

## ВЛИЯНИЕ ДЕРИНАТА И СИНТЕТИЧЕСКОГО АГОНИСТА TLR9 НА РЕЦЕПТОРНУЮ ФУНКЦИЮ МОНОЦИТОВ ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ *IN VITRO*

Русинова Т. В., Колесникова Н. В., Чудилова Г. А.,  
Филиппов Е. Ф., Каплина Э. Н.

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет»,  
Краснодар, Россия

Проведена сравнительная оценка характера экспрессии рецепторов TLR9, CD14 и CD11b моноцитами цельной крови под действием Дерината и синтетического лиганда TLR9 у здоровых лиц и при острых инфекционных заболеваниях вирусной и бактериальной природы. Показано, что сходные эффекты исследуемых препаратов касаются изменения величины MFI CD289 при инфекционном процессе. Разнонаправленные эффекты выявлены в отношении характера экспрессии молекул CD11b моноцитами во всех группах.

*Ключевые слова:* Деринат, агонист TLR9, моноциты

При инвазии бактериальной или вирусной ДНК, распознавание обеспечивается рецепторами TLR9, которые преимущественно локализованы эндосомально, но могут иметь и поверхностную локализацию. Лигандами для TLR9 (CD289), экспрессируемых моноцитами (макрофагами), плазматоцитодными дендритными клетками, В-лимфоцитами, нейтрофильными гранулоцитами – являются метилированные CpG мотивы молекулы ДНК [1,2]. Подобные CpG фрагменты распространены в ДНК прокариот и вирусов, геном позвоночных также содержит небольшое количество CpG мотивов. Известно, что распознавание ауто-ДНК у человека обеспечивают TLR9, однако сведений о точных механизмах распознавания фрагментов ДНК эукариот недостаточно [3]. Наряду с этим известно, что распознавание патогенов посредством TLR9 происходит в кооперации с другими рецепторами, в частности с функционально-значимым рецептором CD11b, о чем свидетельствует однонаправленная активация CD11b и TLR9 даже при низком уровне воздействия патогена [4].

В связи с изложенным представляло интерес сравнительное исследование иммунотропного влияния лекарственного препарата животного происхождения – натриевой соли ДНК молот лососевых рыб (Дерината) и синтетического агониста (лиганда) рецептора

TLR9 – ODN 2395 на рецепторную оснащенность моноцитов (МОН) рецепторами – TLR9, CD11b, CD14, что позволит выявить косвенное доказательство активации МОН Деринатом посредством TLR9.

**Цель исследования** – провести сравнительную оценку *in vitro* характера экспрессии TLR9, CD11b и CD14 моноцитами под действием Дерината и агониста TLR9 у здоровых лиц, а также при острых инфекционных заболеваниях вирусной и бактериальной природы.

**Материалы и методы.** Экспериментальные исследования проведены с использованием венозной крови 28 взрослых пациентов с острым инфекционным мононуклеозом, ассоциированным с Эпштейн-Барр-вирусной инфекцией (ОВЭБИ), 25 больных с острым бактериальным тонзиллитом (ОБТ), а также 25 практически здоровых лиц.

Цельную кровь здоровых добровольцев и пациентов инкубировали 1 час с синтетическим агонистом TLR9 – ODN 2395 («Invitrogen» Life Technologies, США), и Деринатом («Техномедсервис», Россия) при температуре 37 °С.

Плотность экспрессии (по показателю интенсивности флуоресценции – MFI) молекул CD14, CD11b, CD289 и особенности локализации (поверхностная, внутриклеточная) CD289 на МОН здоровых лиц, а также пациентов с острой бактериальной или вирусной

инфекцией определяли методом проточной лазерной цитометрии (CYTOMICS FC 500, Beckman Coulter, США) с использованием моноклональных антител CD289 (TLR9)–PE, CD14 – FITC, CD11b–PC5.

**Результаты.** Результаты исследования экспрессии молекул TLR9 и на поверхность и внутриклеточно, а также поверхностной экспрессии CD14 и CD11b моноцитами периферической крови в исследуемых группах показано, что содержание моноцитов, экспрессирующих на поверхность CD14<sup>+</sup> и внутриклеточно – CD289<sup>+</sup>, у здоровых лиц достоверно выше, чем у больных ОБТ и ОВЭБИ. Однако величина MFI-CD289 только у больных ОВЭБИ оказывается достоверно выше контрольных значений (в 3,8 раза), а при острой бактериальной инфекции изменений показателя не наблюдается. Исследованиями также показано, что Деринат в системе *in vitro* вызывает усиление экспрессии CD289 у здоровых лиц, что приводит к возрастанию содержания моноцитов, экспрессирующих TLR9, в 2 раза относительно исходного уровня, а инкубация цельной крови здоровых лиц с агонистом TLR9-ODN 2395, напротив, в 2,8 раза снижает количество CD289+МОН. Отмечено, что в клинических группах эффекты как Дерината, так и агониста TLR9 имеют однонаправленный характер в виде снижения содержания моноцитов, внутриклеточно экспрессирующих CD289. Наряду с этим, только при ОВЭБИ, выявлена способность Дерината и агониста TLR9 значительно снижать величину MFI-TLR9 (в 4 и 3,1 раза соответственно).

При изучении характера экспрессии CD11b на поверхностной мембране CD14<sup>(+)</sup>-моноцитов периферической крови здоровых лиц, а также пациентов с вирусной и бактериальной инфекцией было выявлено, что процентное содержание моноцитов, несущих CD11b, достоверно не изменяется в условиях инкубации клеток с Деринатом и с ODN 2395. Также выявлено, что Деринат *in vitro* достоверно увеличивает MFI-CD11b у здоровых лиц (в 1,5 раза) и уменьшает величину данного показателя при

ОБТ (в 1,5 раза) и ОВЭБИ (в 1,7 раза). Интерес представляет тот факт, что в присутствии агониста рецептора TLR9 значения MFI CD11b оставались на исходном уровне во всех группах обследуемых.

Таким образом, сравнительная оценка характера экспрессии TLR9 и функционально значимого рецептора – CD11b у здоровых лиц и у больных острой бактериальной и вирусной инфекцией в условиях культивирования цельной крови с Деринатом и синтетическим лигандом рецептора TLR9, продемонстрировала как сходные, так и разнонаправленные эффекты. При этом однонаправленные эффекты исследуемых препаратов касаются изменения количества моноцитов, несущих TLR9 при инфекционном процессе. В то время как агонист TLR9 не влияет на MFI-CD11b на мембране МОН, Деринат оказывает статистически значимое влияние на плотность его экспрессии. Это может быть объяснено различной химической природой исследуемых фрагментов ДНК и возможностью вовлечения метаболитов Дерината в регуляцию иммунотропной активности моноцитов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абатуров А. Е., Волосовец А. П., Юлиш Е. И. Роль Toll-подобных рецепторов в рекогниции патоген-ассоциированных молекулярных структур инфекционных патогенных агентов и развитии воспаления. Часть 1. Семейство TLR/ А. Е. Абатуров, А. П. Волосовец, Е. И. Юлиш // Здоровье ребенка. – 2012. – № 5(40). – С. 116-121.
2. Lindau D., Musserd J., Wagner B. J. Primary blood neutrophils a functional cell surface Toll-like receptor 9 / D. Lindau, J. Musserd, B. J. Wagner // Europ. J. of Immunology. – 2013. – V.43(8). – P. 2101-2113.
3. Федянина Л. Н. Влияние дезоксирибонуклеиновой кислоты из молок лососевых рыб на секрецию цитокинов клетками крови здоровых доноров / Л. Н. Федянина // Мед. иммунол. – 2005. – Т. 7. № 5-6. – С. 617-619.
4. Expression of Toll-like receptors 2 and 9 in cells of dog jejunum and colon naturally infected with Leishmania infantum / M. M Figueiredo, I. FG. Amorim, A. JW. Pinto. et al. // BMC Immunol. – 2013. – 14(22). doi: 10.1186/1471-2172-14-22.

## COMPARATIVE ANALYSIS IMMUNOTROPIC EFFECTS *IN VITRO* DERINAT AND SYNTHETIC TLR9 AGONIST ON RECEPTOR FUNCTION OF MONOCYTES IN NORMAL AND INFECTIOUS PROCESS

Rusinova T. V., Kolesnikova N. V., Chudilova G. A.,  
Filippov E. F., Kaplina E. N.

*Kuban state medical university, Krasnodar, Russia*

Comparative evaluation of character of the expression of TLR9, CD11b and CD14 receptors monocytes whole blood under the influence of Derinat and synthetic TLR9 ligand in healthy individuals and in acute infectious diseases of viral and bacterial origin has been studied. It has been shown that the unidirectional effects of study drugs relate changes in the number of monocytes only in groups with infectious process. Differently directed effects identified in relation to expression of molecules CD11b monocytes in all groups.

*Key words:* derinat, agonist TLR9, monocytes

---

---

## СЕМАФОРИН 3А ИНГИБИРУЕТ ФУНКЦИИ ТИМОЦИТОВ

Рутто К. В.<sup>1</sup>, Старикова Э. А.<sup>1</sup>, Людыно В. И.<sup>1</sup>,  
Киселёва Е. П.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; <sup>2</sup>СЗГМУ  
им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

Семафорин 3А (Sema 3А) известен как фактор, направляющий рост аксонов и принимающий участие в развитии нервной системы. Целью работы было изучение влияния Sema 3А на функции тимоцитов мышей: пролиферацию, миграцию и адгезию к клеткам эпителия тимуса. Было установлено, что Sema 3А в концентрации 100 и 200 нг/мл подавлял пролиферативную активность тимоцитов, оказывал хеморепеллентный эффект и ингибировал адгезию тимоцитов к клеточным линиям эпителия тимуса мыши сТЕС 1-2 и mТЕС 3-10. Таким образом, Sema 3А отрицательно влияет на важные функции тимоцитов и тем самым может оказывать существенное влияние на процессы созревания тимоцитов.

*Ключевые слова:* тимоциты, семафорин 3А, адгезия, миграция, эпителиальные клетки

Семафорин 3А (Sema 3А) является нейрональным фактором, который действует на аксоны как хеморепеллент, вызывая их отталкивание. Кроме своего основного действия в развитии нервной системы, Sema 3А обладает также и иммуномодулирующими свойствами. По литературным данным известно, что Sema 3А синтезируется эпителиальными клетками в тимусе, где регулирует процесс адгезии тимоцитов к эпителиальным клеткам тимуса человека, а также оказывает в отношении тимоцитов хеморепеллентный эффект [1].

Целью работы было исследование влияния Sema 3А на функции тимоцитов мышей: про-

лиферацию, миграцию и адгезию к эпителиальным клеткам тимуса мыши.

Работу проводили на мышах гибридах F1 (СВАхС 57ВL/6) весом 16-18 г. Тимоциты получали путем раздавливания тимуса и последующего фильтрования через нейлоновый фильтр. В качестве эпителиальных клеток использовали клеточные линии кортикального сТЕС 1-2 и медуллярного mТЕС 3-10 эпителия тимуса мыши, предоставленных в наше распоряжение профессором М. Kasai [2].

До начала исследования необходимо было показать наличие рецепторов Sema 3А на тимоцитах мышей. Рецепторами для семафоринов