

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.¹, Старикова Э. А.¹, Людыно В. И.¹,
Киселёва Е. П.^{1,2}

¹ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; ²СЗГМУ
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

III класса служат рецепторные комплексы, состоящие из плексинов A1-A4 и нейропиллина-1 (Nrp-1), где Nrp-1 связывает лиганд, а плексин осуществляет проведение сигнала [3]. Экспрессия плексинов была показана только на тимоцитах человека [4], а на тимоцитах мышей не изучалась. В нашей работе впервые с помощью метода обратной транскрипции с последующей ПЦР со специфическими праймерами было показано, что тимоциты мышей экспрессируют мРНК таких рецепторов Sema 3A, как плексины A1-A3, а также Nrp-1, но не экспрессировали мРНК плексина A4 в пределах чувствительности данного метода.

Для исследования влияния Sema 3A на пролиферативную активность тимоцитов использовали МТТ-тест, а также визуальный подсчет клеток, в присутствии 5 мкг/мл конканавалина А и без него. Sema 3A в концентрациях 100 и 200 нг/мл снижал пролиферацию тимоцитов, как по данным МТТ-теста (ОП570 в контроле – $0,301 \pm 0,013$, $n=12$; с Sema 3A 100 нг/мл – $0,247 \pm 0,015$, $n=6$, $p<0,05$; с Sema 3A 200 нг/мл – $0,243 \pm 0,011$, $n=6$, $p<0,05$), так и при визуальном подсчете клеток (в контроле – $4,82 \pm 0,09$ млн/мл, $n=3$; с Sema 3A 100 нг/мл – $4,28 \pm 0,06$ млн/мл, $n=3$, $p<0,05$; с Sema 3A 200 нг/мл – $3,48 \pm 0,11$ млн/мл, $n=3$, $p<0,05$).

Влияние Sema 3A на миграцию тимоцитов мыши исследовали с помощью поликарбонатных вставок с диаметром пор 5 мкм по методу [5]. Так, Sema 3A (100 нг/мл) при добавлении в верхние лунки трансвелл вызывал снижение миграционной активности тимоцитов. Прединкубация тимоцитов с антителами к Nrp-1 приводила к отмене эффекта Sema 3A (индекс миграции в контроле $1,49 \pm 0,01$ $n=5$; с Sema 3A $0,65 \pm 0,08$ $n=5$, $p<0,001$; с Sema 3A и антителами к Nrp-1 – $1,21 \pm 0,08$ $n=5$, $p<0,01$). Таким образом, эффект Sema 3A опосредован через Nrp-1.

Исследование адгезии тимоцитов проводили на двух линиях эпителия тимуса мыши – кортикального cTEC1-2 и медуллярного mTEC3-10 при совместной инкубации в течение 30 и 120 мин. Sema 3A ингибировал адгезию тимоцитов к обеим клеточным линиям с максимальным эффектом в концентрации 200 нг/мл, как при 30 мин (индекс адгезии для cTEC1-2: в контроле – $34,35 \pm 0,80$ $n=13$, с Sema 3A 200 нг/мл – $28,40 \pm 1,60$, $n=10$, $p<0,01$; индекс адгезии для mTEC3-10: в контроле – $38,83 \pm 1,11$ $n=10$, с Sema 3A 200 нг/мл – $32,53 \pm 0,76$, $n=8$, $p<0,001$), так и при 120 мин адгезии (индекс

адгезии для cTEC1-2: в контроле – $37,57 \pm 0,49$ $n=24$, с Sema 3A 200 нг/мл – $29,94 \pm 1,11$, $n=16$, $p<0,001$; индекс адгезии для mTEC3-10: в контроле – $36,38 \pm 0,95$ $n=12$, с Sema 3A 200 нг/мл – $32,18 \pm 1,57$, $n=8$, $p<0,05$).

Далее необходимо было выяснить, на какие клетки действует Sema 3A – на тимоциты или на клетки эпителия. Для этого тимоциты и клетки эпителия прединкубировали отдельно в течение 2 часов с 200 нг/мл Sema 3A, после чего их отмывали и проводили реакцию адгезии в течение 30 мин. Оказалось, что подавляющий эффект Sema 3A сохраняется только при отдельной обработке тимоцитов, причем одинаково на обеих линиях (индекс адгезии для cTEC1-2: в контроле – $33,12 \pm 0,57$ $n=10$, с Sema 3A 200 нг/мл – $28,40 \pm 1,60$, $n=10$, $p<0,05$; индекс адгезии для mTEC3-10: в контроле – $39,66 \pm 0,82$ $n=8$, с Sema 3A 200 нг/мл – $32,53 \pm 0,76$, $n=8$, $p<0,001$). В то же время предобработка только клеток эпителия эффекта не давала.

Для исследования участия Nrp-1 в процессе адгезии были проведены эксперименты, в которых тимоциты до постановки адгезии сначала обрабатывали блокирующими антителами к Nrp-1, отмывали и инкубировали с 200 нг/мл Sema 3A, после чего проводили реакцию адгезии в течение 30 мин. Обработка тимоцитов блокирующими антителами к Nrp-1 отменяла ингибирующий эффект Sema 3A (индекс адгезии для cTEC1-2: в контроле – $43,96 \pm 1,85$ $n=6$, с Sema 3A 200 нг/мл – $21,58 \pm 9,96$, $n=6$, $p<0,01$, с антителами к Nrp-1 – $42,67 \pm 1,33$ $n=6$, $p<0,001$; индекс адгезии для mTEC3-10: в контроле – $28,85 \pm 1,10$ $n=6$, с Sema 3A 200 нг/мл – $24,40 \pm 1,59$, $n=6$, $p<0,05$ с антителами к Nrp-1 – $32,54 \pm 1,95$ $n=6$, $p<0,05$). Из полученных данных следует, что ингибирующий эффект Sema 3A связан с его действием на тимоциты и опосредован через рецептор Nrp-1.

Таким образом, нами впервые было показано, что ростовой фактор Sema 3A обладает ингибирующим влиянием на тимоциты мышей, подавляя их пролиферативную и миграционную активность, а также способность адгезировать на клетках тимусного эпителия.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-06150.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lepelletier Y., Smaniotto S., Hadj-Slimane R., Villa-Verde D. M. S., Nogueira A. C. et al. Control of human thymocyte migration by Neuropilin-1/

- Semaphorin-3A-mediated interaction. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 2007, 104, 5545-5550.
2. Kasai M., Hirokawa K., Kejino K., Ogasawara K., Tatsumi M. et al. Difference in antigen presentation pathways between cortical and medullary thymic epithelial cells. Eur. J. Immunol. 1996, 26, 2101-2107.
 3. Castellani V., Rougon G. Control of Semaphorin signaling. Curr. Opin. Neurobiol. 2002, 12, 532-541.
 4. Mendes-da-Cruz D.A., Lepelletier Y., Brignier A. C. et al. Neuropilins, semaphorins, and their role in thymocyte development Ann.N.Y.Acad.Sci. 2009, 1153, 20-28.
 5. Kim C. H., Pelus L. M., White J. R., Broxmeyer H. E. Differential chemotactic behavior of developing T cells in response to thymic chemokines. Blood 1998, 91, 4434-4443.

SEMAPHORIN 3A INHIBITS THYMOCYTE FUNCTIONS

Rutto C. V.¹, Starikova E. A.¹, Lioudyno V. I.¹, Kisseleva E. P.^{1,2}

¹Institute for Experimental Medicine, ²North-Western Medical Academy named after I. I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

Semaphorin 3A (Sema 3A) is known to be an axon guidance molecule and is implicated in the development of nervous system. The aim of the study was to evaluate the influence of Sema 3A on functions of murine thymocytes, such as: proliferation, migration and adhesion to thymic epithelial cells. Sema 3A suppressed thymocyte proliferation at 100 and 200 ng/ml, possessed a chemorepellent activity towards thymocytes in the transwell system, and inhibited thymocyte adhesion to murine thymic epithelial cell lines cTEC 1-2 and mTEC 3-10. Thus, Sema 3A is a negative regulator of important thymocyte functions and may essentially affect the process of thymocyte maturation.

Key words: thymocytes, Semaphorin 3A, adhesion, migration, epithelial cells

ИНДЕКС ДЕВИАЦИИ И ИНДЕКС СООТНОШЕНИЯ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ К АНТИВОСПАЛИТЕЛЬНЫМ ЦИТОКИНАМ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ

Рябова Л. В.

ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, Челябинск, Россия

На фоне лечения ИГКС бронхиальной астмы клиническая ремиссия возможно наступает из-за изменения девиации иммунного ответа на Th1 иммунный ответ.

Ключевые слова: бронхиальная астма, иммунология, цитокины

Актуальность. Бронхиальная астма (БА) является важнейшей проблемой в медицине на современном этапе, так как ее распространенность в последние годы серьезно возросла, а ущерб от этой болезни, как для индивидуума, так и для общества признается весьма значительным, поскольку чаще болеют лица трудоспособного возраста [1]. Результаты исследований в России показали распространенность бронхиальной астмы до 15-16% среди обследованных лиц. Вместе с тем по официальным статистическим данным в различных

регионах страны зарегистрировано в 6 раз меньше пациентов. Причины этих различий обусловлены тем, что большая часть больных БА наблюдаются у участкового врача с другим диагнозом. Кроме того, очень часто, больные, зная свой диагноз, пренебрегают приемом базисной терапии (ИГКС). Вследствие выше сказанных причин, мы имеем рост обострений БА и увеличения вызовов, как скорой помощи, так и госпитализаций. Иммунологические исследования помогают лучше понять механизмы возникновения и течения БА, и тем самым