

С.С. БОНДАРЬ<sup>1</sup>, И.В. ТЕРЕХОВ<sup>1</sup>, В.С. НИКИФОРОВ<sup>2</sup>, В.К. ПАРФЕНЮК<sup>3</sup>, Н.В. БОНДАРЬ<sup>4</sup><sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Тульский государственный университет», Тула<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского», Саратов<sup>4</sup> ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева», Орел

# РОЛЬ СУПРЕССОРА ЦИТОКИНОВОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ SOCS7

## В РЕГУЛЯЦИИ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ ИНГИБИТОРА ЯДЕРНОГО ФАКТОРА ТРАНСКРИПЦИИ NF-KB В МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТАХ И ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ У РЕКОНВАЛЕСЦЕНТОВ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ

В исследовании обсуждается взаимосвязь содержания в мононуклеарных клетках периферической крови (МНК) фосфорилированной формы ингибитора ядерного фактора транскрипции NF-κB и супрессора цитокиновой сигнализации 7 (SOCS7) и продукции МНК цитокинов (ФНОα, ИФНα, ИЛ-1β, ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-12), определяющих состояние врожденного и адаптивного иммунного ответа.

Методом иммуноферментного анализа в МНК определяли содержание и уровень фосфорилирования ингибитора ядерного фактора транскрипции NF-κB (IκBa), а также концентрацию протеина SOCS7. Кроме того, в клеточных супернатантах определяли концентрацию ФНОα, ИФНα, ИЛ-1β, ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-12. Взаимосвязи между исследованными факторами оценивали методом линейного регрессионного анализа.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что постклиническое течение ВП сопровождается снижением уровня ФНОα и ИЛ-4 и повышением продукции ИФНα. Также в стадию реконвалесценции отмечается снижение фосфорилирования IκBa и повышение в МНК концентрации SOCS7. Проведенный анализ выявил значимое влияние на уровень фосфорилирования IκBa содержания в клетке SOCS7. Таким образом, сильное отрицательное влияние SOCS7 на активность IκBa может быть опосредовано угнетением под его влиянием активности STAT3/5 и MAPK/SAPK-зависимых механизмов продукции цитокинов, что позволяет рассматривать указанный фактор в качестве терапевтической мишени для ограничения избыточной иммуносупрессии у реконвалесцентов ВП.

**Ключевые слова:** IκBa, SOCS7, пневмония.

S.S. BONDAR<sup>1</sup>, I.V. TEREKHOV<sup>1</sup>, V.S. NIKIFOROV<sup>2</sup>, V.K. PARFENYUK<sup>3</sup>, N.V. BONDAR<sup>4</sup><sup>1</sup> Tula State University, Tula, Russia<sup>2</sup> North-Western State Medical University n. a. I. I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia<sup>3</sup> Saratov State Medical University, Saratov, Russia<sup>4</sup> Orel State University, Orel, Russia

### THE ROLE OF SUPPRESSOR OF CYTOKINE SIGNALING SOCS7 IN THE REGULATION OF THE PHOSPHORYLATION OF INHIBITOR OF NUCLEAR TRANSCRIPTION FACTOR NF-KB IN MONONUCLEAR LEUKOCYTES AND PRODUCTION OF CYTOKINES IN COMMUNITY- ACQUIRED BACTERIAL PNEUMONIA

The study discusses the relationship between the content of NF-KB and cytokine signaling suppressor 7 (SOCS7) in mononuclear peripheral blood cells (MNC) phosphorylated form of nuclear transcription factor inhibitor (NF-KB) and the production of MNC cytokines (TNF, IFN, IL-1β, IL-4, IL-10, IL-12) determining the state of congenital and adaptive immune response.

The content and level of phosphorylation of the nuclear transcription factor NF-KB (Iκba) inhibitor and the SOCS7 protein concentration were determined by enzyme immunoassay in MNC. In addition, the concentration of TNF, IFN, IL-1β, IL-4, IL-10, IL-12 was determined in cellular supernatants. The interrelations between the studied factors were evaluated by the method of linear regression analysis.

The results of the study indicate that the stage of recovery of community-acquired pneumonia is accompanied by a decrease in the level of IL-1, TNF and IL-4 and an increase in the production of Information. Also in the stage of convalescence there is a decrease in phosphorylation of Iκba and an increase in the concentration of SOCS7 in the OLS. The analysis revealed a significant effect on the level of phosphorylation of Iκba content in the cell SOCS7. Thus, a strong negative relationship between SOCS7 and phosphorylation of Iκba can be mediated by inhibition under its influence of STAT3/5 and MARK / SAPK-dependent cytokine production mechanisms, which allows to consider this factor as a therapeutic target for limiting excessive immunosuppression in pneumonia.

**Keywords:** IκBa, SOCS7, pneumonia.

**Р**еактивность иммунокомпетентных клеток (ИКК), регулирующих адаптивный иммунный ответ, в отношении разнообразных внешних стимулов в значительной мере определяется состоянием внутриклеточных сигнальных путей, из которых JAK/STAT/SOCS-сигнальный путь наиболее важен для обеспечения надлежащей клеточной реакции на соответствующие регулирующие сигналы – цитокины и факторы роста [1].

Обеспечивая активацию различных клеточных программ саногенеза, JAK/STAT/SOCS сигнальный путь играет ключевую роль в развитии и поддержании активности адаптивного иммунного ответа в острую стадию инфекционно-воспалительной патологии, а также в постклиническую фазу [2]. При этом механизмы саногенеза включают в себя реакции, направленные как на увеличение числа антиген-специфических ИКК за счет усиления пролиферации, так и на их снижение, опосредованное процессом апоптоза и аутофагии. Негативная регуляция воспалительной реакции обеспечивается семейством белков – супрессоров цитокиновой сигнализации, представленным белками SOCS1-7 и PIAS, блокирующих JAK/STAT-сигнальный путь в ИКК [1, 2, 4]. Вместе с тем SOCS-белки, как показывают результаты проводимых исследований, играют определенную роль в реализации процессов апоптоза и аутофагии, очевидно, не только в ИКК, регулируя процессы старения и обновления тканей, а также их метаболизм, модулируя активность ядерного фактора транскрипции NF- $\kappa$ B [5].

***Обеспечивая активацию различных клеточных программ саногенеза, JAK/STAT/SOCS сигнальный путь играет ключевую роль в развитии и поддержании активности адаптивного иммунного ответа в острую стадию инфекционно-воспалительной патологии, а также в постклиническую фазу***

Учитывая недостаточно исследованный вопрос о влиянии SOCS-белков на активность ядерного фактора транскрипции NF- $\kappa$ B и продукцию цитокинов, а также на реактивность иммунокомпетентных клеток в постклиническую стадию инфекционно-воспалительного процесса, целью настоящего исследования явилось изучение взаимосвязи фосфорилирования I $\kappa$ B $\alpha$ , содержанием в МНК супрессора цитокиновой сигнализации SOCS7, а также продукции клетками отдельных цитокинов, регулирующих иммунный ответ у пациентов, перенесших внебольничную пневмонию.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В соответствии с целью настоящей работы обследовано 30 пациентов мужского пола с бактериальной внебольничной пневмонией нетяжелого течения на 15–17-е сутки заболевания перед выпиской из стационара, составившие основную группу. Средний возраст обследованных пациентов основной группы составил  $25 \pm 5,5$  лет.

Контрольную группу составили 15 практически здоровых молодых лиц из числа доноров крови в возрасте от 20 до 33 лет (средний возраст  $26 \pm 4,3$  года).

***Результаты корреляционного анализа указывают на сильную отрицательную взаимосвязь содержания в МНК супрессора цитокиновой сигнализации SOCS7 и продукции ИЛ-1 $\beta$ , что свидетельствует об их способности ограничивать продукцию провоспалительных цитокинов***

Материалом для исследования служила венозная кровь, забиравшаяся в утренние часы из локтевой вены обследуемых лиц. Для проведения исследования внутриклеточных маркеров 1 мл цельной крови вносили во флакон, содержащий 4 мл среды DMEM, гепарин (2,5 ЕД/мл), гентамицин (100 мкг/мл) и L-глутамин (0,6 мг/мл). Подготовленные таким образом образцы облучали в течение 45 минут аппаратом микроволновой терапии «Акватон-02» (ООО «ТЕЛЕМАК», г. Саратов), на частоте  $1,0 \pm 0,025$  ГГц (плотность потока энергии  $50$  нВт/см<sup>2</sup>) [4, 6].

После облучения флаконы помещались на 3 и 24 часа в термостат при  $37$  °С с последующим выделением на градиенте фиколл-верографина ( $\rho = 1,077$ ) МНК и приготовлением лизатов, для чего использовали 1 мл клеточной суспензии, содержащей  $0,5 \times 10^6$  МНК. Выделенные таким образом МНК дважды отмывали в фосфатно-солевом буфере, после чего лизировали, используя буфер следующего состава: 10 mM Tris, pH 7,4; 100 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 1 mM NaF, 20 mM Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, 2 mM Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>, 1% Triton X-100, 10% глицерола, 0,1% SDS, 0,5% деоксихолата, 1 mM PMSF (матричный 0,3 M раствор в DMSO). В лизирующий раствор добавляли (ex tempore) 1% коктейля ингибитора протеаз («Sigma-Aldrich», США), выдерживали на льду (при  $t = +4-5$  °С) в течение 15 минут. Ядерно-цитоплазматические лизаты центрифугировали в течение 10 минут при 15 000 об/мин, с последующим аликвотированием и замораживанием при  $-76$  °С.

Подсчет клеток и анализ жизнеспособности осуществляли с помощью счетчика TC20 (Bio-Rad, США). Жизнеспособность клеток подготовленных культур составляла не менее 90%.

Образцы крови подвергали облучению с помощью генератора сигналов HP8664A с использованием излучающей антенны магнитного типа в дальней зоне облучателя, непосредственно перед их помещением в термостат в течение 40 минут. Плотность потока энергии микроволн составляла  $0,05$  мкВт/см<sup>2</sup>.

В приготовленных ядерно-цитоплазматических лизатах методом иммуноферментного анализа (ИФА) оценивали уровень фосфорилирования ингибитора ядерного фактора транскрипции NF- $\kappa$ B – I $\kappa$ B $\alpha$  по серину в положении 32 (в относительных единицах на нг белка) и концентрацию супрессора цитокиновой сигнализации – белка SOCS7. В клеточных супернатантах определяли концентрацию ФНО $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-4, ИЛ-12 и ИФН $\alpha$ . При проведении ИФА использовали наборы реактивов Cusabio Biotech

(КНР). Анализ проводили на анализаторе Personal LAB (Adaltis Italia S.p.A., Италия).

Статистическую обработку проводили в программе Statistica 7.0. Результаты исследования представлены в виде: среднее значение признака ( $\bar{x}$ ), медиана (Me), 25 и 75 проценти выборки (25%; 75%). Статистическую значимость ( $p$ ) межгрупповых различий в несвязанных выборках оценивали с помощью U-критерия Манна – Уитни. Взаимосвязь показателей исследовали методом многофакторного линейного регрессионного анализа с пошаговым включением переменных в математическую модель.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования представлены в *таблице 1*.

Результаты проведенного анализа свидетельствуют о снижении продукции у реконвалесцентов ФНО $\alpha$  на 6,4% ( $U = 690,0, p = 0,0001$ ), ИЛ-1 $\beta$  на 1,9% ( $U = 1500,0, p = 0,58$ ), ИЛ-4 на 25,1% ( $U = 500,0, p = 0,00001$ ), ИЛ-12 на 0,8% ( $U = 1571,0, p = 0,87$ ). При этом отмечается повышение секреции ИЛ-10 на 1,8% ( $U = 1499,0, p = 0,58$ ), ИНФ $\alpha$  на 55,4% ( $U = 0,0, p = 0,000001$ ), SOCS7 на 12,3% ( $U = 1178,0,$

$p = 0,019$ ). На этом фоне в основной группе уровень фосфорилирования I $\kappa$ B $\alpha$  был ниже контрольных значений на 4,9% ( $U = 974,0, p = 0,0005$ ).

Таким образом, в стадию реконвалесценции ВП имеет место статистически значимое снижение степени фосфорилирования I $\kappa$ B $\alpha$  с повышением содержания в МНК супрессора цитокиновой сигнализации – SOCS7, ассоциирующееся со снижением продукции ФНО $\alpha$ , ИЛ-4 и повышением уровня ИНФ $\alpha$ .

Результаты линейного корреляционного анализа исследованных факторов представлены в *таблице 2*.

Результаты корреляционного анализа указывают на сильную отрицательную взаимосвязь содержания в МНК супрессора цитокиновой сигнализации SOCS7 и продукции ИЛ-1 $\beta$ , что свидетельствует об их способности ограничивать продукцию провоспалительных цитокинов. Вместе с тем взаимосвязь SOCS7 и ИЛ-10 отличается менее выраженным отрицательным характером. Кроме этого, проведенный анализ выявил сильную положительную взаимосвязь уровня фосфорилирования I $\kappa$ B $\alpha$  с продукцией ФНО $\alpha$  и ИЛ-12, наблюдающуюся на фоне сильной положительной корреляции между данными цитоки-

**Таблица 1.** Уровень исследуемых факторов у обследованных больных

Фактор	Контрольная группа				Основная группа			
	$\bar{x}$	25%	Me	75%	$\bar{x}$	25%	Me	75%
I $\kappa$ B $\alpha$ , ед/нг	0,317	0,307	0,313	0,327	0,301	0,28	0,294	0,324
ФНО $\alpha$ , пг/мл	15,5	14,7	15,3	16,3	14,5	13,7	14,0	14,9
ИЛ-1 $\beta$ , пг/мл	15,4	12,7	16,1	18,1	15,1	12,5	14,7	17,4
ИЛ-4, пг/мл	3,02	2,69	3,15	3,36	2,26	1,97	2,5	2,56
ИЛ-10, пг/мл	14,3	12,9	13,4	15,7	14,6	12,8	14,1	16,0
ИЛ-12, пг/мл	2,5	2,16	2,62	2,87	2,48	2,15	2,3	2,93
ИНФ $\alpha$ , пг/мл	11,6	10,1	11,4	13,1	18,0	15,5	17,2	19,6
SOCS7, нг/мл	0,691	0,554	0,725	0,828	0,776	0,728	0,808	0,866

**Таблица 2.** Корреляции между исследованными показателями в основной группе

	ФНО $\alpha$	I $\kappa$ B $\alpha$	ИЛ-1 $\beta$	ИЛ-4	ИЛ-10	ИЛ-12	ИНФ $\alpha$	SOCS7
ФНО $\alpha$	-	<b>0,79</b>	0,00	-0,01	<b>-0,41</b>	<b>0,68</b>	0,21	-0,06
I $\kappa$ B $\alpha$	<b>0,79</b>	-	-0,24	-0,02	<b>-0,52</b>	<b>0,65</b>	0,18	-0,02
ИЛ-1 $\beta$	0,00	-0,24	-	<b>0,59</b>	0,29	0,24	0,01	<b>-0,66</b>
ИЛ-4	-0,01	-0,02	<b>0,59</b>	-	0,28	0,29	0,4	-0,25
ИЛ-10	<b>-0,41</b>	<b>-0,52</b>	0,29	0,28	-	<b>-0,58</b>	<b>0,48</b>	<b>-0,38</b>
ИЛ-12	<b>0,68</b>	<b>0,65</b>	0,24	0,29	<b>-0,58</b>	-	0,24	0,16
ИНФ $\alpha$	0,21	0,18	0,01	0,4	<b>0,48</b>	0,24	-	0,16
SOCS7	-0,06	-0,02	<b>-0,66</b>	-0,25	<b>-0,38</b>	0,16	0,16	-

Примечание: полужирным шрифтом выделены коэффициенты корреляции с уровнем значимости ( $p$ ) менее 0,05.

**Таблица 3. Результаты регрессионного анализа**

Параметр	B	m <sub>B</sub>	t	p	Beta	m <sub>Beta</sub>
Intercept	0,332	0,007	49,5	0,000000		
ФНО $\alpha$	0,005	0,0003	18,6	0,000000	0,28	0,015
ИЛ-1 $\beta$	-0,009	0,0003	-37,0	0,000000	-1,17	0,031
ИЛ-4	0,001	0,0005	2,1	0,035	0,03	0,012
ИЛ-10	0,001	0,0002	8,2	0,000000	0,13	0,016
ИЛ-12	0,054	0,0009	60,4	0,000000	1,05	0,017
ИНФ $\alpha$	0,0001	0,00006	-5,7	0,000000	0,06	0,011
SOCS7	-0,134	0,003	-39,4	0,000000	-0,91	0,023

Примечание: m<sub>B</sub> – стандартная ошибка оценки регрессионного коэффициента, t, p – значение t-критерия и уровень его значимости, m<sub>Beta</sub> – стандартная ошибка оценки стандартизированного регрессионного коэффициента, Intercept – свободный коэффициент регрессионного уравнения, B – регрессионный коэффициент, Beta – стандартизированный регрессионный коэффициент.

нами. Также у обследованных пациентов отмечалась сильная отрицательная взаимосвязь уровня ИЛ-10 с фосфорилированием I $\kappa$ B $\alpha$ , а также с уровнем ФНО $\alpha$  и ИЛ-12. На этом фоне продукция ИЛ-4 отличалась сильной положительной взаимосвязью с уровнем ИЛ-1 $\beta$ , позволяя говорить о высокой чувствительности Т-хелперов 2-го типа к активирующему влиянию цитокина в фазу реконвалесценции ВП.

Таким образом, цитокины ответа острой фазы – ИЛ-1 $\beta$  и ФНО $\alpha$  стимулируют гуморальный и клеточно-опосредованный адаптивный иммунный ответ, находящийся под негативным контролем ИЛ-10. Из двух цитокинов ООФ лишь ФНО $\alpha$  способствует активации NF- $\kappa$ B за счет фосфорилирования его ингибитора, которое, в свою очередь, негативно регулируется ИЛ-10.

С целью анализа выявленных взаимосвязей был выполнен пошаговый линейный регрессионный анализ с включением переменных в модель, результаты которого представлены в *таблице 3*.

Проведенный анализ позволил описать зависимость продукции цитокинов и фосфорилирования ингибитора ядерного фактора транскрипции NF- $\kappa$ B, имеющую следующий вид: I $\kappa$ B $\alpha$  = 0,332 + 0,005 x ФНО $\alpha$  + 0,001 x ИЛ-4 + 0,001 x ИЛ-10 + 0,054 x ИЛ-12 + 0,0001 x ИНФ $\alpha$  – 0,134 x SOCS7 – 0,009 x ИЛ-1 $\beta$ .

Анализ регрессионной модели свидетельствует о ее высокой информативности и значимости, на что указывает значение коэффициента множественной корреляции (R = 0,995), коэффициента детерминации (R<sup>2</sup> = 0,99), уточненного коэффициента детерминации модели (R<sup>2</sup> = 0,989), а также величина F-статистики (F = 1203,7; p = 0,0013). Значение статистики Дарбина – Уотсона (d = 1,96) и низкий коэффициент корреляции остатков (r = 0,005) также свидетельствуют об удовлетворительном качестве математической модели взаимосвязи продукции цитокинов и уровня фосфорилирования I $\kappa$ B $\alpha$ .

Результаты корреляционного анализа стандартизированных регрессионных коэффициентов, отражающих

индивидуальное влияние исследованного фактора на уровень I $\kappa$ B $\alpha$ , свидетельствуют о наибольшем влиянии на исследованный показатель ИЛ-12, ИЛ-1 $\beta$  и SOCS7.

В *таблице 4* представлены результаты оценки вклада исследованных факторов в изменчивость уровня фосфорилирования I $\kappa$ B у обследованных больных в фазу реконвалесценции ВП.

Проведенный анализ показал, что наиболее значимое влияние на фосфорилирование I $\kappa$ B оказывают ИЛ-1, ИЛ-10, ИЛ-12 и SOCS7, отличающиеся величиной коэффициента детерминации R<sup>2</sup> более 0,6. При этом ИЛ-10 и ИЛ-12 характеризуются сильной положительной, а SOCS7 и ИЛ-1 – сильной отрицательной взаимозависимостью с уровнем фосфорилирования I $\kappa$ B. Таким образом, учитывая сильную отрицательную корреляцию SOCS7 и ИЛ-1, а также характер взаимосвязи их с фосфорилированием I $\kappa$ B очевидно, что у обследованных больных данные факторы действуют в качестве независимых негативных регуляторов ядерного фактора транскрипции NF- $\kappa$ B. Вместе с тем положительная взаимосвязь уровня ИЛ-12 и ИЛ-10 с фосфорилированием I $\kappa$ B позволяет говорить о том, что продукция данных цитокинов находится под контролем NF- $\kappa$ B.

***Цитокины ответа острой фазы – ИЛ-1 $\beta$  и ФНО $\alpha$  стимулируют гуморальный и клеточно-опосредованный адаптивный иммунный ответ, находящийся под негативным контролем ИЛ-10. Из двух цитокинов ООФ лишь ФНО $\alpha$  способствует активации NF- $\kappa$ B за счет фосфорилирования его ингибитора, которое, в свою очередь, негативно регулируется ИЛ-10***

Учитывая выявленные различия в продукции цитокинов, а также характер взаимосвязи исследованных показателей, в настоящем исследовании был проведен анализ их соотношения в зависимости от содержания в МНК супрессора цитокиновой сигнализации SOCS7. При этом высоким уровнем SOCS7 считали концентрацию данного фактора, соответствующую либо превышающую величину

**Таблица 4. Влияние исследованных факторов на уровень фосфорилирования I $\kappa$ B $\alpha$** 

Фактор	R <sup>2</sup>	Частная корреляция	Полу-частная корреляция
ФНО $\alpha$	0,58	0,87	0,18
ИЛ-1 $\beta$	0,91	-0,96	-0,35
ИЛ-4	0,38	0,2	0,02
ИЛ-10	0,65	0,61	0,08
ИЛ-12	0,7	0,99	0,58
ИНФ $\alpha$	0,28	-0,48	-0,05
SOCS7	0,83	-0,97	-0,38

**Таблица 5. Анализ выявленных различий**

Фактор	Подгруппа №1				Подгруппа №2			
	х	25%	Ме	75%	х	25%	Ме	75%
IkBa, ед/нг	0,315	0,295	0,313	0,335	0,297	0,274	0,299	0,318
ФНО $\alpha$ , пг/мл	15,1	14,2	14,9	15,4	14,6	13,6	14,0	15,1
ИЛ-1 $\beta$ , пг/мл	17,2	15,8	16,4	19,7	13,1	11,6	12,5	14,1
ИЛ-4, пг/мл	2,66	2,38	2,53	3,08	2,32	1,88	2,25	2,66
ИЛ-10, пг/мл	15,3	12,8	15,4	17,5	13,6	12,9	13,4	14,4
ИЛ-12, пг/мл	2,64	2,3	2,59	3,01	2,28	1,88	2,15	2,65
ИНФ $\alpha$ , пг/мл	15,3	10,4	14,7	17,3	16,3	13,9	15,5	17,5
SOCS7, нг/мл	0,628	0,435	0,676	0,776	0,871	0,825	0,868	0,884

медианы выборки, т. е. 0,808 нг/мл (подгруппа №1). Низким уровнем SOCS7 считали уровень фактора в клетке менее 0,808 нг/мл (подгруппа №2). Полученные результаты представлены в *таблице 5*.

Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что повышение в МНК содержания SOCS7 на 38,6% ( $p < 0,00001$ ) ассоциируется со статистически значимым снижением активности IkBa на 5,6% ( $p = 0,0044$ ). На этом фоне отмечается снижение продукции ИЛ-1 $\beta$ , проявляющееся снижением его уровня в супернатанте на 24,2% ( $p < 0,00001$ ), ИЛ-12 на 13,7% ( $p = 0,0025$ ), ИЛ-4 на 12,6% ( $p = 0,018$ ), ИЛ-10 на 11,5% ( $p = 0,0017$ ), ФНО $\alpha$  на 3,6% ( $p = 0,11$ ). На этом фоне отмечена тенденция к повышению продукции ИФН $\alpha$  на 6,3% ( $p = 0,39$ ). Таким образом, повышенный уровень SOCS7 ассоциирован с меньшей активностью IkBa, позволяя говорить о его отрицательном влиянии на сигнальный путь ядерного фактора транскрипции NF- $\kappa$ B, что сопровождается снижением уровня ИЛ-1 $\beta$ , продукция которого, как известно, контролируется преимущественно NF- $\kappa$ B.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Полученные в настоящем исследовании результаты позволяют говорить о том, что стадия реконвалесценции ВП протекает на фоне подавления активности моноцитарно-макрофагального пула иммунокомпетентных клеток, а также Т-хелперов 2 типа, что может рассматриваться в качестве проявлений дисрегуляции на фоне избыточного угнетения иммунного ответа у таких пациентов. Очевидно, что одним из механизмов наблюдаемого явления является снижение активности ядерного фактора транскрипции в связи с ограничением фосфорилирования важного молекулярного интегратора внутриклеточных сигналов – IkBa, что проявляется соответствующим снижением продукции отдельных эндогенных антимикробных молекул [6]. При этом можно полагать, что выявленные изменения, ограничивающие эффективность как врожденных, так и приобретенных механизмов инфекци-

онного иммунитета, предрасполагают к повторной заболеваемости пневмонией, а также к затяжному течению заболевания [7, 8].

Проведенный анализ показал, что выявленные изменения ассоциированы с повышением содержания в МНК супрессора цитокиновой сигнализации SOCS7, в частности проявлявшейся положительной корреляцией его уровня с продукцией ИЛ-10, и отрицательной – с уровнем ИЛ-1 $\beta$ . Рассматривая патофизиологические молекулярные механизмы, способные определять наблюдаемые изменения, можно предполагать, что подавление продукции ФНО $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  определяется способностью SOCS7 блокировать функциональную активность сигнальных трансдукторов и активаторов транскрипции STAT5 и особенно STAT3, который совместно с NF- $\kappa$ B контролирует экспрессию ряда генов провоспалительных цитокинов, в числе которых ИЛ-6 и ФНО $\alpha$  [5, 9, 10]. Кроме того, также представляется возможным подавление активности MAPK/SAPK-сигнального пути, за счет ограничения протеином SOCS7 фосфорилирования протеинкиназы MAP3K7 (TAK1), с последующим нарушением активации NF- $\kappa$ B [11, 12].

**Результаты корреляционного анализа стандартизированных регрессионных коэффициентов, отражающих индивидуальное влияние исследованного фактора на уровень IkBa, свидетельствуют о наибольшем влиянии на исследованный показатель ИЛ-12, ИЛ-1 $\beta$  и SOCS7**

Таким образом, проведенное исследование указывает на возможность супрессора цитокиновой сигнализации SOCS7 модулировать активность ядерного фактора транскрипции NF- $\kappa$ B, регулируя тем самым провоспалительную реакцию ИКК у пациентов с внебольничной пневмонией. При этом негативное влияние SOCS7, очевидно, не распространяется на механизмы, контролируемые сигнальный путь ИФН I типа [11].



Вместе с тем очевидно, что в случае чрезмерной активации воспалительного ответа, блокирующее влияние SOCS7, способно благоприятно отразиться на течении патологического процесса, снижая риск повреждения внутренних органов, опосредованное макрофагами, нейтрофилами, цитотоксическими Т- и NK-клетками. Напротив, подавление провоспалительных механизмов в стадии реконвалесценции и снижении активности иммунного ответа у таких больных в сравнении со здоровыми лицами создает риск суперинфекции, повторного развития заболевания, а также может способствовать его затяжному течению. В этих условиях содержание в клетке SOCS7 может являться терапевтической мишенью и дополнительной стратегией саногенеза в подобных случаях.

## ВЫВОДЫ

Фаза реконвалесценции ВП протекает на фоне снижения продукции ФНО $\alpha$  и ИЛ-4, сопровождаемая при этом повышением уровня ИНФ $\alpha$ . Выявленные изменения ассо-

циированы со снижением в МНК фосфорилирования ингибитора ядерного фактора транскрипции I $\kappa$ B $\alpha$ , указывая на подавление активности NF- $\kappa$ B.

Проведенный регрессионный анализ позволяет говорить о значимом влиянии на уровень фосфорилирования I $\kappa$ B $\alpha$ , а следовательно, активацию NF- $\kappa$ B, ИЛ-12, ИЛ-1 $\beta$  и SOCS7.

Сильное отрицательное влияние SOCS7 на активность I $\kappa$ B $\alpha$  может быть опосредовано угнетением активности регуляторных протеинкиназ MAPK/SAPK-сигнального пути, а также повышением степени убиквитинилирования I $\kappa$ B $\alpha$  со снижением содержания самого протеина в клетке и подавлением NF- $\kappa$ B зависимых механизмов саногенеза у таких больных. Указанное обстоятельство позволяет рассматривать SOCS7 в качестве терапевтической мишени для ограничения избыточной иммуносупрессии у реконвалесцентов ВП.



*Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов в ходе написания данной статьи.*

## ЛИТЕРАТУРА

- Лим В.В., Сорокина Л.Н., Минеев В.Н. и др. Экспрессия негативных регуляторов транскрипции генов SOCS3 и SOCS5 в мононуклеарных клетках периферической крови больных бронхиальной астмой. *Медицинская иммунология*, 2014, 16(2): 149-154. / Лим В.В., Сорокина Л.Н., Минеев В.Н. и др. Ekspressiya negativnykh regulyatorov transkripcii genov SOCS3 i SOCS5 v mononuklearnnykh kletkah perifericheskoy krovi bol'nykh bronhial'noj astmoj. *Medicinskaya immunologiya*. 2014, 16(2): 149-154.
- McCormick SM, Heller NM. Regulation of macrophage, dendritic cell, and microglial phenotype and function by the SOCS proteins. *Front Immunol*, 2015, 6: 549. doi: 10.3389/fimmu.2015.00549.
- Frobose H, Ronn SG, Heding PE, Mendoza H, Cohen P, Mandrup-Poulsen T, Billestrup N. Suppressor of cytokine signaling-3 inhibits interleukin-1 signaling by targeting the TRAF6/TAK1 complex. *Mol Endocrinol*, 2006, 20(7): 1587-96.
- 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, физиотерапии и лечебной физической культуры*, 2016, 93(3): 23-8. doi: 10.17116/kurort2016323-28. Terekhov I.V., Hadarcev A.A., Bondar' S.S. Sostoyanie receptorzavisimyykh signal'nykh putej v agranulocitah perifericheskoy krovi rekonvalescentov vnebol'nichnoy pnevmonii pod vliyaniem mikrovolnogo izlucheniya. *Voprosy kurortologii, fizioterapii i lechebnoy fizicheskoy kul'tury*, 2016, 93(3): 23-8. doi: 10.17116/kurort2016323-28.
- Martens N. Suppressor of cytokine signaling 7 inhibits prolactin, growth hormone, and leptin signaling by interacting with STAT5 or STAT3 and attenuating their nuclear translocation. *The Journal of biological chemistry*, 2005, 280, 13817-13823. doi: 10.1074/jbc.M411596200.
- Терехов И.В., Никифоров В.С., Бондарь С.С., Бондарь Н.В., Воеводин А.А. Изменение содержания компонентов IL/TOLL-сигнального пути и NF- $\kappa$ B в мононуклеарных клетках цельной крови под влиянием низкочастотного электромагнитного излучения частотой 1 ГГц. *Гены и клетки*, 2017, 12(2): 90-96. / Terekhov I.V., Nikiforov V.S., Bondar' S.S., Bondar' N.V., Voevodin A.A. Izmenenie soderzhaniya komponentov IL/TOLL-signal'nogo puti i NF-kB v mononuklearnnykh kletok cel'noj krovi pod vliyaniem nizkointensivnogo ehlektromagnitnogo izlucheniya chastotoy 1 GGc. *Geny i kletki*, 2017, 12(2): 90-96.
- Чурина Е.Г., Уразова О.И., Новицкий В.В., Наследникова И.О., Воронкова О.В., Слепичева Н.Р. Особенности иммуносупрессии при вирусных инфекциях. *Бюллетень сибирской медицины*, 2009, 4: 112-118 / Churina E.G., Urazova O.I., Novickij V.V., Naslednikova I.O., Voronkova O.V., Slepicheva N.R. Osobennosti immunosupressii pri virusnykh infekciyah. *Byulleten' sibirskoy mediciny*, 2009, 4: 112-118.
- Лебедева М.Н., Грищенко А.В. Особенности течения повторных внебольничных пневмоний у военнослужащих по призыву. *Военно-медицинский журнал*, 2009, 330(7): 24-8. / Lebedeva M.N., Grishchenko A.V. Osobennosti techeniya povtornyykh vnebol'nichnykh pnevmonij u voennosluzhashchih po prizvyvu. *Voennomedicinskij zhurnal*, 2009, 330(7): 24-8.
- Yang R. p53 induces miR199a-3p to suppress SOCS7 for STAT3 activation and renal fibrosis in UUO. *Sci. Rep*, 2017, 7: 43409. doi: 10.1038/srep43409.
- Bromberg J, Darnell JE Jr. The role of STATs in transcriptional control and their impact on cellular function. *Oncogene*, 2000, 19: 2468-2473.
- Bollrath J, Greten FR. IKK/NF- $\kappa$ B and STAT3 pathways: central signalling hubs in inflammation-mediated tumour promotion and metastasis. *EMBO Reports*, 2009, 10(12): 1314-1319. doi: 10.1038/embor.2009.243.
- Liu Y, Bridges R, Wortham A, Kulesz-Martin M. NF- $\kappa$ B repression by PIAS3 mediated RelA SUMOylation. *PLoS One*, 2012, 7(5): e37636. doi: 10.1371/journal.pone.0037636.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

**Бондарь Станислав Станиславович** – аспирант кафедры внутренних болезней Медицинского института ФГБОУ ВО «Тулский государственный университет», Тула

**Терехов Игорь Владимирович** – к.м.н., доцент кафедры общей патологии Медицинского института ФГБОУ ВО «Тулский государственный университет», Тула

**Никифоров Виктор Сергеевич** – д.м.н., профессор кафедры функциональной диагностики ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург

**Парфенюк Владимир Корнеевич** – д.м.н., профессор кафедры факультетской терапии лечебного факультета ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов

**Бондарь Нелли Владимировна** – к.б.н., доцент, профессор кафедры безопасности жизнедеятельности в техносфере и защиты человека в чрезвычайных ситуациях ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева», Орел