны лимфоидных клеток, а вектор изменения интенсивности передачи сигнала по сфингомиелиновому пути совпадает с характером изменений иммунологических реакций.

Угнетение реакции лимфоидных клеток на регуляторный сигнал IL-1 можно купировать с помощью иммуномодуляторов, например дегрината.

ТАБЛИЦА 1. ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА И ВЛИЯНИЕ rIL-1 β НА АКТИВНОСТЬ НЕЙТРАЛЬНОЙ СФИНГОМИЕЛИНАЗЫ (Н-СМазы) В МЕМБРАННОЙ ФРАКЦИИ ТИМОЦИТОВ ИНТАКТНЫХ МЫШЕЙ И МЫШЕЙ, ПОДВЕРГНУТЫХ РОТАЦИОННОМУ И КОМБИНИРОВАННОМУ СТРЕССУ

TABLE 1. CHANGES IN HUMORAL IMMUNE RESPONSE INTENSITY AND THE EFFECT OF rIL-1 β ON NEUTRAL SPHINGOMYELINASE ACTIVITY (N-SMase) IN THE MEMBRANE FRACTION OF LYMPHOCYTES OF INTACT MICE AND MICE SUBJECTED TO ROTATIONAL AND COMBINED STRESS

Экспериментальные группы Experimental groups	Антитело-образующие клетки селезенки (%) Antibody-forming cells of the spleen (%)	Титры антител в сыворотке крови (%) Antibody titers in blood serum (%)	Концентрация rIL-1 (Моль) Concentration of rIL-1 (M)			
			10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰
			Активность Н-СМазы (%) Neutral sphingomyelinase activity (%)			
Интактные Intact	100	100	9,7 \pm 0,5	28,9 \pm 8,8*	40,2 \pm 11,5*	30,0 \pm 12,4*
Ротационный стресс Rotational stress	141 \pm 14#	157 \pm 21#	—	—	45,0 \pm 6,6*	—
Комбинированный стресс Combined stress	49 \pm 15#	22 \pm 6#	—	—	22,1 \pm 4,2	—

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с базальным уровнем; # – $p < 0,05$ по сравнению с интактными животными.

Note. *, $p < 0,05$ as compared with the basal level; #, $p < 0,05$ as compared with the intact animals.

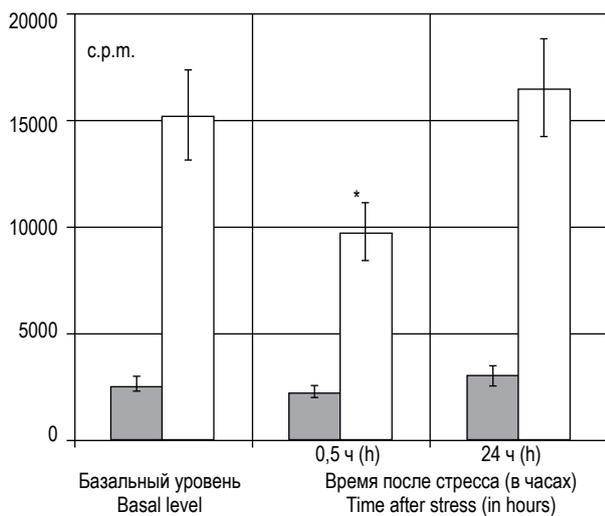


Рисунок 1. Процесс пролиферации лимфоцитов периферической крови крыс, индуцированный введением в культуру клеток ConA и rIL-1β при комбинированном (иммуносупрессирующем) стрессе
Примечание. По оси абсцисс – время после стрессорного воздействия (в часах); по оси ординат – количество распадов ³H-тимидина, захваченного делящимися лимфоцитами (с.р.м. – count per minute).

■ лимфоциты, стимулированные ConA (0,75 мкг/мл);
□ лимфоциты, стимулированные ConA (0,75 мкг/мл) + rIL-1β (6 нг/мл).

* – p < 0,05 по сравнению с базальным уровнем.

Figure 1. The process of peripheral blood lymphocyte proliferation in rats induced by the introduction of ConA and rIL-1β into the cells culture in combined (immunosuppressive) stress

Note. Abscissa, time after stress (in hours). Ordinate, number of decays of ³H-thymidine captured by dividing lymphocytes (c.p.m. – count per minute).

■ lymphocytes, stimulated by ConA (0.75 mkg/ml);
□ lymphocytes, stimulated by ConA (0.75 mkg/ml) + rIL-1β (6 ng/ml).

*, p < 0.05 as compared with the basal level.

Применение этого препарата непосредственно после стрессорного воздействия ведет к восстановлению интенсивности пролиферации лимфоцитов на действие IL-1, не изменяя при этом реакцию клеток на субоптимальную дозу ConA (рис. 2).

Изменение пролиферативной активности лимфоцитов имеет диагностическое и прогностическое значение в клинике. Как выяснилось, реакция лимфоцитов периферической крови на регуляторный сигнал IL-1 у детей, больных ОРВИ и серозным менингитом, в ответ на комитогенное действие IL-1β в первые дни заболевания подавлена по сравнению с реакцией клеток здоровых детей и нормализуется к 5-14-му дню заболевания [1].

Отличие интенсивности пролиферации лимфоцитов крови детей, больных гнойным менин-

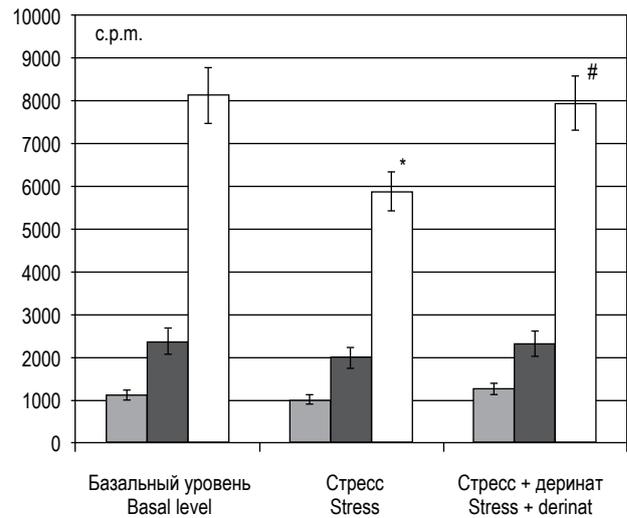


Рисунок 2. Пролиферации спленоцитов крыс Wistar *in vitro* после 30-минутного охлаждения и введения дерината (10 мг/кг массы тела)

Примечание. По оси абсцисс – группы животных; по оси ординат – количество распадов ³H-тимидина, захваченного делящимися лимфоцитами (с.р.м. – count per minute)

■ нестимулированные лимфоциты;
■ лимфоциты, стимулированные ConA (0,75 мкг/мл);
□ лимфоциты, стимулированные ConA (0,75 мкг/мл) + rIL-1β (6 нг/мл).

* – p < 0,05 – по сравнению с показателями у контрольных животных;

– p < 0,05 – по сравнению с показателями у стрессированных животных.

Figure 2. Proliferation of Wistar rat splenocytes *in vitro* after 30-min of cooling stress and the introduction of Derinat (10 mg/kg body weight)

Note. Abscissa, groups of animals. Ordinate, number of decays of ³H-thymidine captured by dividing lymphocytes (c.p.m. – count per minute).

■ unstimulated lymphocytes;
■ lymphocytes, stimulated by ConA (0.75 mkg/ml);
□ lymphocytes, stimulated by ConA (0.75 mkg/ml) + rIL-1β (6 ng/ml).

*, p < 0.05 as compared with control animals;

#, p < 0.05 as compared with stressed animals.

гитом, от этой реакции у здоровых детей, при ОРВИ и серозном менингите, заключается в более выраженной активации пролиферации клеток под влиянием ConA в первые дни заболевания, а также в тенденции к спонтанной пролиферации лимфоцитов (без ConA и IL-1β), становившейся достоверной по отношению к пролиферации лимфоцитов детей, больных серозным менингитом, к 12-14-м суткам наблюдения и лечения. Полученные результаты также свидетельствуют об однотипном характере изменения этой активности клеток у детей, больных ОРВИ и серозным менингитом, и ее отличии от изменения активности пролиферации при гнойном менингите (рис. 3).

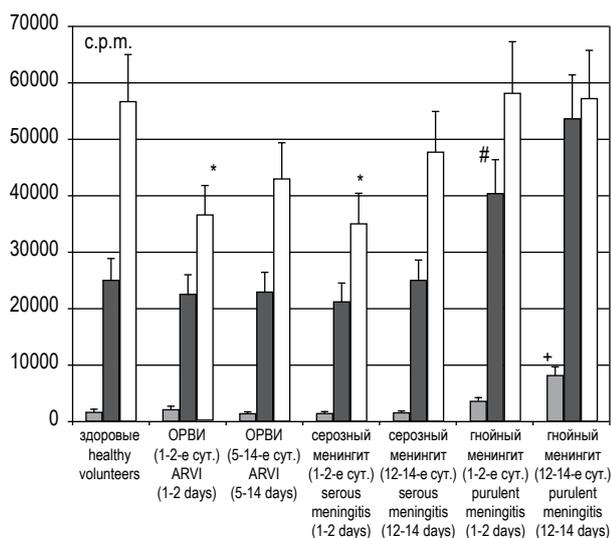


Рисунок 3. Интенсивность пролиферативной реакции лимфоцитов крови на регуляторный сигнал rIL-1β *in vitro* у детей с ОРВИ, серозной и гнойной формами менингита

Примечание. По оси абсцисс – группы пациентов; по оси ординат – количество распадов ³H-тимидина, захваченного делящимися лимфоцитами (с.р.м. – count per minute).

■ нестимулированные лимфоциты;
■ лимфоциты, стимулированные ConA (0,75 мкг/мл);
□ лимфоциты, стимулированные ConA (0,75 мкг/мл) + rIL-1β (6 нг/мл).

* – $p < 0,05$ по сравнению со здоровыми детьми;
+ – $p < 0,05$ по сравнению с детьми, больными ОРВИ (5-14 сут.) и серозным менингитом (12-14 сут.);
– $p < 0,05$ по сравнению с детьми, больными ОРВИ (1-2 сут.) и серозным менингитом (1-2 сут.).

Figure 3. Intensity of proliferative reaction of blood lymphocytes to regulatory signal rIL-1β *in vitro* in children with ARVI, serous and purulent forms of meningitis

Note. Abscissa, groups of patients. Ordinate, number of decays of ³H-thymidine captured by dividing lymphocytes (c.p.m. – count per minute).

■ unstimulated lymphocytes;
■ lymphocytes, stimulated by ConA (0.75 mcg/ml);
□ lymphocytes, stimulated by ConA (0.75 mcg/ml) + rIL-1β (6 ng/ml).

*, $p < 0.05$ as compared with healthy children;
+, $p < 0.05$ as compared with children of ARVI group (5-14 days) and serous meningitis group (12-14 days);
#, $p < 0.05$ as compared with children of ARVI group (1-2 days) and serous meningitis group (1-2 days).

У пациентов с острой кровопотерей констатирована активация процессов трансформации и пролиферации лимфоцитов крови, более выраженных, чем у больных с тяжелой сочетанной травмой. Эти результаты, полученные совместно с сотрудниками Института скорой помощи, согласуются с данными о снижении пролиферативной активности Т-лимфоцитов периферической крови у пациентов после тяжелых хирургических вмешательств [7].

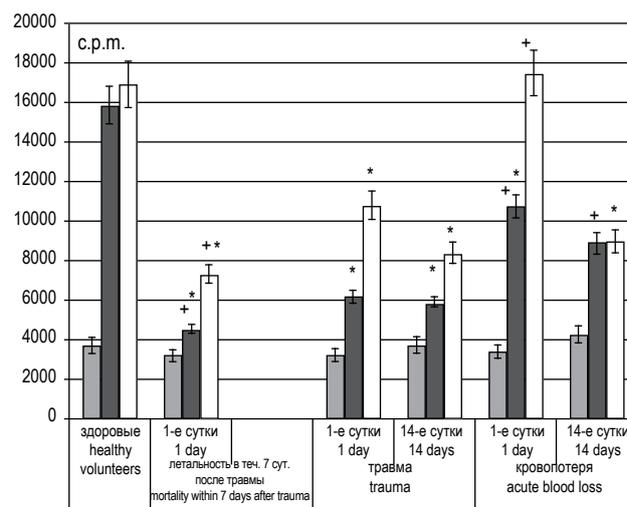


Рисунок 4. Изменение пролиферативного ответа лимфоцитов периферической крови на действие rIL-1β у пациентов после тяжелой сочетанной травмы и острой кровопотери

Примечание. По оси абсцисс – группы пациентов; по оси ординат – количество распадов ³H-тимидина, захваченного делящимися лимфоцитами (с.р.м. – count per minute).

■ лимфоциты, стимулированные ConA (0,75 мкг/мл);
■ лимфоциты, стимулированные ConA (0,75 мкг/мл) + rIL-1β (6 нг/мл).

* – $p < 0,05$ по сравнению с теми же показателями у здоровых доноров;
+ – $p < 0,05$ по сравнению с теми же показателями у больных с тяжелой сочетанной травмой.

Figure 4. Changes in the proliferative response of peripheral blood lymphocytes to the action of rIL-1β in patients after severe combined trauma and acute blood loss

Note. Abscissa, groups of patients. Ordinate, number of decays of ³H-thymidine captured by dividing lymphocytes (c.p.m. – count per minute).

■ lymphocytes, stimulated by ConA (0.75 mcg/ml);
■ lymphocytes, stimulated by ConA (0.75 mcg/ml) + rIL-1β (6 ng/ml).

*, $p < 0.05$ as compared with the same indicators in healthy donors;
+, $p < 0.05$ as compared with the same indicators in patients with severe combined trauma.

Анализ изменения ответной реакции лимфоцитов на регуляторное влияние цитокина IL-1β позволил выявить высокую степень корреляции низкой интенсивности пролиферации лимфоцитов периферической крови в ответ на действие IL-1 и неблагоприятного исхода заболевания (рис. 4).

Обсуждение

Таким образом, степень активации процесса пролиферации лимфоцитов, инициированная действием регуляторного сигнала – цитокина IL-1, является информативным показателем функциональной активности клеток иммунной

системы и, вероятно, уровня активности иммунной системы в целом. IL-1 является раннедействующим медиатором иммунного ответа, инициирующим иммунную реакцию, регулирующим функции Т- и В-лимфоцитов, усиливающим процесс антителообразования — увеличение количества антителообразующих клеток в селезенке и повышение титров антител в сыворотке крови, а также стимулирующим продукцию других факторов роста и дифференцировки, влияющих на Т- и В-клетки, прежде всего IL-2 и IL-4 [6, 12].

При этом эффективность процесса активации защитных функций зависит не только от скорости продукции и уровня IL-1, но и от чувствительности клеток-мишеней к его действию. Так, эффекты действия IL-1 на лимфоидные клетки различаются при различных вариантах стрессорного воздействия, что коррелирует с изменениями вектора гуморального иммунного ответа на Т-зависимый антиген (эритроциты барана) у крыс. При стрессах, вызывающих развитие иммуносупрессии, продукция IL-1 повышается, но клетки-мишени не реагируют на это событие адекватно: активации процесса пролиферации лимфоидных клеток в ответ на действие цитокина не происходит, по-видимому, в результате на-

рушения лиганд-рецепторных отношений на их мембране.

Изменения этого функционального показателя являются маркером тяжести патологического процесса, о чем свидетельствуют результаты клинических исследований детей с различными формами менингита и пациентов, перенесших тяжелую сочетанную травму или острую кровопотерю.

Приведенные экспериментальные и клинические данные позволяют заключить, что степень пролиферации лимфоидных клеток в ответ на действие регуляторного сигнала IL-1 является диагностически значимым тестом для оценки функциональной активности иммунной системы. Следует подчеркнуть физиологическую адекватность этого метода, поскольку речь идет об эффектах действия IL-1 — процессе, происходящем в целостном организме в условиях патологии. Этот метод может быть использован для анализа эффективности новых препаратов, обладающих иммуномодулирующим действием, а также в клинической и научной практике как индикатор степени активации лимфоцитов в ответ на регуляторный сигнал, что имеет диагностическое и прогностическое значение.

Список литературы / References

1. Ботерашвили Н.М., Рыбакина Е.Г., Шанин С.Н., Козинец И.А., Сорокина М.Н., Иванова В.В. Продукция и эффекты действия интерлейкина-1 при серозных и гнойных менингитах у детей // Медицинская иммунология, 2000. Т. 2, № 3. С. 321-328. [Boterashvili N.M., Rybakina E.G., Shanin S.N., Kozinets I.A., Sorokina M.N., Ivanova V.V. Interleukin 1 production and action in infants with serous and purulent meningitis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2000, Vol. 2, no. 3, pp. 321-328. (In Russ.)]
2. Корнева Е.А., Шанин С.Н., Рыбакина Е.Г. Интерлейкин-1 в реализации стресс-индуцированных изменений функций иммунной системы // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова, 2000. Т. 86, № 3. С. 292-302. [Korneva E.A., Shanin S.N., Rybakina E.G. Interleukin-1 in realisation of stress-induced changes in functions of the immune system. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova = Sechenov Russian Journal of Physiology*, 2000, Vol. 86, no. 3, pp. 292-302. (In Russ.)]
3. Корнева Е.А. Нейроиммунофизиология вчера и сегодня // Клиническая патофизиология, 2016. Т. 22, № 1. С. 7-19. [Korneva E.A. Neuroimmunophysiology yesterday and present days. *Klinicheskaya patofiziologiya = Clinical Pathophysiology*, 2016, Vol. 22, no. 1, pp. 7-19. (In Russ.)]
4. Левин С.Г., Годухин О.В. Модулирующее действие цитокинов на механизмы синаптической пластичности в мозге // Биохимия, 2017. Т. 82, № 3. С. 397-409. [Levin S.G., Godukhin O.V. Modulating effect of cytokines on mechanisms of synaptic plasticity in the brain. *Biokhimiya = Biochemistry*, 2017, Vol. 82, no. 3, pp. 397-409. (In Russ.)]
5. Симбирцев А.С. Интерлейкин-1. Физиология. Патология. Клиника. СПб.: Фолиант, 2011. 480 с. [Simbirtsev A.S. Interleukin 1. Physiology. Pathology. Clinic]. St. Petersburg: Foliant, 2011. 480 p.
6. Симбирцев А.С. Цитокины в патогенезе и лечении заболеваний человека. СПб.: Фолиант, 2018. 512 с. [Simbirtsev A.S. Cytokines in the pathogenesis and treatment of human diseases]. St. Petersburg: Foliant, 2018. 512 p.
7. Травматическая болезнь и ее осложнения / Под ред. Селезнева С.А., Багненко С.Ф., Шапота Ю.Б., Курьгина А.А. СПб.: Политехника, 2004. 414 с. [Traumatic disease and its complications / ed. Seleznev S.A., Bagnenko S.F., Shapot Yu.B., Kurygin A.A.]. St. Petersburg: Polytechnica, 2004. 414 p.
8. Besedovsky H.O., Del Rey A., Sorkin E., Dinarello C.A. Immunoregulatory feedback between Interleukin 1 and glucocorticoid hormones. *Science*, 1986, Vol. 223, no. 4764, pp. 652-654.
9. Black P.H. Stress and the inflammatory response: a review of neurogenic inflammation. *Brain Behav. Immun.*, 2002, Vol. 16, no. 6, pp. 622-653.
10. Capuron L., Miller A.H. Immune system to brain signaling: neuro-psychopharmacological implications. *Pharmacol. Therapeut*, 2011, Vol. 130, no. 2, pp. 226-238.

11. Del Rey A., Verdenhalven M., Lörwald A.C., Meyer C., Hernangómez M., Randolph A., Brain-borne IL-1 adjusts glucoregulation and provides fuel support to astrocytes and neurons in an autocrine/paracrine manner. *Mol. Psychiatry*, 2016, Vol. 21, pp. 1309-1320.
12. Dinarello C.A. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annu. Rev. Immunol.*, 2009, Vol. 27, pp. 519-550.
13. Dinarello C.A. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood*, 2011, Vol. 117, no. 14, pp. 3720-3732.
14. Dinarello C.A. Overview of the interleukin-1 family of ligands and receptors. *Semin. Immunol.*, 2013, Vol. 25, no. 6, pp. 389-393.
15. Dunn A.J. Cytokine activation of the HPA axis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2000, Vol. 917, no. 1, pp. 608-617.
16. Gentile A., Freseghna D., Musella A., Sepman H., Bullitta S., de Vito F., Fantozzi R., Usiello A., Maccarrone M., Mercuri N.B., Lutz B., Mandolesi G., Centonze D. Interaction between interleukin-1beta and type-1 cannabinoid receptor is involved in anxiety-like behavior in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Neuroinflammation*, 2016, Vol. 13, no. 1, pp. 231-244.
17. Greenfeder S.A., Nunes P., Kwee L., Labow M., Chizzonite R.A., Ju G. Molecular cloning and characterisation of a second subunit of the Interleukin 1 receptor complex. *J. Biol. Chem.*, 1995, Vol. 270, pp. 13757-13785.
18. Guo H., Callaway J.B., Ting J.P. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nat. Med.*, 2015, Vol. 21, no. 7, pp. 677-687.
19. Hewett S.J., Jackman N.A., Claycomb R.J. Interleukin-1beta in central nervous system injury and repair. *Eur. J. Neurodegener. Dis.*, 2012, Vol. 1, no. 2, pp. 195-211.
20. Oleszycka E., Moran H.B., Tynan G.A., Hearnden C.H., Coutts G., Campbell M., Allan S.M., Scott C.J., Lavelle E.C. IL-1alpha and inflammasome-independent IL-1beta promote neutrophil infiltration following alum vaccination. *FEBS J.*, 2016, 283, pp. 9-24.
21. Palomo J., Dietrich D., Martin P., Palmer G., Gabay C. The interleukin (IL)-1 cytokine family – balance between agonists and antagonists in inflammatory diseases. *Cytokine*, 2015, Vol. 76, no. 1, pp. 25-37.
22. Rosenwasser L.J., Dinarello C.A. Ability of human leukocytic pyrogen to enhance phytohemagglutinin induced murine thymocyte proliferation. *Cell Immunol.*, 1981, Vol. 63, no. 1, pp. 134-142.
23. Rybakina E.G., Shanin S.N., Korneva E.A. Cellular, molecular and signaling mechanisms in neuro-immune interactions under stress. *Adv. Neuroimmune Biol.*, 2012, Vol. 3, no. 3-4, pp. 235-241.
24. So A., Dumusc A., Nasi S. The role of IL-1 in gout: from bench to bedside. *Rheumatology (Oxford)*, 2018, Vol. 57, Suppl. 1, pp. i12-i19.
25. Tan Q., Hu J., Yu X., Guan W., Lu H., Yu Y., Yu Y., Zang G., Tang Z. The role of IL-1 family members and Kupffer cells in liver regeneration. *BioMed Res. Int.*, 2016, Vol. 2016, 6495793, 6 p. doi: 10.1155/2016/6495793.
26. Wang X., Fu S., Wang Y., Yu P., Hu J., Gu W., Xu X.M., Lu P. Interleukin-1beta mediates proliferation and differentiation of multipotent neural precursor cells through the activation of SAPK/JNK pathway. *Mol. Cell. Neurosci.*, 2007, Vol. 36, no. 3, pp. 343-354.

Авторы:

Шанин С.Н. – к.м.н., старший научный сотрудник отдела общей патологии и патологической физиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Корнева Е.А. – д.м.н., профессор, академик РАН, главный научный сотрудник отдела общей патологии и патологической физиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Authors:

Shanin S.N., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Department of General Pathology and Pathophysiology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Korneva E.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Chief Research Associate, Department of General Pathology and Pathophysiology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Поступила 10.02.2019

Отправлена на доработку 05.03.2019

Принята к печати 28.05.2019

Received 10.02.2019

Revision received 05.03.2019

Accepted 28.05.2019